

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

TESE

Contaminação de resíduos, microplásticos e químicos no ambiente marinho

Rayane Sorrentino Ribeiro

2021



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**CONTAMINAÇÃO DE RESÍDUOS, MICROPLÁSTICOS E QUÍMICOS NO
AMBIENTE MARINHO**

Sob a orientação do Professor

Dr. André Resende de Senna

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, como requisito parcial para obtenção do grau de doutora em **Biologia Animal**, Área de Concentração: **Biodiversidade Animal**.

Seropédica, RJ

2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R484c Ribeiro, Rayane Sorrentino, 1993-
Contaminação de resíduos, microplásticos e químicos
no ambiente marinho / Rayane Sorrentino Ribeiro. -
Niterói, 2021.
105 f.

Orientador: André Resende de Senna.
Tese (Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Biologia Animal, 2021.

1. Macroresíduos. 2. Microplásticos. 3.
Contaminantes. 4. Organismos bentônicos. 5. Amphipoda.
I. Senna, André Resende de, 1974-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Biologia Animal III. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**



ATA DE DEFESA DE TESE Nº 288 / 2021 – PPGBA (12.28.01.00.00.00.42)

Nº do Protocolo: 23083,077187/2021-03

Seropédica-RJ, 28 de outubro de 2021.

ATA DE DEFESA DE TESE Nº 361

Aos 27 dias do mês de outubro do ano de dois mil e vinte e hum, às 14:00H, na modalidade videoconferência, instalou-se a banca examinadora da defesa de tese de Doutorado da aluna RAYANE SORRENTINO RIBEIRO, sob a orientação do professor Dr. ANDRÉ RESENDE DE SENNA. A banca examinadora foi composta pelos professores/pesquisadores:

1. ANDRÉ RESENDE DE SENNA (ORIENTADOR)
2. LEONARDO MITRANO NEVES
3. HÉLIO RICARDO DA SILVA
4. MELANIE LOPES DA SILVA - UERJ
5. FÁBIO VIEIRA DE ARAÚJO - UERJ, como membros titulares

A tese intitulada " **Contaminação de resíduos, microplásticos e químicos no ambiente marinho**", foi iniciada às 14:00H e teve a duração de 50 minutos de apresentação. A candidata, após avaliado pela banca examinadora obteve o resultado:

- (x) APROVADA, devendo a candidata entregar a versão final em até 60 dias à sua coordenação de curso (de acordo com a Deliberação Nº 84 de 22 de agosto de 2017),
 () APROVADA COM RESSALVA, devendo a candidata satisfazer, no prazo estipulado pela banca, as exigências constantes da Folha de Modificações de Tese de Doutorado anexa à presente ata. Após, entregar a versão final em até 60 dias à sua coordenação de curso (de acordo com a Deliberação Nº 84 de 22 de agosto de 2017).
 () REPROVADA.

Seropédica, 27 de outubro de 2021

(Assinado digitalmente em 30/10/2021 21:59)
 HELIO RICARDO DA SILVA
 PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
 DeptBA (12.28.01.00.00.00.45)
 Matrícula: 2289640

(Assinado digitalmente em 29/10/2021 16:41)
 LEONARDO MITRANO NEVES
 PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
 DeptCMA (12.28.01.00.00.00.18)
 Matrícula: 2143107

(Assinado digitalmente em 03/11/2021 13:39)
 MELANIE LOPES DA SILVA
 ASSINANTE EXTERNO
 CPF: 117.824.627-24

(Assinado digitalmente em 29/10/2021 08:46)
 FÁBIO VIEIRA DE ARAUJO
 ASSINANTE EXTERNO
 CPF: 956.093.777-49

(Assinado digitalmente em 29/10/2021 22:50)
 ANDRE RESENDE DE SENNA
 ASSINANTE EXTERNO
 CPF: 083.612.007-89

Para verificar a autenticidade deste documento entre em
<https://sipac.ufrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **288**, ano:
2021, tipo: **ATA DE DEFESA DE TESE**, data de emissão: **28/10/2021** e o código de verificação:
4e16a69de9

RESUMO

SORRENTINO, Rayane. **Contaminação de resíduos, microplásticos e químicos no ambiente marinho**. 2021. 105p. Tese (Doutorado em Biologia Animal). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

O inadequado manejo de resíduos sólidos, ineficientes políticas públicas de saneamento, alto crescimento demográfico, industrial e turístico são fatores que geram cenários favoráveis para contaminação ambiental, em especial nos ambientes marinhos. Áreas costeiras possuem alto índice populacional, além de marinas, portos, canais de esgoto e intensa atividade turística, que agrava ainda mais a contaminação por macro, micro resíduos e compostos químicos que interagem e impactam a biota marinha. Atualmente existe uma diversidade de metodologias aplicadas ao estudo da contaminação e poluição por macro-resíduos e microplásticos (MPs). A respeito dos resíduos, muitas metodologias utilizadas atualmente são enviesadas e as análises e resultados são consequentemente, imprecisos. Desse modo, esta tese traz dois capítulos voltados para metodologias utilizadas no estudo de macro resíduos e microplásticos, seguido do terceiro capítulo sobre a contaminação de microplásticos em organismos bentônicos. O Capítulo I aborda conceitos metodológicos usualmente aplicados a ecologia, na análise de resíduos coletados no porto de Sydney. Simulações de diferentes tamanhos e números de unidades amostrais (transectos ou quadracts) foram realizadas e o impacto dessas unidades na precisão da amostragem foi calculada. Percebe-se que a escolha e definição do delineamento amostral reflete diretamente na precisão da amostragem de resíduos. Este estudo poderá auxiliar futuros estudos do tema e a consequente geração de trabalhos e análises mais precisas, não somente aplicáveis para resíduos. O Capítulo II revisa e descreve metodologias aplicadas ao estudo de microplásticos em crustáceos. Nesta revisão foram incluídos todos os artigos sobre MPs em crustáceos publicados até março de 2021. Além da descrição de métodos, o trabalho é um suporte para estudos que envolvem MPs em invertebrados, pois apresenta críticas e limitações dos métodos utilizados até o momento. Por fim, como um estudo de caso, o Capítulo III analisa a contaminação dos microplásticos em diferentes organismos bentônicos da costa do Estado do Rio de Janeiro. A contaminação foi analisada em substratos naturais, algas, esponjas e ascídias, concomitantemente relacionada com a ingestão de MPs por seus anfípodes epibiontes. Macroalgas estão mais expostas a microplásticos, como também seus organismos associados. Esponjas e ascídias possuem diferentes processos de filtragem que influenciam no

acúmulo de MP nos tecidos, bem como na disposição dessas partículas para os organismos associados. MPs já são considerados componentes do ecossistema e esses resultados reportam o acúmulo dessa contaminação em diferentes grupos bentônicos e em localidades anteriormente não relatadas para a ciência.

Palavras-chave: precisão de amostragem, substrato natural, organismos associados.

ABSTRACT

SORRENTINO, Rayane. **Contamination of litter, microplastics and chemicals in marine environment**. 2021 105p. Thesis (PhD in Animal Biology). Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

The inadequate solid waste management, demographic, industrial and tourist growth, inadequate public sanitation policies, are factors that generate favourable scenarios for environmental contamination, especially in marine environments. Coastal areas have dense population density, marinas, ports, sewage channels and intense tourist activity, which aggravates contamination by macro, micro litter, and chemical compounds. Currently, there are diverse methodologies applied to macro litter and microplastics (MPs) studies. Regarding litter, many methodologies used in studies are biased, consequently the analyses and results are imprecise. As a result, this thesis brings two chapters of methodologies applied to macro litter and microplastics studies, followed by the third chapter about microplastic contamination in benthic organisms. The Chapter I approaches methodological concepts usually used to ecological works, in the analysis of litter collected in Sydney Harbour. Simulations of different sizes and numbers of sampling units (transects or quadracts) were performed and the impact of these units on sample precision was calculated. It is noticed that the choice and definition of sampling design directly reflects on the precision of the litter sampling. This is a baseline for future studies on the subject and the consequent production of more precise studies and analyses, not only applicable to litter. Still on methods, Chapter II reviews and describes methodologies applied to the study of microplastics in crustaceans. This review included all papers about MP in crustaceans published up to March 2021. In addition to description of methods, this work supports studies involving MPs in invertebrates, since it presents criticisms and limitations about methods used so far. Finally, as a case study, Chapter III analyses the contamination of MPs in different benthic organisms of the coast of Rio de Janeiro. Contamination was analysed in natural substrate, algae, sponges, and sea squirts, concomitantly related to MP ingestion by epibiont amphipods. Macroalgae are more contaminated by MP, as well as their associated organisms. Sponges and ascidians have different filtering process that influence the accumulation of MP in tissue, as well as its availability to associated organisms. MPs are considered ecosystem compounds and these

results report the transference of this contamination in different benthic ecological levels and in sites not previously analysed.

Keywords: sampling precision, natural substrate, associated organisms.

LISTA DE TABELAS

Capítulo I:

Tabela I 1. Valores do Teste F referente à comparação das variáveis das médias de cada localidade. Cores mais fortes (valores mais próximos de 1) representam maior igualdade entre médias, ou seja, menos variáveis.28

Capítulo III:

Tabela III 1: Fragmentos ingeridos pelos anfípodes em Jorge Grego e Lopes Mendes.....85

Tabela III 2: Microplásticos ingeridos pelos anfípodes de Dois Rios. Q1 – 3 quadracts da coleta e controle do experimento manipulativo.....86

Tabela III 3: Lista de substratos coletados e o total de microplásticos (fragmentos e fibras) retidos (JF: Praia João Fernandinho; UR: Urca; BV: Boa Viagem; ITA: Itaipú; MA: Ilhas Maricás).....87

Tabela III 4: Valores obtidos pelo espectrofotômetro de absorção atômica das amostras líquidas contendo PVC e metais pesados. Cr na amostra líquida está inferior a amostra inicial com 1 ppm de concentração, ou seja, o PVC adsorveu 1,032 da concentração adicionada.....88

Tabela III 5: Valores obtidos pelo espectrofotômetro de absorção atômica das amostras da água do mar, anfípodes e adsorção dos metais. ND: Não detectado. < LQ = menor que o limite de quantificação do aparelho. *Massa do crustáceo seco = 0,0339.....89

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I:

Figura I 1: Localidades amostradas do porto de Sydney (Google Maps). Localidades com esparsa população e com drenos (quadrado vermelho com letras pretas) TS – The Spit e RB – Rosebay. Localidades com esparsa população e sem drenos (quadrado vermelho com letras amarelas) BH – Bradley Head e MC – Macquarie’s Chair. Localidades com densa população e sem drenos (quadrado preto com letras amarelas) BP – Blues Point e EB – Elizabeth Bay. Localidades com densa população e com drenos (quadrado preto com letras brancas) DB – Double Bay e RC – Rushcutters.....23

Figura I 2. Representação sistemática do desenho amostral (Bradley's Head). Resíduos foram coletados a partir de dois transectos de 50 metros (linha preta) para o lado direito e esquerdo de cada praia. Foram utilizados quadracts sequenciais de 0.25 m ² (representado com quadrados vazados vermelhos) para os dois transectos.....	25
Figura I 3. Gráfico com percentual de resíduos das zonas entremarés coletados nas localidades do porto de Sydney.	27
Figura I 4. Gráfico dos valores de precisão das áreas amostrais simuladas nas respectivas localidades.	28
Figura I 5. Gráfico com valores da precisão das réplicas <i>n</i> simuladas para as diferentes localidades.	30

Capítulo II:

Figura II 1. Estudos da contaminação de microplásticos (MP) em crustáceos no mundo.....	48
Figura II 2. Gráfico de estudos de contaminação de microplásticos em crustáceos aquáticos.	49

Capítulo III:

Figura III 1: Mapa das localidades amostradas no estado do Rio de Janeiro. Ilha Grande: DR: Dois Rios; JG: Ilha de Jorge Grego; LP: Lopes Mendes. Baía de Guanabara e adjacências: UR: Urca, BV: Boa Viagem; ITA: Itaipu; MA: Ilhas Maricás. Armação de Búzios: TAR: Tartaruga; FO: Forno; JF: João Fernandinho. Software Qgis 3.4. Coordenadas SIRGAS 2000.....	75
Figura III 2: Anfípode inserido em uma ponteira na base do cromatógrafo.....	81
Figura III 3: Imagens geradas pelo microtomógrafo. Um indivíduo anfípode sem contraste por iodo. Microplásticos não puderam ser identificados na amostra.....	81
Figura III 4: Microplásticos encontrados em 220 anfípodas. Maeridae Itaipú 165 indivíduos, Maeridae João Fernandinho (JF) 30 indivíduos e Ampithoidae 25 indivíduos.....	85
Figura III 5: Presença de MPs nos substratos e nos anfípodas associados nos locais amostrados. Colunas cinzas representam fragmentos e pretas fibras. Linha vermelha mostra o número de MP/indivíduos de anfípode.....	88
Figura III 6: Microplásticos/indivíduos de Amphipoda nas famílias analisadas.....	88

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16

CAPÍTULO I: Avaliação da precisão da amostragem e análise da contaminação de resíduos antropogênicos no porto de Sydney (New South Wales – Austrália)

1. INTRODUÇÃO.....	21
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.1 Área de Estudo.....	23
2.2 Métodos.....	24
2.3 Simulação de Dados.....	25
2.4 Análises Estatísticas.....	26
3. RESULTADOS.....	27
3.1 Precisão de diferentes áreas e réplicas simuladas.....	27
3.2 Análise dos resíduos nas localidades do porto de Sydney.....	30
4. DISCUSSÃO.....	31
5. CONCLUSÃO.....	32
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
7. ANEXOS.....	35

CAPÍTULO II: Revisão das abordagens aplicadas ao estudo da contaminação microplástica em crustáceos

1. INTRODUÇÃO.....	40
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	41
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42
3.1 Métodos Utilizados para Determinar a Presença de MPs em Crustáceos.....	42
3.1.1 Zooplâncton.....	42
3.1.2 Crustáceos marinhos bentônicos.....	43
3.2 Estudos de MPs em Experimentos Laboratoriais.....	45
3.2.1 Risco de microplásticos aos crustáceos.....	46
3.2.2 Risco de sorção de contaminantes aos crustáceos e cadeia trófica.....	52
3.3 Crustáceos de Água Doce.....	53
4. CONCLUSÃO.....	57
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
6. ANEXOS.....	58

CAPÍTULO III: Retenção e ingestão de microplásticos por organismos marinhos em praias do Rio de Janeiro

1. INTRODUÇÃO.....	72
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	73
2.1 Área de estudo.....	73

2.2	Estudo I: Quantificação de MP em Amphipoda <i>in situ</i> e experimento manipulativo	77
2.2.1	Estudo Piloto: Armação de Búzios e Praia de Itaipú (Niterói).....	77
2.2.2	Experimento Ilha Grande.....	79
2.3	Estudo II: Correlação da retenção de MP em substratos naturais e seus epibiontes anfípodes	81
2.4	Estudo III: Experimento preliminar da adsorção de metais pesados e HPA em PVC e anfípodes	83
2.4.1	Análise da adsorção de metais pesados em PVC e anfípodes.....	83
2.4.2	Análise de hidrocarbonetos em anfípodes.....	84
3.	RESULTADOS	85
3.1	Estudo I	85
3.2	Estudo II	86
3.3	Estudo III	89
4.	DISCUSSÃO	90
4.1	Estudo I	90
4.2	Estudo II	91
4.3	Estudo III	94
5.	CONCLUSÃO	95
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
7.	ANEXOS	103
8.	CONCLUSÃO GERAL	105
9.	PRODUÇÃO E ATIVIDADES REALIZADAS DURANTE O DOUTORADO (2017–2021)	106
9.1	2017 - Docência	106
9.2	Artigos publicados	106
9.3	Artigos aceitos e submetidos para publicação	106
9.4	Artigos em elaboração	106
9.5	Resumos publicados em anais de congressos	107
9.6	Apresentações de trabalho	107
9.7	Participações em eventos	107
9.8	Revisão de periódico	107
9.9	Colaborações	108
9.10	Bolsa Doutorado Sanduíche (PDSE – CAPES)	108
9.11	Inicialização do Pós-doutorado Projeto MONITOMAR - FAPERJ (UERJ)	108

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os oceanos são frequentemente expostos a diversos tipos de contaminantes como o acúmulo de resíduos sólidos (plásticos, vidros, madeira, metais, entre outros), aumento de poluentes orgânicos e metais pesados (UNDERWOOD et al. 2017). Devido ao descarte incorreto, a catástrofes naturais, perda de equipamentos pesqueiros, correntes e ventos, milhões de toneladas de resíduos chegam ao ambiente marinho (WILHELMSSON et al. 2013) e são carregados para diversas localidades, algumas não impactadas anteriormente (BROWNE et al. 2015a). Resíduos são definidos como qualquer material sólido manufaturado que chega ao ambiente natural (COE e ROGERS 1997; LOHR et al. 2017) e apresenta risco de poluição ao meio ambiente, ou seja, risco de alteração do ecossistema natural. Esses materiais, mais especificamente os plásticos sintéticos, reagem à radiação solar (BROWNE et al. 2015b), a impactos físicos das ondas, se fragmentam e eliminam e/ou interagem quimicamente com compostos tóxicos que alteram as propriedades físico-químicas e biológicas nos oceanos, afetando a qualidade e produtividade do ecossistema (WILHELMSSON et al. 2013).

Os tipos de resíduos nos oceanos variam, assim como sua origem e distribuição. Diversos tipos (vidro, madeira, metal etc.), formas (redes, pneus, agulhas) e tamanhos (micro e macro) se acumulam desde áreas entremarés (VELANDER e MACOGNI 1999) a ambientes mais profundos (TEKMAN et al. 2016). Grande parte dos estudos de resíduos concentra-se em zonas entremarés, em razão da alta densidade populacional próximo a costa (MCGRANAHAN et al. 2007). Estudos qualitativos e quantitativos analisam a distribuição e o acúmulo de resíduos em áreas marinhas, por coletas realizadas com quadracts e transectos, por fotografias ou softwares de modelagem (HENGSTMANN et al. 2017; IMHOF et al. 2018; CRITCHELL et al. 2020). Porém, entender a distribuição temporal e espacial de resíduos ainda é um desafio, especialmente por muitas pesquisas possuírem desenhos amostrais de coleta imprecisos. Alguns estudos são enviesados, parâmetros e fatores que afetam distribuição e densidade de resíduos não são avaliados por completo, gerando erros de análise (Tipo I, Tipo II). Dessa forma, pesquisas desbalanceadas geram resultados imprecisos (UNDERWOOD 1997) e que não representam o real cenário.

Estima-se que mais de 8 milhões de toneladas de plásticos chegam ao ambiente marinho anualmente (JAMBERCK et al. 2015). Porém, devido a distribuição vertical e horizontal desses materiais, e muitas vezes a falta de informações de geração de resíduos pelas cidades, essa estimativa pode ser sub ou superestimada (LEBRETON et al. 2019). Entretanto, sabe-se que

os plásticos representam mais de 80% da contaminação das praias (DAN WILHELMSSON et al. 2013) e chegam até os oceanos através de drenagem de chuvas, por rios, lagos, correntes e ventos (GALGANI et al. 2000). Eles são considerados poluentes por afetarem significativamente todos os organismos, em todas as zonas marinhas (BARNES et al. 2009). Efeitos como emaranhamento, ingestão, transporte de espécies invasoras, degradação em micro e nanoplásticos são intensamente relatados na literatura (BUCCI et al. 2020). Ademais, os polímeros possuem alta capacidade de adsorver compostos químicos de contaminação industrial e doméstica. Além de efeitos físicos como obstrução do sistema digestivo, os plásticos acumulam e carregam poluentes tóxicos (BARNES et al. 2009).

Devido à intensa utilização de materiais plásticos ao longo dos anos e à ineficiência de manejo de reciclagem e descarte, os microplásticos (< 5 mm) tornaram-se poluentes ubíquos (FARADY 2019). Os MPs são derivados da degradação de macropásticos (> 5 mm), da eliminação de microfibras de tecidos, e/ou da fabricação e uso de microesferas para cosméticos, produtos abrasivos, itens de limpeza, entre outros. Ao atingirem o ambiente marinho, os MPs adsorvem compostos orgânicos, químicos farmacêuticos (componentes de antibióticos, anticoncepcionais) e metais pesados que estão no ambiente provenientes da poluição química (WRIGHT et al. 2017). A contaminação conjunta por microplásticos e compostos químicos em organismos marinhos têm sido registrada por muitos estudos (ROCHMAN et al. 2016). Os efeitos são geralmente associados a irregularidade no crescimento corporal, inibição do processo de ecdise em crustáceos, diminuição de apetite alimentar, massa corpórea e sucesso reprodutivo (BARATA et al. 2004; RODRIGUEZ et al. 2007; BUCCI et al. 2020). Em testes de toxicidade, por exemplo, crustáceos anfípodos contaminados com mercúrio, cobre, zinco e cádmio, apresentaram comprometimento na locomoção, o que reduz a capacidade de fuga em situação de stress (UGOLINI et al. 2004; 2012).

No ambiente marinho existem diversos tipos de contaminantes e poluentes (*i. e.* contaminantes que geram impactos ao ecossistema), e grande parte dos estudos explora a contaminação em organismos heterotróficos. Estudos sobre contaminação microplástica, por exemplo, investigam grande parte dos peixes, moluscos e decápodes, pouco se sabe sobre retenção de MP em autotróficos, como macroalgas, gramas marinhas (FENG et al. 2020), e outros bentônicos filtradores como corais, esponjas e ascídias. Dados científicos acerca dos níveis de contaminação nos organismos são importantes para entender os efeitos das atividades antrópicas no ambiente marinho e para auxiliar a elaboração de práticas de educação ambiental, de preservação e conservação. Dessa maneira, esse trabalho abordou diferentes tipos de

contaminação, de macro resíduos, microplásticos e poluentes químicos em que o ambiente e os organismos marinhos estão expostos. O primeiro capítulo estima a precisão da amostragem, qualifica, quantifica e analisa resíduos de praias do porto de Sydney (Austrália). Esse estudo foi realizado em parceria à Universidade de New South Wales (UNSW), sob orientação do Prof. Dr. Mark Browne, durante o doutorado sanduíche fomentado pelo Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior – CAPES (2020). A precisão do delineamento amostral, usualmente utilizada para trabalhos ecológicos, mostrou-se um método adequado para a definição de desenhos amostrais para coleta de resíduos, onde maiores áreas e um maior número de réplicas geram resultados mais precisos estatisticamente. Além disso, foram coletados mais de 700 itens de resíduo nas praias, sendo sua maioria vidros, provenientes da quebra de garrafas de uso único (como garrafas de bebidas). O segundo capítulo é uma revisão sobre as metodologias aplicadas ao estudo de microplásticos ingeridos e retidos em crustáceos, publicado na revista *Environmental Reviews* 2021 (A2). Foi observado a utilização de diversos métodos de análise, muitos dados e resultados sobrepostos, além do uso extrapolado de concentrações de MPs em estudos manipulativos e lacunas de conhecimento. Por fim, o terceiro capítulo dessa tese correlaciona a retenção de microplásticos em três substratos naturais (algas, ascídias, esponjas) e nos anfípodes epibiontes em diferentes pontos do litoral do Rio de Janeiro. Algas por apresentar talos e ramos tendem a acumular mais microplásticos, aumentando assim a exposição das partículas aos anfípodes associados.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARATA, C.; PORTE, C; BAIRD, D. J. 2004. Experimental designs to assess andocrine disrupting effects in invertebrates a review. **Ecotoxicology**, 13, 511–517.

BARNES, D. K. A.; GALGANI, F.; THOMPSON, R. C.; BARLAZ, M. 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**. 364, 1985–1998.

BROWNE, M A; CHAPMAN, M. G.; THOMPSON, R. C.; ZETTLER, L. A. A.; JAMBECK, J.; MALLOS, N. J. 2015a. Spatial and Temporal Patterns of Stranded Intertidal Marine Debris: Is There a Picture of Global Change? **Environmental Science & Technology**. V. 49, p. 7082–7094.

BROWNE, M. A.; , UNDERWOOD, A. J. ; CHAPMAN, M. G.; WILLIAMS, R. THOMPSON, R. C.; VAN FRANEKER, J. A. 2015b. Linking effects of anthropogenic debris to ecological impacts. **Proceedings Royal Society B**. 282: 20142929. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.2929>

BUCCI, K.; TULIO, M.; ROCHMAN, C. M. 2020. What is known and unknown about the effects of plastic pollution: A meta-analysis and systematic review. **Ecological Applications**. 0(0), 2020, e02044.

COE, J. M. e ROGERS, D. 1997. **Marine Debris: Sources, Impacts, and Solutions**. Springer, New York, NY. (1), 432.

CRITCHELL, K. e LAMBRECHTS, J. 2020. Modelling accumulation of marine plastics in the coastal zone; what are the dominant physical processes? **Estuarine, Coastal and Shelf Science**. 171, 111–122.

FARADY, S. E. 2019. Microplastics as a new, ubiquitous pollutant: Strategies to anticipate management and advise seafood consumers. **Marine Policy**. 104, 103–107.

FENG, Z.; ZHANG, T.; SHI, H.; GAO, K.; HUANG, W.; XU, J.; WANG, J.; WANG, R; LI, J.; GAO, G. 2020. Microplastics in bloom-forming macroalgae: Distribution, characteristics, and impacts. **Journal of Hazardous Materials**. 397, 122752.

GALGANI, F.; LEAUTE, J. P.; MOGUEDET, P.; SOUPLLET, A.; VERIN, Y.; CARPENTIER, A.; GORAGUER, H.; LATROUITE, D.; ANDRAL, B.; CADIOU, Y.;

MAHE, J. C.; POULARD, J. C.; NERISSON, P. 2020. Litter on the sea floor along European coasts. **Marine pollution Bulletin**. 40 (6), 516–527.

HENGSTMANN, E.; GRÄWE, D.; TAMMINGA M.; FISCHER, E. K. 2017. Marine litter abundance and distribution on beaches on the Isle of Rügen considering the influence of exposition, morphology, and recreational activities. **Marine Pollution Bulletin**. 115, 297–306.

IMHOF, H. K.; WIESHEU, A. C.; ANGER, P. M.; NIESSNER, R.; IVLEVA, N. P.; LAFORSCH, C. 2018. Variation in plastic abundance at different lake beach zones – A case study. **Science of the Total Environment**. 613–614, 530–537.

JAMBECK, J. R.; GEYER, R.; WILCOX, C.; SIEGLER, T. R.; PERRYMAN, M.; ANDRADY, A.; NARAYAN, R.; LAW, K. L. 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**. 347, 768–771.

LEBRETON, I.; EGGER, M.; SLAT, B. 2019. A global mass budget for positively buoyant macroplastic debris in the ocean. **Scientific reports**. 9:12922.

LOHR, A.; SAVELLI, H.; BEUNEN, R.; KALZ, M.; RAGAS, A.; VAN BELLEGHEM, F. 2017. Solutions for global marine litter pollution. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, 28: 90–99.

MCGRANAHAN, M.; BALK, D.; ANDERSON, B. 2007. The rising tide: assessing the risks of climate change and human settlements in low elevation coastal zones. **Environment & Urbanization**. 19(1): 17–37.

ROCHMAN, C. M.; BROWNE, M. A.; UNDERWOOD, A. J.; VAN FRANEKER, J. A.; THOMPSON, R. C.; AMARAL-ZETTLER, L. A. 2016. The ecological impacts of marine debris: unravelling the demonstrated evidence from what is perceived. **Ecology**. 97, 302–312.

RODRÍGUEZ, E. M.; MEDESANI, D. E.; FINGERMAN, M. 2007. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: A review. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**. 146, 661–671.

TEKMAN, M. B.; KRUMPENB, T.; BERGMANNA, M. 2017. Marine litter on deep Arctic seafloor continues to increase and spreads to the North at the HAUSGARTEN observatory. *Deep Sea Research, Part I: Oceanographic Research Papers*. 120, 88–99.

UGOLINI, A.; BORGHINI, F.; CALOSI, P.; BAZZICALUPO, M.; CHELAZZI, G.; FOCARDI, S. 2004. Mediterranean *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda) as a biomonitor of heavy metals contamination. **Marine Pollution Bulletin**. 48, 526–532.

UGOLINI, A.; PASQUALI, V.; BARONI, D.; UNGHERESE, G. 2012. Behavioural responses of the supralittoral amphipod *Talitrus saltator* (Montagu) to trace metals contamination. **Ecotoxicology**. 21, 139–147.

UNDERWOOD, A. J. 1997. Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press. 504 pp.

VELANDER, K. e MOCOJNI, M. 1999. Beach litter sampling strategies: Is there a ‘best’ method? **Marine Pollution Bulletin**. 38(12), 1134–1140.

WILHELMSSON, D.; THOMPSON, R. C.; HOLMSTRÖM, K.; LINDE´N, O.; ERIKSSON-HÄGG, H. Marine Pollution. In: NOONE, K.; SUMAILA, U.; DIAZ, R. Managing Ocean Environments in a Changing Climate. Elsevier. 376 pp.

WRIGHT, S. L. e KELLY, F. J. 2017. Plastic and human health: a micro issue? **Environmental Science Technology**. 51, 12, 6634–6647.

CAPÍTULO I: Avaliação da precisão da amostragem e análise da contaminação de resíduos antropogênicos no Porto de Sydney (New South Wales – Austrália)

Autores: R. Sorrentino, M. Browne, A. Senna

RESUMO

Os resíduos antropogênicos são geralmente amostrados em zonas entremarés com diferentes desenhos de amostragem. Muitos métodos que definem os padrões de resíduos, seja distribuição ou densidade, são imprecisos e, portanto, analisados e comparados erroneamente. Esses estudos requerem decisões adequadas quanto ao tamanho e número apropriado de unidades de amostragem. Atualmente, não existem trabalhos que avaliam a precisão da amostragem de resíduos provenientes de zona entremarés. Ecólogos utilizam o erro padrão da amostra dividido pela média estimada da população como uma medida de precisão referente ao tamanho e número de unidades utilizados em uma amostragem. A precisão é utilizada para entender a relação entre a amostragem e a densidade de espécies de vários grupos de organismos, porém nunca foi utilizada para resíduos. Sendo assim, a precisão de diferentes desenhos de amostragem (número e tamanho de réplicas n) de resíduos coletados em zonas entremarés foi analisada nesse trabalho. Simulações de variados números e tamanhos de réplicas foram realizadas com base em dados originais de resíduos derivados de oito locais em torno do porto de Sydney. Os dados foram simulados pelo software Excel e analisados com Rstudio. Além disso, os resíduos das oito localidades foram quantificados, identificados e relacionados com densidade populacional, presença e ausência de sistema de drenagem. Foi observado que a precisão é otimizada com o aumento das unidades amostrais, pois apresenta menor erro de amostragem. Além disso, a presença e ausência de drenos parece influenciar mais na densidade de resíduos, visto que grandes quantidades de resíduos são transportadas pelo sistema de drenagem até as praias e ficam acumulados em zonas entremarés.

Palavras-chave: delineamento amostral, resíduos, erro padrão, média estimada, réplicas, unidades amostrais.

ABSTRACT

Anthropological litter usually is sampled in intertidal zones with different sampling designs. Methods that define distribution and density of litter are imprecise and, therefore are erroneously compared and analysed. These studies require adequate decisions regarding the appropriate size and number of sampling units. Currently, there are no studies that assess the precision of sampling of litter from intertidal zone. Ecological researchers use the standard error of the sample divided by the estimated average of the population as a measure of precision regarding the size and number of sampling units. Precision is used to understand the relationship among sampling and species density of diverse groups of organisms, however, it has never been used for litter. Thus, the precision of different sampling designs (number and size of replicates n) of litter from intertidal zones was analysed. Simulations of varies numbers and sizes of replicas were performed based on original litter data from eight sites around Sydney Harbour. The data were simulated with Excel and analysed with Rstudio. In addition, the litter were from the sites were quantified, identified, and related to population density, presence, and absence of drains. It was observed that the precision is optimized increasing the sampling units, as it presents less sampling error. Besides that, the presence and absence of drains seems to influence the density of litter, since large amounts of waste are transported by the drainage system to beaches and are accumulated in intertidal areas.

Keywords: sampling design, residues, standard error, estimated average, replicates, sampling units.

1. INTRODUÇÃO

Existe uma variedade de tipos de resíduos antropogênicos que apresentam distribuição fragmentada e se acumulam em todos os ambientes marinhos. A contaminação por esses materiais é causada por indústrias, atividades pesqueiras e marítimas (MERRELL 1980; WHITING 1998), domésticas (GARRITY e LEVINGS 1993) e recreacionais (ALKALAY et al. 2007), e ambientes costeiros são os mais expostos a essa contaminação. Zonas entremarés são especialmente conhecidas por acumularem diversos tipos de resíduos em razão da alta densidade populacional residente da costa e dos sistemas de drenagem que levam água da chuva para o mar (BROWNE et al. 2015). Zonas entremarés são comumente estudadas incluindo numerosos desenhos amostrais aplicados a coleta de resíduos (VELANDER e MOCOGNI 1999). Geralmente os métodos são escolhidos baseados em estudos anteriores (UNEPUTTY e EVANS 1997) e a metodologia é replicada. Alguns pesquisadores utilizam transectos que podem variar de 50 (CUNNINGHAM e WILSON 2003; BOWMAN et al. 1998) a 0,5 metros (BROWNE et al. 2010), o tamanho das unidades amostrais varia ao longo dos locais de estudo (EVANS et al. 1995), e ainda o número de réplicas não é informado no texto (OIGMAN- PSZCZOL e CREED 2007). Os métodos se diversificam em número e tamanho de transectos e/ou quadracts (unidades de amostra), em área total amostrada e número de réplicas. Adicionalmente, as medições variam em massa, número e volume de resíduos (BROWNE et al. 2015) e os métodos estatísticos que analisam os dados são diferentes, dificultando a comparação entre estudos.

Muitas vezes a escolha das localidades de coleta e o método de amostragem são definidos sem critérios ou não indicados no trabalho, ou com base em critérios específicos que não estão relacionados com a hipótese do estudo. De acordo com Browne et al. (2015), 45% dos estudos de resíduos em zonas entremarés não apresentam justificativa quanto a seleção dos locais de amostra. Quando duas ou mais localidades são escolhidas para um teste de hipóteses, os locais apresentam diferentes tipos de habitats (costões rochosos, areia) (MOORE et al. 2001), diferentes fatores (influência de ventos ou maré) que influenciam na distribuição e quantidade de resíduos (BROWNE et al. 2010), ou são amostradas diferentemente e não possuem replicação (VAUK e SCHREY 1987). Como a distribuição de resíduos varia dependendo de muitos fatores, uma amostragem sem réplicas, ou com representação errônea da área ou do habitat pode gerar dados enviesados e irreais.

Com frequência ecólogos e estatísticos (COCHRAN e COX, 1957; COCHRAN, 1963; SNEDECOR e COCHRAN, 1980) utilizam técnicas específicas para a escolha adequada do método e do desenho amostral para densidade e distribuição de organismos. Estudos preliminares ou pilotos permitem a adequação do número n e tamanho das unidades amostrais (réplicas e tamanho de transectos ou quadracts) (ANDREW e MAPSTONE, 1999). O tamanho da amostra afeta diretamente na precisão dos estimadores, ou seja, a mudança de n unidades da amostra afeta a precisão da média estimada da população. A precisão é uma função da variância e é relacionada com a confiança de um estimador, como a média por exemplo. A precisão reflete o grau de variabilidade entre as médias estimadas de uma população. Como o conceito é parecido, em alguns estudos a precisão já foi calculada e mencionada erroneamente como coeficiente de variação (CV) (WIEBE e HOLLAND, 1968; WIEBE, 1971; IRISH e CLARKE, 1983; PRINGLE, 1984), porém CV representa a variação da amostra e não da média estimada das amostras. A apropriada medida da precisão utiliza o erro padrão ($SE = \sigma / \sqrt{n}$) da média, sendo que com o aumento no número de n , ocorre um aparente decaimento de SE e a melhoria da precisão. O cálculo padronizado da precisão divide SE pela média da população ($p = SE/\bar{Y}$) (ANDREW e MAPSTONE 1999; ANDERSON e SANTANA-GARCON 2015). Nesse caso, a precisão representa o valor do erro tolerado nos estimadores (média por exemplo) da amostra (COCHRAN e COX 1957; COCHRAN 1963) quanto menor valor, mais preciso. Em outras palavras, quanto maior o tamanho e número de unidades amostrais, melhor a precisão.

A precisão é diretamente relacionada com a caracterização e definição do desenho amostral de uma população e é uma ferramenta que pode ser comparada entre diferentes estudos (ANDREW e MAPSTONE 1999; ANDERSON e SANTANA-GARCON 2015). Como os estudos de resíduos apresentam diversos métodos de amostra, por sua vez incomparáveis, nesse estudo a precisão de diferentes amostragens de resíduos foi estimada. Macro resíduos de zonas entremarés foram coletados em localidades no porto de Sydney (Austrália) que apresentavam densa e esparsa densidade populacional humana e a presença e ausência de sistema de drenagem, fatores estes que poderiam afetar na quantidade de resíduos. Com o objetivo de estimar a precisão de amostragens simuladas, duas hipóteses foram formuladas: (1) Com o aumento do tamanho e número de unidades amostrais (área e número de réplicas) a precisão estimada da quantidade de resíduos será melhor; (2) haverá diferença significativa entre as precisões de cada área e réplica aumentada na amostragem de resíduos. Adicionalmente, como as localidades apresentam fatores que afetam a distribuição de resíduos,

definimos uma terceira hipótese: (3) a densidade e diversidade de resíduos será maior em locais com maior nível populacional e presença de sistema de drenagem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

O porto de Sydney é um grande estuário, localizado na maior cidade da Austrália (Sydney), é um hotspot de biodiversidade marinha e estuarina (Figura I 1) (JOHNSTON et al. 2015). A região tem importância econômica, social e ecológica, com grande parte da população residente na área costeira (ABS 2019). O porto é rodeado por diversas praias e baías expostas a atividades turísticas, pesqueiras, com alta rotatividade e intensidade de barcos (STELLINGWOOD et al. 2016). A região possui um grande sistema de drenagem de chuvas, composto por muros artificiais onde desembocam grandes drenos que transportam água não tratada diretamente das rodovias para as praias. Grande parte dos resíduos trazidos pelos drenos, acumulam-se nas praias e baías entre os muros artificiais e a zonas entremarés (BROWNE et al. 2010). Com mais de 85% da população australiana vivendo perto da costa (aprox. 50 km da costa), o impacto das atividades antrópicas na comunidade marinha é intensificado. Espera-se que a distribuição de resíduos seja diferente em cada área e que fatores como a densidade populacional possa afetar na concentração de lixo. Através de um longo período de estudo e senso visual das localidades do porto de Sydney (anterior a esse projeto), oito pontos no interior do porto foram amostrados nesse estudo. As localidades são caracterizadas por apresentarem densa (mais de 2000 pessoas por quilômetro quadrado) ou esparsa (menos de 2000 pessoas por quilômetro quadrado) densidade populacional (ABS, Australia 2021), e a presença ou ausência de sistema de drenos que desembocam na praia.

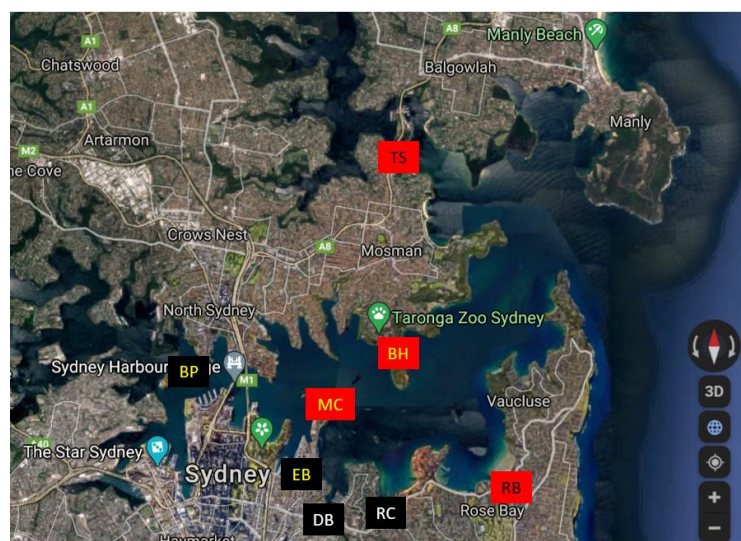


Figura I 1. Localidades amostradas do porto de Sydney (Google Maps). Localidades com esparsa população e com drenos (quadrado vermelho com letras pretas) TS – The Spit e RB – Rosebay. Localidades com esparsa população e sem drenos (quadrado vermelho com letras amarelas) BH – Bradley Head e MC – Macquarie’s Chair. Localidades com densa população e sem drenos (quadrado preto com letras amarelas) BP – Blues Point e EB – Elizabeth Bay. Localidades com densa população e com drenos (quadrado preto com letras brancas) DB – Double Bay e RC – Rushcutters.

2.2 Métodos

Os resíduos foram coletados nos oito pontos do Porto de Sydney, sendo duas localidades com densa população e presença de drenos, duas com densa população sem drenos, duas com esparsa população com drenos, e por último, duas com esparsa população sem drenos (Figura I 1). Os resíduos foram coletados durante a maré baixa (0.4 m, 0.41 m, 05:00 e 06:00) nos dias 26 e 27 de Junho de 2020. As zonas entremarés são constituídas por areia e pequenos fragmentos de rocha. O desenho amostral foi planejado com base em estudos anteriores sobre coletas de resíduos em zonas entremarés. Durante a revisão crítica da bibliografia, as falhas, lacunas e incoerências dos desenhos amostrais foram pontos limitadores para a definição de um desenho amostral bem estruturado. Nesse sentido, elaboramos um desenho amostral preciso para todas as localidades em função de apresentar resultados acurados. Os muros onde desembocam os drenos são construídos paralelos à praia, sendo assim, dois transectos paralelos com quadracts sequenciais (belt transects) foram alinhados, transecto A mais próximo ao muro, transecto B horizontal ao A (Figura I 2). Os muros das localidades foram referências espaciais para o alinhamento dos transectos. Ao longo do muro, um ponto central foi definido para iniciar o alinhamento dos transectos, para localidades com drenos, o dreno foi o ponto central da área amostrada. Nas áreas direita e esquerda do ponto central (ou do dreno) 50 metros do transecto A foi alinhado. Seguindo os transectos, os quadracts sequenciais de 0.25 m² foram postos no substrato e os resíduos da superfície referente a cada quadract foram colocados em sacolas plásticas identificadas (os resíduos foram separados por transecto A e B e quadracts 1 a 100). O transecto B, foi definido paralelo e abaixo do A, e sequencialmente os resíduos foram coletados. Com isso, uma área de 100 m² foi amostrada nas 8 localidades e a distribuição de resíduos no substrato estava delimitada em sequência de 400 quadracts. Após a coleta, o material foi levado ao Laboratório da School of Biological, Earth and Environmental Science (UNSW). Os resíduos foram lavados com água corrente para remover areia ou sujeira, posteriormente foram secos em um forno a 40°C por 24 horas. O material foi pesado

individualmente e separados em tipos baseado nas categorias apresentadas por BROWNE et al. (2015): vidro (garrafas, copos), composto (cabos, pacotes e caixas de alimentos, tampas), mineral (tijolo, azulejos, concreto), metal (cabos, tampas, latas), celulose (filtro de cigarro, copo, madeira, têxtil) e plástico (copo, canudo, sacolas, tampas, garrafas).



Figura I 2. Representação sistemática do desenho amostral (Bradley's Head). Resíduos foram coletados a partir de dois transectos de 50 metros (linha preta) para o lado direito e esquerdo de cada praia. Foram utilizados quadracts sequenciais de 0.25 m^2 (representado com quadrados vazados vermelhos) para os dois transectos.

2.3 Simulação de Dados

Existe uma variedade de áreas amostradas e número total de réplicas n nos estudos de resíduo. Baseado nisso, duas simulações principais foram elaboradas, para áreas e número de réplicas. Importante ressaltar que, na simulação a definição das áreas de transecto e réplicas não excederam uma área total de 100 m^2 , onde permitia-se a utilização dos dados originais para simulação. Primeiramente, quatro réplicas com transectos de 20, 15, 10, 5, 2, 1, 0,5, $0,25 \text{ m}^2$ foram simulados e em seguida, 5 a 2 réplicas n de áreas 15, 10, 5 m^2 . Para a escolha aleatória de pontos específicos de coleta, a simulação foi realizada no software Excel. Na planilha do Excel, 400 células foram sequenciadas para representar os 400 quadracts coletados em cada localidade durante a amostragem de resíduos. Para gerar alto índice de aleatoriedade e diminuir o enviesamento, 30.000 simulações de grupos de quatro números aleatórios (correspondentes as quatro réplicas) e independentes foram feitas pela função “*Randarray*”. Sendo assim, a partir dos 400 quadracts, grupos de quatro números foram gerados 30.000 vezes. Nenhum dos quatro números simulados se intercalavam para gerar dados independentes. Dessas 30.000

simulações, 100 grupos de quatro números aleatórios foram escolhidos. Nesse sentido, os números correspondentes aos quadracts definiam o ponto específico a ser coletado. Como cada quadract era independente, utilizamos os dados originais para simular as novas áreas. Para facilitar e prevenir erros, a função “*indirect + concat*” foi utilizada para carregar os dados originais para áreas simuladas. Essa simulação foi realizada para as 8 diferentes áreas citadas (20, 15, 10 ... m²) e localidades (Double Bay, Rosebay...). Para a simulação de diferentes números de réplicas *n*, simulações foram feitas para *n* de 5 a 2 para as áreas 15, 10 e 5 m² (pois estas apresentaram curva assíntota na figura I 4, ver resultados). Para isso, foi aplicada a mesma lógica das áreas, porém mais simulações foram realizadas. Para gerar a possibilidade de selecionar 100 grupos de números aleatórios independentes (correspondentes as réplicas 5 a 2), a simulação foi feita 40.000 vezes. 100 grupos foram selecionados para a definição dos pontos específicos. O número de resíduos foi simulado para as novas áreas e réplicas. A média da amostra (*Y*), a média das médias (\bar{Y}), desvio padrão (σ), erro padrão (SE) e precisão (*p*) foram calculados para as análises estatísticas.

2.4 Análises Estatísticas

Para responder à primeira hipótese do estudo, o valor da precisão foi calculado em equações simples do Excel a partir do erro padrão (SE) dividido pela média (\bar{Y}) e um gráfico simples foi plotado indicando a precisão/área e /réplicas das oito localidades (Figura I 4). Com o objetivo de verificar a variabilidade entre as médias estimadas das amostras de cada localidade, os valores das médias (*Y*) das simulações foram utilizadas para analisar a variância entre as diferentes áreas e réplicas. Essa análise foi realizada separadamente para cada localidade com a utilização do Teste F. O Teste F tem como função determinar a variância em um conjunto de dados, onde espera-se em uma hipótese zero que as amostras são iguais, ou seja, não variam. A equação abaixo exemplifica o princípio do teste F, onde H₀ possui igualdade entre as variâncias das amostras (σ^2). Dessa forma, as variações das médias das amostras (das 100 simulações) de cada área (20 e 15, 20 e 10, 20 5, 2, 1, 0,5, 0,25) e réplicas (5 a 2) foram comparadas com o Teste F.

$$H_o : \sigma_A^2 = \sigma_B^2$$

$$H_a : \sigma_A^2 > \sigma_B^2$$

Por fim, um teste de Análise de Variância (ANOVA) foi utilizado para verificar a diferença entre as médias dos valores originais e verificar qual dos fatores (drenos, população) influência na concentração de resíduos nas zonas entremarés.

3. RESULTADOS

A partir da coleta de resíduos, foram coletados ao todo 741 itens de resíduos provenientes de sete localidades, sendo que em The Spit (TS) não foi encontrado nenhum resíduo. Os materiais foram classificados em vidro (481 itens), celulose (18), metal (27), composto (29), plástico (145) e mineral (41).

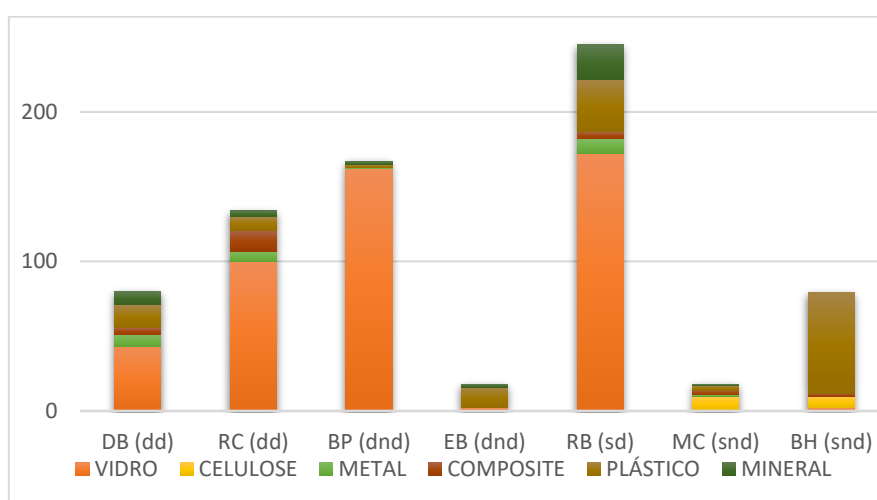


Figura I 3. Gráfico com percentual de tipos de resíduos das zonas entremarés coletados nas localidades do porto de Sydney.

3.1 Precisão das diferentes áreas e réplicas simuladas

Após a simulação dos dados para avaliar a precisão da amostragem, podemos verificar que o valor da precisão diminui com o aumento da área para todas as localidades (Figura I 4). Isso significa que o erro da amostragem é menor e a precisão da amostra se otimiza com o aumento da área. No mesmo gráfico é perceptível analisar que a precisão varia mais entre as menores áreas (0,25 a 2 m²), e a partir da área 5 m², a precisão mantém-se na média de 0.3, formando uma assíntota (linha reta relacionada com uma curva, cuja distância entre elas se torna infinitamente pequena, a partir de determinado ponto). Na análise do Teste F das médias de cada área (Tabela I 1), existe uma maior variabilidade quando se compara grandes áreas (20, 15, 10 m²) com menores áreas (1, 0,5 e 0,25 m²). Em todas as localidades, as médias entre áreas 20, 15, 10 e 5 m² são muito próximas, não variam significativamente. Por exemplo, em DB a

variância da área 15 é 0.00145 e da área 10 é 0.00193, no teste F o resultado entre essas variâncias é de 0.15, ou seja, não existe variabilidade entre as amostras.

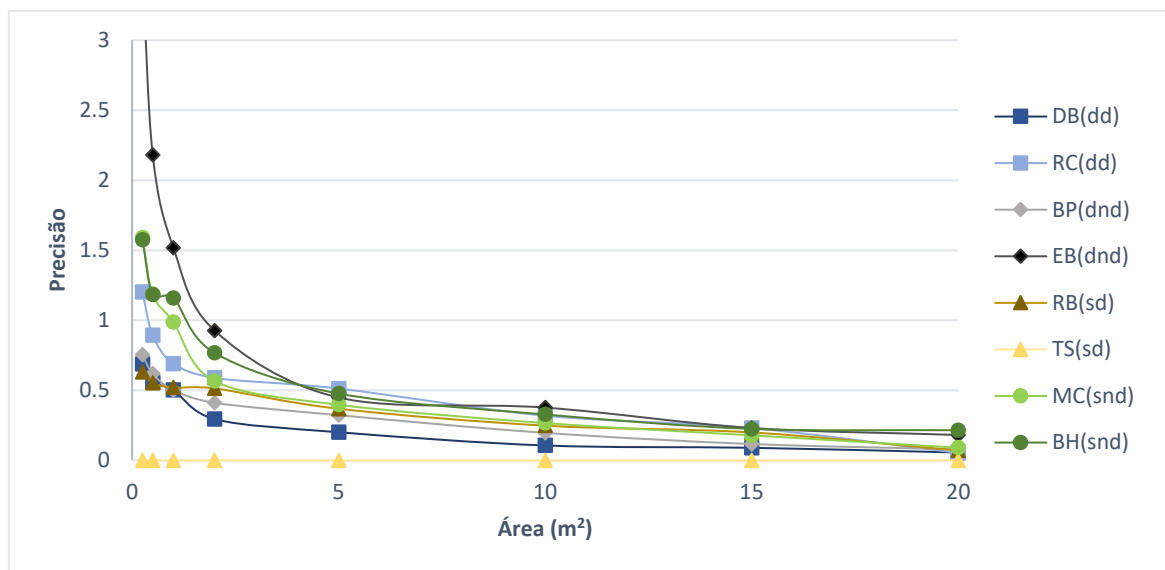


Figura I 4. Gráfico dos valores de precisão das áreas (metros quadrados) amostrais simuladas nas respectivas localidades.

Tabela I 1. Valores do Teste F referentes à comparação das variáveis das médias de cada localidade. Cores mais fortes (valores mais próximos de 1) representam maior igualdade entre médias, ou seja, menos variáveis.

TESTE F (DIFERENÇA ENTRE VARIÁVEIS DAS MÉDIAS)							
LOCAL	Comparação das variáveis entre cada área						
	20-15	20-10	20-5	20-2	20-1	20-0.5	20-0.25
DB	3.19E-06	2.18E-09	1.54E-29	1.24E-40	3.69E-66	1.64E-65	1.98E-82
RC	2.39E-33	1.89E-47	3.29E-56	1.53E-76	3.41E-89	3.02E-83	3.44E-106
BP	0.0001157	2.358E-19	5.177E-37	3.557E-40	2.364E-50	2.135E-66	1.0123E-68
EB	0.0025724	1.793E-13	4.122E-32	6.099E-58	5.96E-66	2.213E-45	1.3872E-55
RB	2.725E-18	1.558E-31	6.286E-45	0.0608194	9.766E-54	3.137E-67	1.4318E-63
MC	2.067E-10	9.602E-23	2.034E-38	7.672E-61	2.45E-73	4.289E-92	9.052E-101
BH	0.012328	1.312E-12	1.014E-26	7.35E-31	2.198E-44	2.825E-57	2.7245E-72
LOCAL	15-10	15-5	15-2	15-1	15-0.5	15-0.25	
DB	0.1556322	1.055E-13	7.082E-23	1.861E-46	7.782E-46	2.8153E-62	
RC	0.0004185	2.9E-08	2.483E-22	4.717E-33	6.974E-28	1.0933E-48	
BP	2.555E-08	1.336E-22	2.047E-25	8.978E-35	4.093E-50	2.2519E-52	
EB	4.544E-06	3.325E-21	1.928E-45	3.034E-53	2.046E-33	3.6701E-43	
RB	0.0001936	4.79E-12	1.204E-12	1.812E-18	1.096E-29	1.6188E-26	
MC	6.318E-05	3.827E-15	3.255E-34	6.788E-46	4.783E-64	1.4085E-72	
BH	1.68E-06	3.937E-18	7.605E-22	1.814E-34	6.549E-47	1.176E-61	
LOCAL	10-5	10-2	10-1	10-0.5	10-0.25		
DB	7.132E-10	3.81E-18	9.583E-41	3.885E-40	2.5038E-56		

RC	0.0340776	2.244E-11	2.85E-20	7.404E-16	1.6454E-34
BP	1.761E-06	3.155E-08	6.571E-15	9.371E-28	8.9459E-30
EB	7.493E-08	2.118E-27	1.542E-34	4.982E-17	2.2911E-25
RB	0.0007006	1.143E-24	5.363E-08	9.886E-17	4.0143E-14
MC	3.182E-05	1.168E-19	4.624E-30	3.204E-47	1.6516E-55
BH	1.765E-05	8.557E-08	3.238E-17	6.162E-28	1.3352E-41
LOCAL	5-2	5-1	5-0.5	5-0.25	
DB	0.0041884	1.305E-17	3.962E-17	6.3458E-31	
RC	2.273E-06	1.153E-13	6.254E-10	1.4062E-26	
BP	0.421162	0.0009838	5.516E-12	1.6172E-13	
EB	4.715E-10	2.437E-15	0.0008094	1.1316E-08	
RB	1.88E-37	0.0319576	1.508E-07	9.264E-06	
MC	8.273E-08	1.162E-15	1.165E-30	2.158E-38	
BH	0.2608158	6.346E-06	1.488E-13	4.5389E-25	
	LOCAL	2-1	2-0.5	2-0.25	
DB		1.861E-09	4.386E-09	1.1542E-20	
RC		0.0033584	0.1176224	2.9302E-11	
BP		0.0121682	6.989E-10	2.682E-11	
EB		0.0572461	0.0024526	0.57149141	
RB		4.951E-46	2.564E-59	1.0578E-55	
MC		0.0033405	1.926E-12	1.7368E-18	
BH		0.0005977	1.711E-10	3.5342E-21	
		LOCAL	1-0.5	1-0.25	
DB			0.8781558	0.00015892	
RC			0.1663878	9.7638E-05	
BP			0.0001453	1.5182E-05	
EB			1.16E-06	0.01386849	
RB			0.0014041	0.01910805	
MC			1.607E-05	5.862E-10	
BH			0.0018423	9.6729E-11	
			LOCAL	0.5-0.25	
DB				8.6933E-05	
RC				1.8645E-07	
BP				0.58291885	
EB				0.01336732	
RB				0.38619662	
MC				0.04464118	
BH				0.00042231	

Para as réplicas de n , a precisão melhora a partir de 3 réplicas (Figura I 5). Quando as três áreas, 15, 10 e 5 m² são comparadas, percebe-se que o valor da precisão aumenta correspondentemente com o aumento da área. A área 15 é mais precisa (valores menores que 0,8) do que a 10 e a área 5. Nesse caso, desenhos amostrais maiores (maiores áreas e réplicas) apresentam melhores precisões.

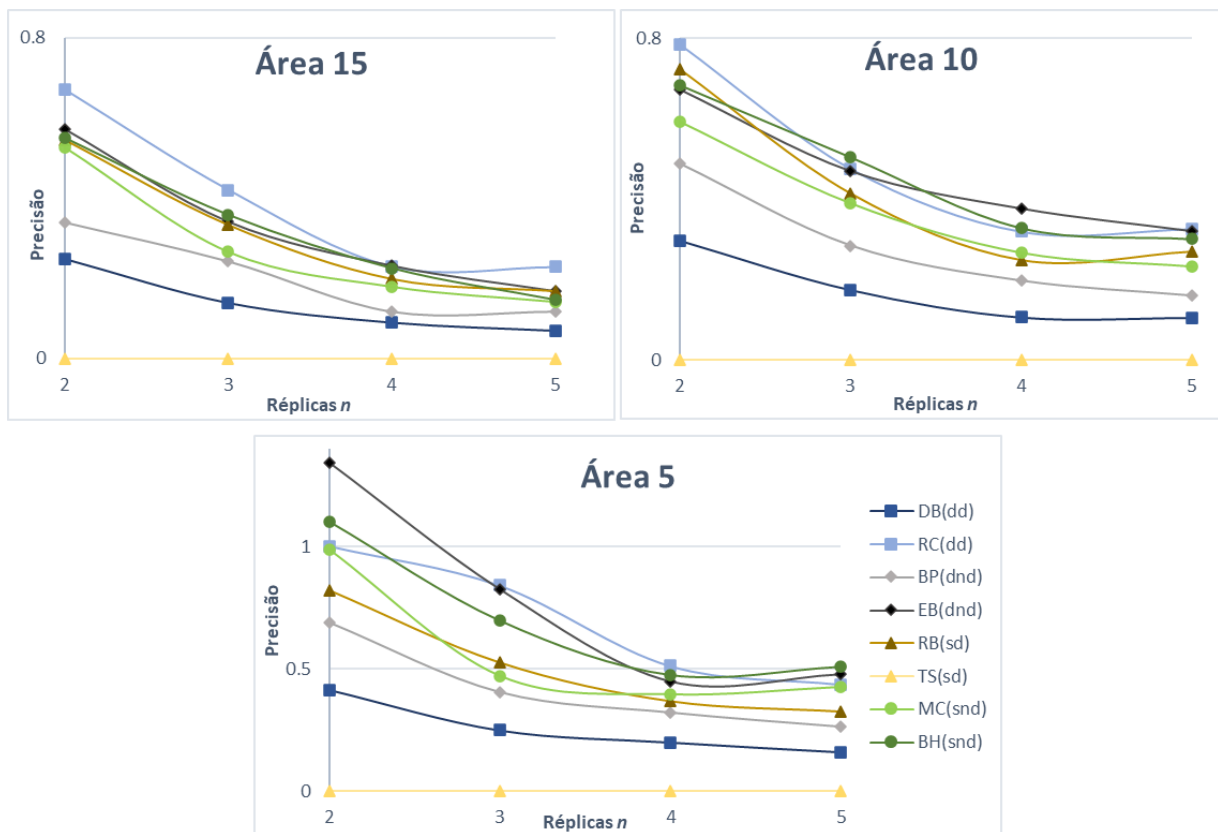


Figura I 5. Gráfico com valores da precisão das réplicas n simuladas para as diferentes localidades.

3.2. Análise dos resíduos nas localidades do porto de Sydney

Rosebay e Rushcutters, com esparsa e densa população, respectivamente, apresentam alta concentração de resíduos, e ambos possuem sistema de drenagem (Anexo I 5). Blues Point apesar de não possuir drenos, a alta densidade populacional parece contribuir para a concentração de resíduos pois também apresenta maior número de itens. Macquarie's Chair e Elizabeth Bay apresentaram as menores concentrações de resíduos, possivelmente por não possuírem sistema de drenagem que possam trazer os resíduos para zonas entremarés (Figura I 3).

O resultado da ANOVA demonstra que o fator dreno influencia significativamente ($p = 9.7^{-07}$) na diferença na densidade de resíduos quando comparada com o fator densidade populacional (Anexo I 4). No Teste Tukey, quando a influência de cada fator é testada separadamente, o fator dreno permanece significativo para a densidade de resíduos. Em uma ANOVA de interação entre e dentre fatores, o fator dreno e densidade x dreno são significantes e podemos observar no Teste Tukey que locais com densidade populacional esparsa com a presença e ausência de drenos é mais significativa para a diferença de densidade de resíduos.

Além disso, com esse teste observamos que a interação entre locais “densos sem drenos X esparsos com drenos”, e locais “esparsos com drenos X densos com drenos” são também significantes para a densidade de resíduos.

4. DISCUSSÃO

Existe uma diversidade de procedimentos de coleta e análises sobre densidade de resíduos no ambiente marinho. Desse modo, é um desafio estimar um valor próximo a abundância real de resíduos no ambiente. A definição do desenho amostral tem um impacto na quantificação de resíduos em zonas entremarés. Como descrito por Velander e Mocogni (1999), dentre 10 diferentes desenhos amostrais e localidades amostradas, dois métodos de amostragem influenciaram significativamente na quantidade de resíduo registrada. Todavia, o estudo não identificou a precisão dos métodos amostrais aplicados, apenas identificou a relação entre os mesmos e a densidade de resíduos.

Dois aspectos afetam na precisão dos estimadores das amostras, o tamanho e o número de unidades amostrais. Unidades amostrais que apresentem o menor valor de precisão serão melhores pois o valor da precisão é refletido pela pequena variância amostral, onde o estimador fornece, para diferentes amostras, estimativas próximas entre si. É desejável que os estimadores de um determinado parâmetro da população possuam um valor de variância que seja o mínimo possível, isto porque, uma variância baixa significa uma precisão maior da estimativa do que uma variância alta (ANDREW e MAPSTONE 1999). Em simples palavras, é desejável que as médias estimadas possuam baixa variação e assim representem menos erro de amostragem (uma amostra enviesada, por exemplo), como apresentado nas maiores áreas e réplicas amostradas nesse estudo.

Geralmente, o gráfico da precisão irá representar um decaimento rápido com o aumento do desenho amostral atingindo uma curva assíntota. O tamanho amostral com o menor valor de precisão (mais preciso) é a melhor escolha. De acordo com Green (1979), quando tamanhos amostrais possuem a mesma precisão, a maior unidade amostral deve ser escolhida, caso o custo de amostragem não seja um limitador. Custo, particularidades ambientais e ecológicas devem ser levadas em conta na definição de desenhos amostrais. No caso desse estudo em que o custo e outras adversidades não foram contabilizadas, as unidades que apresentaram maiores precisões são as mais adequadas para o estudo. Áreas amostrais maiores que 10 m² com réplicas *n* acima de 4 foram as mais precisas em todas as localidades amostradas. Desse modo,

observamos que precisão das médias estimadas das amostras reflete na alteração de unidades amostrais, bem como é um bom estimador para a definição de desenhos amostrais de resíduos.

Com o teste ANOVA e Tukey observamos a média de resíduos varia significativamente entre locais que possuem sistema de drenagem. Mesmo em locais com menor índice populacional, é indicado que drenos são fatores mais significantes na análise. Localidades com população esparsa e densa (RB e RC, por exemplo), quando possuem drenos tendem a ter mais resíduos, como apresentado nos resultados (Anexo I 5). Inversamente, na ausência de drenos, a densidade de resíduos é inferior. Apesar de não apresentar drenos, Blues Point (BP) possui alta concentração de resíduos, possivelmente pela construção de um novo prédio na localidade, bem como por ser uma região frequentada por pessoas que consomem bebidas para apreciar a vista, o que explica o alto número de vidros provenientes de garrafas.

Uma vez que resíduos são lançados no ambiente, com a chuva, os itens são carregados pelos sistemas de drenagem até chegar nos ecossistemas aquáticos (rios, estuários, oceano). Apesar de Sydney possuir separação do sistema de esgoto e drenagem, e utilização de redes em alguns drenos (muitas vezes, nos maiores drenos) para capturar resíduos, os resíduos são carregados pela chuva, transportados pelos drenos e acumulados nas praias. Além da quantificação de resíduos derivados do consumo recreacional e doméstico (bolas, potes de cozinha, equipamentos de pesca), de construção (tijolos, concreto), foram encontrados cigarros e muitos vidros de garrafas de consumo alimentício. Estes são materiais de rápido uso e descarte imediato. Situações como essas são apenas evitadas com alta conscientização, políticas ambientais e programas de monitoramento ambientais para reduzir o acúmulo de resíduos nos ambientes e da contaminação nos oceanos.

5. CONCLUSÃO

Trabalhos ecológicos (de amostragens de organismos) muitas vezes se aprofundam mais nos fatores relacionados ao desenho amostral, ao passo que pesquisas de contaminação de resíduos não focam na definição de unidades amostrais, réplicas, custo, acurácia, precisão. Coletas irregulares tanto de resíduos sólidos como de qualquer material de análise, traz desvantagens para o resultado da pesquisa e em trabalhos de monitoramento e manejo. Atualmente existem muitos dados sobre acúmulo e distribuição dos resíduos, porém, pela falta de métodos alinhados, não podemos estimar o real impacto dos resíduos no ambiente. Estudos sobre resíduos não necessariamente precisam utilizar o cálculo da precisão para definir tamanho da amostra. Porém, é de suma importância compreender os parâmetros aqui

levantados que afetam a elaboração de desenhos amostrais para otimizar coletas, diminuir custos e apresentar dados realistas, principalmente para áreas como o porto de Sydney. Nessa localidade, é registrado que aproximadamente 3.500 m³ de resíduos cheguem ao porto, entretanto não existem muitos trabalhos relacionados à densidade desses materiais na área. Além dessa lacuna de dados, ainda são necessários estudos com réplicas temporais e espaciais, além de métricas padronizadas da abundância de resíduos. Apenas com esse conjunto de dados teremos a compreensão ampla do impacto dos resíduos antropogênicos no ambiente marinho e a implementação eficiente de manejo (MAYER-PINTO et al. 2015).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABS: Australian Bureau of Statistics:
<https://www.abs.gov.au/ausstats/abs@.nsf/Previousproducts/3218.0Main%20Features702017-18?opendocument&tabname=Summary&prodno=3218.0&issue=2017-18&num=&view=>
Visitado 28 de Abril de 2021.

ALKALAY, R.; PASTERNAK, G.; ZASK, A. 2007. A new approach for beach cleanliness assessment. **Ocean Coastal Management**. 50, 352–362.

ANDERSON, M. J. e SANTANA-GARCON, J. 2015. Measures of precision for dissimilarity-based multivariate analysis of ecological communities. **Ecology Letters**. 18: 66–73.

ANDREW, N. L. e MAPSTONE, B. D. 1999. Sampling and the description of spatial pattern in marine ecology. *In*: BARNES, H. e BARNES, M. Oceanography and marine ecology: a annual review. British Library Cataloguing in Publication Data, 25, 574 pp.

BROWNE, M. A., GALLOWAY, T. S., THOMPSON, R. C. 2010. Spatial patterns of plastic debris along estuarine shorelines. **Environmental Science & Technology**. 44 (9), 3404–3409.

BROWNE, M A; CHAPMAN, M. G.; THOMPSON, R. C.; ZETTLER, L. A. A.; JAMBECK, J.; MALLOS, N. J. 2015. Spatial and Temporal Patterns of Stranded Intertidal Marine Debris: Is There a Picture of Global Change? **Environmental Science & Technology**. 49, p. 7082–7094.

BOWMAN, D., MANOR-SAMSONOV, N., GOLIK, A. 1998. Dynamics of litter pollution on israeli mediterranean beaches: a Budgetary, Litter Flux Approach. **Journal of Coastal Research**. 14(2), 418–432.

COCHRAN, W.G. 1963. Sampling Techniques. John Wiley & Sons, New York, 2nd edition, 413 pp.

COCHRAN, W.G. e COX, G.M. 1957. Experimental Designs. John Wiley e Sons, New York, 2nd edition, 611 pp.

CUNNINGHAM, D. J. e WILSON, S. P. 2003. Marine debris on beaches of the greater Sydney Region. **Journal of Coastal Research**. 19(2), 421–430.

EVANS, S. M.; DAWSON, M.; DAY, J.; FRID, C. L. J.; GILL, M. E.; PATTISINA, L. A.; PORTER, J. 1995. Domestic waste and TBT pollution in coastal areas of Ambon Island (Eastern Indonesia). **Marine Pollution Bulletin**. 30(2), 109–115.

GARRITY, S. D.; LEVINGS, S. C. 1993. Marine debris along the Caribbean Coast of Panama. **Marine Pollution Bulletin**. 26, 317–324.

IRISH, A.E. e CLARKE, R.T., 1984. Sampling designs for the estimation of phytoplankton abundance in limnetic environments **British Journal of Psychology**. 19, 57–66.

JOHNSTON, E. L.; MAYER-PINTO M.; HUTCHINGS, P. A.; MARZINELLI, E. M., AHYONG, S. T.; BIRCH, G.; BOOTH, D. J.; CREESE, R. G.; DOBLIN, M. A.; FIGUEIRA, W.; GRIBBEN, P. E.; PRITCHARD, T.; ROUGHAN, M.; STEINBERG, P. D.; HEDGE, L. H. 2015. Sydney Harbour: what we do and do not know about a highly diverse estuary. **Marine and Freshwater Research**. 66, 1073–1087.

MAYER-PINTO, M.; JOHNSTON, E. L.; HUTCHINGS, P. A.; MARZINELLI, E. M.; AHYONG, S. T.; BIRCH, G.; BOOTH, D. J.; CREESE, R. G.; DOBLIN, M. A.; FIGUEIRA, W.; GRIBBEN, P. E.; PRITCHARD, T.; ROUGHAN, M.; STEINBERG, P. D.; HEDGE, L. H. 2015 Sydney Harbour: a review of anthropogenic impacts on the biodiversity and ecosystem function of one of the world's largest natural harbours. **Marine and Freshwater Research**. 66, 1088–1105.

MERRELL, T. R. J. 1980. Accumulation of plastic litter on beaches of Amchitka Island, Alaska. **Marine Environmental Research**. 3, 171–184.

MOORE, S. L.; GREGORIO, D.; CARREONS, M.; WEISBERG, S. B.; LEECASTER, M. K. 2001. Composition and distribution of beach debris in Orange County, California. **Marine Pollution Bulletin**. 42, 241–245.

OIGMAN-PSZCZOL, S. e CREED, J. C. 2007. Quantification and classification of marine litter on Beaches along Armação dos Búzios, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Coastal Research**. 232, 421–428.

PRINGLE, J.D. 1984. Efficiency Estimates for Various Quadrat Sizes Used in Benthic Sampling. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**. 41, 1485–1489.

SNEDECOR, G.W. e COCHRAN, W.G., 1980. Statistical Methods. The Iowa State University Press, Iowa, 7th edition, 507 pp.

Stelling-Wood, T. P.; Clark, G. F.; Poore, A. G. B. 2016. Responses of ghost crabs to habitat modification of urban sandy beaches. **Marine Environmental Research**. 116, 32–40.

UNEPUTTY, P e EVANS, S. M. 1997. The impact of plastic debris on the biota of tidal flats in Ambon bay (eastern Indonesia). **Marine Environmental Research**. 44, (3), 233–242.

VAUK, G. J. M. e SCHREY, E. 1987. Litter pollution from ships in the German Bight. **Marine Pollution Bulletin**. 18, 316–319.

VELANDER, K. e MOCOJNI, M. 1999. Beach litter sampling strategies: Is there a ‘best’ method? **Marine Pollution Bulletin** 38(12), 1134–1140.

WHITING, S. D. 1998. Types and Sources of Marine Debris in Fog Bay, Northern Australia. **Marine Pollution Bulletin**, 36(11), 904–910.

WIEBE, P.H., 1971. **Limnology Oceanography**. 16, 29–38.

WIEBE, P.H. e HOLLAND, W.R. 1968. **Limnology Oceanography**. 13, 315–321.

5. ANEXOS

Anexo I 1. Tabela de variáveis das médias de cada localidade para cada área simulada. Cores mais fortes, maiores variáveis.

ÁREA	Variáveis das médias						
	DB	RC	BP	EB	RB	MC	BH
A20	0.00056	0.00138	0.00483	0.00024	0.00846	0.00007	0.00430
A15	0.00145	0.02118	0.01062	0.00043	0.05502	0.00026	0.00714
A10	0.00193	0.04346	0.03359	0.00111	0.11763	0.00060	0.01910
A5	0.00696	0.06671	0.08965	0.00338	0.23445	0.00140	0.04599
A2	0.01244	0.17612	0.10544	0.01236	0.01236	0.00423	0.05770
A1	0.04334	0.31940	0.17523	0.01815	0.36182	0.00768	0.11604
A0.5	0.04202	0.24156	0.38031	0.00668	0.69249	0.01857	0.21849

A0.25 0.09362 0.70750 0.42482 0.01103 0.58148 0.02787 0.44797

Anexo I 2. Valores do Teste F referente a comparação das variáveis das médias de cada localidade. Cores mais fortes (valores mais próximos de 1) representam maior igualdade entre médias, ou seja, menos variáveis.

TESTE F (DIFERENÇA ENTRE VARIÁVEIS DAS MÉDIAS)						
LOCAL	Comparação das variáveis entre cada réplica <i>n</i> (ÁREA15)					
	5-4	5-3	5-2	4-3	4-2	3-2
DB	1.09E-01	1.04E-04	4.27E-13	2.07E-02	6.72E-09	3.18E-04
RC	0.971425	0.000165	9.58E-12	0.00019	1.2E-11	0.001188
BP	0.154898	3.38E-05	4.14E-07	4E-08	1.81E-10	0.334398
EB	0.450683	1.57E-05	1.46E-11	0.000328	1.29E-09	0.008986
RB	0.879981	0.011701	4.72E-10	0.007596	1.95E-10	0.000118
MC	0.086889	1.98E-05	7.81E-16	0.009266	5.79E-11	3.91E-05
BH	0.03962	8.16E-09	1.47E-16	0.000136	1.13E-10	0.005193
	Comparação das variáveis entre cada réplica <i>n</i> (ÁREA10)					
DB	0.234941	0.001107	1.54E-09	1.04E-05	1.16E-12	0.003555
RC	0.451525	0.009983	1.01E-06	0.000922	2.23E-08	0.017031
BP	0.084469	0.000114	4.55E-12	0.030153	9.17E-08	0.001092
EB	0.828896	0.209467	1.44E-07	0.141523	4.73E-08	4.71E-05
RB	0.931261	0.028011	1.18E-06	0.022471	7.82E-07	0.006287
MC	0.945622	0.009437	4.31E-06	0.007748	3.16E-06	0.039395
BH	0.720599	0.055496	0.00058	0.11876	0.001983	0.120799
	Comparação das variáveis entre cada réplica <i>n</i> (ÁREA5)					
DB	0.289756	0.099708	3.3E-06	0.555052	0.000277	0.002196
RC	0.002639	0.84814	5.34E-07	0.00481	9.02E-15	2.07E-07
BP	0.129832	0.017841	0.000319	0.388744	0.034564	0.20865
EB	0.722387	0.454433	7.92E-06	0.694291	3.66E-05	0.000177
RB	0.429861	0.001153	1.21E-07	0.013259	5.42E-06	0.033195
MC	0.46693	0.578504	1.41E-07	0.199931	2.89E-09	2.12E-06
BH	0.413656	0.181753	0.007367	0.031796	0.000504	0.174918

Anexo I 3. Variáveis das médias de cada localidade para cada réplica *n* simulada. Cores mais fortes, maiores variáveis.

Réplicas <i>n</i>	Variáveis das médias (ÁREA15)						
	DB	RC	BP	EB	RB	MC	BH
5	0.001048	0.021032	0.014146	0.000373	0.056718	0.000187	0.004712
4	0.001449	0.021185	0.010615	0.000435	0.055018	0.000264	0.007144
3	0.002315	0.045341	0.033021	0.000904	0.094524	0.000447	0.015559
2	0.00482	0.087642	0.040118	0.001534	0.207396	0.001037	0.027428
	Variáveis das médias (ÁREA10)						
5	0.002453	0.050579	0.023705	0.001163	0.119697	0.000606	0.017776

4	0.00193	0.043456	0.03359	0.001113	0.117634	0.000598	0.019105
3	0.004761	0.085254	0.052084	0.001498	0.186704	0.001026	0.026179
2	0.008603	0.138211	0.10118	0.00344	0.324936	0.001556	0.03581
Variáveis das médias (ÁREAS)							
5	0.005619	0.122853	0.06603	0.003146	0.199948	0.001621	0.054235
4	0.006957	0.066714	0.089653	0.003379	0.234445	0.0014	0.045994
3	0.007835	0.118202	0.106671	0.003658	0.387189	0.001813	0.071011
2	0.014595	0.344779	0.137476	0.007858	0.595696	0.0048	0.093376

Anexo I 4. Dados do Rstudio dos testes ANOVA e Tukey.

Two way ANOVA1: Significância dos fatores dreno e densidade populacional na densidade de resíduos.

```

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
DENSITY 1 0.87 0.87 0.66 0.417
DRAIN 1 32 31.76 24.08 9.76e-07 ***
Residuals 2797 3688 1.32
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Teste Tukey1: Significância de cada fator na densidade de resíduos

```

$DENSITY
diff      lwr      upr    p adj
sp-de 0.035625 -0.05036141 0.1216114 0.4166407

$DRAIN
diff      lwr      upr    p adj
nd-dr -0.2121875 -0.2981739 -0.1262011 1.4e-06***

```

Two way Interaction ANOVA2: Significância da interação entre e dentre fatores dreno e densidade populacional na densidade de resíduos.

```

Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
DENSITY 1 0.87 0.87 0.666 0.415
DRAIN 1 32 31.76 24.291 8.76e-07 ***
DENSITY:DRAIN 1 33 33.12 25.338 5.12e-07 ***
Residuals 2796 3655 1.31
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Teste Tukey2: Significância entre fatores na densidade de resíduos

```

$DENSITY
diff      lwr      upr    p adj
sp-de 0.035625 -0.04998974 0.1212397 0.4146209

$DRAIN
diff      lwr      upr    p adj
nd-dr -0.2121875 -0.2978022 -0.1265728 1.2e-06

```

```

$`DENSITY:DRAIN`
      diff      lwr      upr      p adj
sp:dr-de:dr  0.34500  0.1650175  0.5249825089  0.0000053***
de:nd-de:dr -0.03625 -0.1832051  0.1107051032  0.9210416
sp:nd-de:dr -0.14625 -0.2932051  0.0007051032  0.0516566
de:nd-sp:dr -0.38125 -0.5612325 -0.2012674911  0.0000003***
sp:nd-sp:dr -0.49125 -0.6712325 -0.3112674911  0.0000000***
sp:nd-de:nd -0.11000 -0.2569551  0.0369551032  0.2180662

```

ANEXO I 5. Tabela do total de tipos de resíduos para cada localidade.

LOCAL	VIDRO	CELULOSE	METAL	COMPOSTO	PLÁSTICO	MINERAL	SOMA_LOCAL
DB (dd)	43	0	8	5	15	9	80
RC (dd)	100	0	7	14	9	4	134
BP (dnd)	162	0	1	0	2	2	167
EB (dnd)	2	0	0	0	14	2	18
RB (sd)	172	0	10	5	35	23	245
MC (snd)	0	10	1	3	3	1	18
BH (snd)	2	8	0	2	67	0	79
SOMA_TIPO							
RESÍDUO	481	18	27	29	145	41	741

CAPÍTULO II: Revisão das abordagens aplicadas ao estudo da contaminação microplástica em crustáceos

Versão reduzida de: Sorrentino, R. e Senna, A. A review of current approaches for the study of microplastic contamination in crustaceans. **Environmental Review** (Anexo II 1).

RESUMO

Os microplásticos (MPs) são uma ameaça ao ecossistema marinho. A ingestão de MPs causa falsa saciedade e queda nutricional. Depois da ingestão, os MPs se fragmentam em nanoplásticos, retornam para o ambiente através da excreção e tornam-se vetores de poluentes contaminantes na cadeia trófica. Crustacea é um grupo de invertebrados frequentemente investigado nos estudos de ingestão de MP. Dessa forma, nós descrevemos as diversas técnicas utilizadas no estudo da contaminação microplástica no subfilo Crustacea, assim como as atuais limitações e futuros aprimoramentos.

Palavras-chave: Crustacea, metodologia, animais marinhos, água doce, microplástico.

ABSTRACT

Microplastics (MPs) pose a threat to marine ecosystems. The animal ingestion of MPs causes a false sense of satiation and decline in nutritional status. After ingestion, MPs fragment into nanoplastics, returning to the environment through egestion and thereby becoming vectors of contaminant exposure (organic and inorganic) into marine food webs. Crustacea is one invertebrate group frequently investigated in studies of MP ingestion. Through a critical review of the current literature, we provide an overview of techniques utilized in research on the contamination of MPs on members of the Crustacea subphylum and thereby identify methodological limitations and future research needs.

Key words: Crustacea, methodology, marine animals, freshwater, microplastic.

1. INTRODUÇÃO

Os plásticos vem sendo parte essencial de nossas vidas desde sua produção comercial em 1930 e 1940 (JAMBECK et al. 2015). Hoje, pela falta de manejo, os plásticos tornaram-se uma grande ameaça para o meio ambiente (FRIAS e NASH 2018; PROVENCHER et al. 2018). Devido a composição de hidrocarbonetos, os plásticos não são biodegradáveis e acumulam em aterros e ambientes naturais (GEYER et al. 2017). Apesar de alguns estudos quantificarem a decomposição de plásticos no substrato dos oceanos (e.g. BRANDON et al. 2019), ainda é desafiador estimar a real quantidade devido sua fragmentação, distribuição pelo vento e afundamento (COURTENE-JONES et al. 2019). Uma das partículas sintéticas mais documentadas no ambiente são os microplásticos (MPs) (1 μm –5 mm) (FRIAS e NASH 2019). Tem sido demonstrado que MPs acumulam-se na atmosfera, bem como em terraços de prédios e em neve de áreas remotas do Ártico (BERGMANN et al. 2019; GASPERI et al. 2018).

De acordo com Nizzetto et al. (2016), a densidade de polímeros de MP varia de 16 kg m^{-3} , como poliestireno expandido, a 2.200 kg m^{-3} , como politetrafluoretileno. Como resultado, MPs podem ser depositados em áreas mais profundas de ambientes aquáticos, como zona hadal (> 6000 metros de profundidade) (PENG et al. 2018). Ziccardi et al. (2016) relatam que o intemperismo e o desenvolvimento de biofilmes em partículas de plásticos afetam a densidade da partícula, e assim sua flutuabilidade nos sistemas aquáticos. Fatores como vento e correntes também aumentam a distribuição desses contaminantes no ambiente aquático (CRITCHELL e LAMBRECHTS 2016). A biota aquática é intensamente vulnerável a ingestão e contaminação de MP devido a sua ubiquidade e aos diferentes fatores que interferem na sua flutuabilidade. A distribuição de microplásticos na coluna d'água não é apenas influenciada por sua densidade e biofilme, mas também a temperatura da água, salinidade e outros fatores físicos (COURTENE-JONES et al. 2019). Choy et al. (2019) relatou uma grande concentração de MPs no sistema pelágico da Baía de Monterey (Califórnia, EUA) que variava entre 200 e 600 m^{-1} , demonstrando que MPs ocorrem em diferentes profundidades e impactam cadeias tróficas pelágicas e bentônicas (AVIO et al. 2020). O número de organismos relacionados com a ingestão ou retenção de plástico vem aumentando continuamente (ZICCARDI et al. 2016). Hoje, é bem compreendido que todos os níveis da cadeia alimentar são afetados pela ingestão de MPs (WRIGHT e KELLY 2017). Redondo-Hasselerharm et al. (2018a) tem sugerido que a susceptibilidade de ingestão de MP pode ter relação espécie específica.

De acordo com Welden e Cowie (2016a), várias pesquisas analisam invertebrados em laboratório. Algumas unem a ingestão natural e testes experimentais com múltiplas concentrações de MP (MURRAY e COWIE 2011), enquanto outras analisam a ingestão de partículas com poluentes orgânicos (CHUA et al. 2014) e metais adsorvidos, ou a transferência de MPs em diferentes níveis tróficos (BATEL et al. 2016; TOSETTO et al. 2016b). Notadamente, a maioria dos trabalhos não investigam os efeitos da contaminação em assembleias de organismos (BROWNE et al. 2015). Além disso, alguns estudos mencionados nessa revisão, usam contaminação e poluição indistintamente quando deveriam ser distintas entre si, como proposto por Underwood et al. (2017). Quando a contaminação de um químico específico altera a ecologia das assembleias e populações, é considerado poluição, caso contrário é apenas um contaminante.

Dentre os invertebrados, os crustáceos são os mais comumente estudados (SÁ et al. 2018), e uma diversidade de análises é desenvolvida. Devido à falta de uniformidade metodológica e uma avaliação crítica à essa pesquisa, nós compilamos as diferentes estratégias analíticas utilizadas para analisar a contaminação de MP em crustáceos, incluindo de ambientes marinho, água doce e terrestre, bem como a descrição de contaminação em experimentos laboratoriais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A revisão bibliográfica foi elaborada através das seguintes bases de dados: Google Acadêmico, Web of Science, PubMed e Research Gate. A pesquisa foi realizada entre Novembro de 2018 a Março de 2020 e todos os artigos publicados até Março de 2020 foram incluídos. As combinações de palavras-chave incluíram os termos em inglês: Crustacea, Decapoda, Amphipoda, Ostracoda, Copepoda, Isopoda, Branchiopoda, invertebrate, zooplankton, benthos, marine, freshwater, plastic pollution, heavy metal, and organic pollutant. Teses e trabalhos não publicados não foram incluídos. O total de 119 artigos (87 com metodologia descrita) foram incluídos. Os primeiros estudos descrevem métodos que determinam MP em crustáceos, seguido de experimentos em laboratório.

Coordenadas geográficas utilizadas em gráficos e tabelas foram determinadas pelo Google Maps e quando a localidade de estudo não era descrita no artigo, o laboratório de pesquisa era definido como a localidade. Gráficos e mapas foram elaborados com Excel e QGIS 3.4.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Métodos Utilizados para Determinar a Presença de MPs em Crustáceos

3.1.1 Zooplâncton

Apesar do estudo de pequenos resíduos plásticos iniciar em 1970 (CARPENTER et al. 1972), os primeiros artigos sobre contaminação de MP em zooplâncton foram publicados 30 anos depois. Os pioneiros foram Moore et al. (2001, 2002) e Moore (2008). Moore et al. (2002), Lattin et al. (2004), e Moore (2008) correlacionaram a densidade e a massa de resíduos plásticos com amostras de zooplâncton no Giro Subtropical do norte do Pacífico e ao longo da costa da Califórnia (Material suplementar S1). Para amostragem de plástico e plâncton, os autores utilizaram redes de arrasto, fixaram o material e analisaram no microscópio. Alta densidade de MPs foi encontrada, e discussões a respeito das condições (proximidade a costa, giros oceânicos) que poderiam influenciar a concentração de MP foi elaborada.

Desde 2014, o número de artigos analisando MP em zooplâncton vem aumentando. Frias et al. (2014) demonstraram a presença de resíduos nesses organismos nas águas de Portugal. As amostras foram coletadas em quatro diferentes regiões, preservadas em ~4% formaldeído tamponado com bórax e os plásticos foram identificados por micro-FTIR (infravermelho por transformada de Fourier). A detecção e quantificação de MP também pode ser feita pela degradação da matéria orgânica com ácidos, bases ou enzimas. Desforges et al. (2015) avaliou múltiplas digestões químicas para analisar a ingestão de MP por duas espécies de zooplâncton (*Thysanoessa spinifera* e *Neocalanus cristatus*). Os espécimes foram degradados com ácido clorídrico 100% (HCl), 1:1 HCl e ácido nítrico (HNO₃), HNO₃ 100%, peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e 1:1 HCl com H₂O₂, contendo duplicadas, 15 indivíduos e duas condições diferentes (temperatura e duração). A amostra com HNO₃ degradou todos os organismos e os restantes degradaram a amostra em pequenos fragmentos. A mesma técnica foi utilizada por Sun et al. (2017, 2018a, 2018b), em que o material foi fixado com formaldeído 5% e degradado com HNO₃, a 80°C por 3 horas. Apesar da utilização de ácidos, o método pode afetar as propriedades de nylon, polietileno tereftalato (PET) e biopolímeros (acetato, polieteretercetona), fundindo PET e polietileno de alta densidade (HDPE) e digerindo poliamida (PA) (MILLER et al. 2017). Entretanto, este protocolo é útil para analisar MP em amostras com muitos organismos e quando torna-se difícil o acesso ao interior do microcrustáceo.

3.1.2 Crustáceos marinhos bentônicos

O fundo do mar é reconhecido como um dos maiores depósitos de MPs (FANG et al. 2018). Como o zooplâncton, os animais bentônicos também são suscetíveis a ingestão de MPs. Até o momento, não existem estudos que comparem essa ingestão por esses dois grupos, provavelmente devido à dificuldade de amostragem dos diferentes grupos de organismos (WOODALL et al. 2014). Ainda assim, é possível afirmar que plásticos depositados no sedimento estão biodisponíveis para animais bentônicos suspensívoros e detritívoros (VAN CAUWENBERGHE et al. 2015). Courtene-Jones et al. (2019) por exemplo, identificou MPs em invertebrados de mar profundo coletados desde 1976 a 2015, o que indica que os plásticos estão constante fragmentação.

Estudos que investigam contaminação microplástica em crustáceos bentônicos descrevem algumas diferentes técnicas (Material suplementar S2). Alguns analisam amostras sem degradação química como Taylor et al. (2016), que apenas fixou o material (octocorais, lagostas e ermitões) em etanol 70-80%, Andrade e Ovando (2017) fixaram caranguejo *Lithodes santolla* em formaldeído 10% e Goldstein e Goodwin (2013) preservaram cracas (*Lepas* spp.) em formalina 5%, e ainda, Remy et al. (2015) que congelaram anfípodes, decápodes e nebalia a -28°C. Em todos esses estudos citados, o estômago e o sistema digestório foram examinados no microscópio. Remy et al. (2015) montaram lâminas de glicerina para a análise de microplásticos e utilizaram espectrometria Raman para a identificação dos polímeros. Ambas as análises de espectrometria (FTIR e Raman) demonstram vantagens na utilização, por não destruir a amostra, porém Raman fornece melhor resolução espacial, maior cobertura de espectro e maior sensibilidade (ARAUJO et al. 2018). Dependendo da amostra e das características do MP, Raman pode ser mais adequada.

Ácidos, como HCl, HNO₃ e ácido perclórico (HClO₄), bases, como hidróxido de sódio (NaOH) e hidróxido de potássio (KOH), e enzimas (PIARULLI et al. 2009) como proteases são utilizadas para degradar o intestino dos organismos. Enzimas foram usadas em dois estudos, o primeiro (IANNILLI et al. 2018) forneceu a primeira evidência de ingestão de MP por anfípodes em contextos naturais, e Piarulli et al. (2019) testaram a eficiência de dois tipos de degradação enzimática em caranguejos. Os primeiros autores degradaram os tratos digestivos de *Talitrus saltator* com proteinase K, os segundos compararam eficiência de KOH e a combinação de lipase, protease e amilase. Ambos os autores analisaram os polímeros por FTIR. KOH é usualmente utilizado para degradar organismos marinhos, especialmente tecidos

de crustáceos, como observado com decápodes e anfípodes. De acordo com Piarulli et al. (2019), KOH é promissor em termos de efetividade e baixo impacto nos polímeros.

Alguns autores têm coletado diferentes grupos de animais bentônicos e epibentônicos para correlacionar a presença de MPs com o habitat, nível trófico e hábitos alimentares. Bour et al. (2018), coletaram camarões (*Crangon allmanni*) e outros organismos, removeram os tratos digestivos, congelaram a -80°C e degradaram o material com KOH 10% a 50°C. Nesse caso, o camarão demonstrou a maior concentração de MP dentre os outros organismos. Similarmente, J. Wang et al. (2019), estudando diferentes animais bentônicos, encontrou maiores concentrações no tecido de uma espécie de Decapoda (*Oregonia gracilis*) do que nos outros grupos. Os tratos gastrointestinais e tecidos de peixes e moluscos foram dissecados, e outros organismos degradados com H₂O₂ 30% e HNO₃ 65% por dois dias. Avio et al. (2020) analisaram a ingestão de MP por diferentes espécies pelágicas, bentopelágicas e bentônicas, incluindo quatro decápodes. O tecido mole foi dissecado e degradado com H₂O₂ e os crustáceos novamente apresentaram maiores concentrações de MPs. Apesar dos estudos anteriores não observarem um relacionamento da estratégia alimentar com os plásticos, a contaminação por MP em caranguejos pelágicos (*Pleuroncodes planipes*) é corroborada por Choy et al. (2019). Espécies pelágicas movem-se em diferentes profundidades e são mais susceptíveis a ingerirem MPs podendo afetar a cadeia trófica.

Fang et al. (2018) verificaram a presença de MPs em diferentes organismos do Ártico e Subártico. Decápodes *Pandalus borealis* e *Chionoecetes opilio* foram mantidos a -20°C, dissecados e degradados com KOH 10%. O mesmo método foi utilizado por Jamieson et al. (2019) na análise de dois anfípodes lysianassóideos (*Hirondellea* sp. e *Eurythenes gryllus*). Essas espécies foram coletadas em seis dos ecossistemas marinhos mais profundos. Esses dois estudos mencionam poluição microplástica nos organismos, porém é importante ressaltar que os autores não descrevem impactos negativos nos animais. Dessa forma, nós concluímos que apenas a contaminação por microplástico foi observada pelos autores.

Não obstante, a presença de MPs é analisada em crustáceos com relevância econômica, no qual demonstra riscos de contaminação no comércio de frutos do mar e na saúde humana. Camarões *Crangon crangon*, *Aristeus antennatus*, e lagostim *Nephrops norvegicus* são espécies com grande importância econômica e comercial. Encontram-se em águas rasas, estuarinos, bem como ambientes mais profundos (DEVRIESE et al. 2015; CARRERAS-COLOM et al. 2018; CAU et al. 2020). Por habitarem diferentes ambientes, estão expostos a

MPs que vêm das diferentes profundidades da coluna d'água e os que são depositados no sedimento. Hara et al. (2020) testaram a eficácia de diferentes soluções químicas (listados na tabela do material suplementar S2) para degradar o trato digestivo de *N. norvegicus* e verificar o efeito na estrutura de diferentes polímeros encontrados nos organismos. Devriese et al. (2015) degradaram camarões com uma mistura de ácido nítrico e ácido peróxido (HClO₄) a temperaturas de até 90°C por 10 min. Em contraste, Carreras-Colom et al. (2018) e Cau et al. (2020) apenas dissecaram e analisaram o estômago da mesma espécie no microscópio. Existem múltiplas técnicas de quantificação de MPs em decápodes e dessa forma não existe uma metodologia padronizada.

Apesar do termo “cadeia trófica” ser mencionado nos trabalhos de Welden et al. (2018) e Zhang et al. (2019), nenhum deles investigou a transferência de MP diretamente entre níveis tróficos. O caranguejo aranha *Maja squinado* e o peixe *Pleuronectes platessa* foram coletados para comparar a ingestão de MPs e relacionar isso a atividades pesqueiras da região, adicionalmente coletaram outra espécie (*Ammodytes tobianus*) para estabelecer o relacionamento trófico (WELDEN et al. 2018). A carapaça dos crustáceos estava coberta de fibras, proveniente dos materiais de pesca, mas não relacionados aos locais com maiores atividades pesqueiras. Os organismos foram analisados e os MPs estavam em todos os espécimes, com isso os autores inferiram que a contaminação pode ser transferida dos crustáceos para os peixes. Entretanto, antes de uma conclusão, é extremamente necessário o teste para comprovar essa transferência de um organismo ao outro. As relações no ambiente marinho são complexas, sendo assim, é crucial realizar experimentos bem estruturados (sem suposições, incluindo hipóteses testadas).

3.2 Estudos de MPs em Experimentos Laboratoriais

A maioria (aproximadamente 69%) dos estudos de MPs são baseados em testes laboratoriais. Organismos marinhos, de água doce, planctônicos e bentônicos são utilizados nesses experimentos, que incluem testes simples de ingestão, ingestão + análise do animal *in situ*, ingestão + adsorção de poluentes, ingestão + adsorção de poluentes + contaminação a nível trófico. As próximas seções estão organizadas de acordo com os tipos de experimentos com crustáceos marinhos: “Risco de microplásticos aos crustáceos” (Material suplementar S3) e “Risco de sorção de contaminantes a crustáceos e cadeia trófica” (Material suplementar S4).

Em alguns estudos (COLE et al. 2013; LEE et al. 2013), os autores utilizaram plásticos que atualmente são definidos como nanoplásticos (NPs) (1 nm – 1 µm) (GIGAULT et al. 2018).

Esses trabalhos estão citados aqui pois foram publicados antes do estabelecimento da definição de NPs e ao uso adicional de MPs nos experimentos.

3.2.1 Risco de microplásticos aos crustáceos

O primeiro teste de ingestão de MP foi feito por Wilson (1973). Embora tenha sido a primeira detecção da contaminação de plásticos em crustáceos, o autor estava interessado nos mecanismos que copépodes (*Acartia tonsa*) utilizavam na seleção de alimentos. O pesquisador utilizou 5 diferentes tamanhos de *beads* de plástico (pequenos fragmentos, geralmente esféricos), em uma concentração de 3000-4000 *beads* mL⁻¹, com 25 copépodes durante 15 minutos. Os animais foram montados em lâminas com gelatina de glicerina e analisados no microscópio. Os animais não apresentaram preferência ao tamanho das partículas. Ao longo do tempo, alguns estudos similares foram desenvolvidos com copépodes (PAFFNHOFER e SANT 1985; AYUKAI 1987; POWELL e BERRY 1990). Esses trabalhos testam a preferência alimentar de copépodes a uma variedade de partículas, incluindo também bactérias, algas e plásticos. Os experimentos possuem diferentes concentrações de *beads* e condições abióticas que podem influenciar os hábitos alimentares (POWELL e BERRY 1990). Aqui, deixo esse resumo sobre os objetivos gerais dos trabalhos, eles não serão detalhados, pois saem do escopo dessa revisão.

O primeiro teste que investigou a contaminação por ingestão em crustáceos foi feito por Thompson et al. (2004). Os autores coletaram amostras de anfípodes *Orchestia gammarellus* e cracas *Semibalanus balanoides* (incluindo também poliquetas), que foram mantidos em aquários com 1g de fragmentos de MP por vários dias. A ingestão foi analisada com microscópio estereoscópio. Essa pesquisa foi desenvolvida no Reino Unido e foi o estudo pioneiro de ingestão de MPs por crustáceos (Figura 1 e 2), comprovando que os organismos poderiam de fato ingerir pequenas partículas de plástico. O número de estudos envolvendo essa temática aumentou depois de 2013, 9 anos após Thompson. Ugolini et al. (2013) contaminaram *T. saltator* (Amphipoda) com 3 diferentes tamanhos de esferas de PE (polietileno). Os animais foram expostos a comida contaminada por 24 horas, posteriormente essa comida foi substituída por uma descontaminada em períodos de 3, 6, 24, 48 e 168 horas. Os autores testaram o tempo de permanência do MP no trato digestivo (*gut resident time GRT*) dos anfípodes e o possível efeito na sobrevivência. As fezes foram comprovaram a ingestão e eliminação de plásticos pelos organismos. Entretanto, a taxa de sobrevivência não foi afetada. Hämer et al. (2004) alimentaram *Idotea emarginata* (Isopoda) com comida contaminada com *beads*, fragmentos e

fibras. Apesar dos animais apresentarem os MPs nos estômagos, as fezes continham a mesma concentração de MPs que havia na comida, ou seja, os MPs não se acumularam dentro dos isópodes. Além disso, os animais não foram afetados fisiologicamente pelo consumo.

Um resultado similar (BRUCK e FORD 2018) foi apresentado por *Echinogammarus marinus*. Esses anfípodes foram alimentados com macroalga e três diferentes concentrações de MPs (0.9, 9, e 99 MPs g⁻¹) por 35 dias. O grupo com maior quantidade de MP, dos 5 indivíduos de anfípodes, 3 ingeriram os *beads*. Baixas concentrações (0.9 MPs g⁻¹ de 8 µm) não afetaram crescimento, alimentação e muda dos anfípodes durante o tempo do experimento. Contudo, como MPs não contribuíram nutricionalmente e é sugerido que animais que consumiram comida contaminada ingeriram maior volume de alimento.

Para analisar a ingestão de diferentes quantidades de MPs e os efeitos na estratégia alimentar, Sëtälä et al. (2016) alimentaram anfípodes (*Monoporeia affini* e *Gammarus* sp.) e misidáceos (*Neomysis integer* e *Praunus flexuosus*), (e outros não crustáceos) com 5, 50 e 250 *beads* mL⁻¹ em um sistema mesocosmo. Nesse caso, os intestinos e estômagos foram analisados e todos os organismos ingeriram MPs, e os crustáceos apresentaram maiores concentrações de MPs. Os autores afirmam que a atividade natatória dos organismos contribuiu gradualmente para que os microplásticos fossem para dentro e fora do sedimento, facilitando a ingestão por parte dos crustáceos.

Hodson et al. (2018) testaram uma metodologia diferente. Eles utilizaram três tipos de bolsas plásticas (HDPE), uma produzida com “15% de material reciclado”, outra “degradável”, e a última “biodegradável/compostável”. As bolsas foram mantidas 4 dias em aquários para adquirir biofilme. Posteriormente, os plásticos foram expostos aos anfípodes (*O. gammarellus*), e o grupo controle continha plásticos sem biofilme para testar a degradação e fragmentação das bolsas. A ingestão foi analisada pelas fezes e as bolsas foram analisadas para verificar possíveis marcas de mordidas. Apesar dos MPs não estarem nas fezes dos animais, foram encontrados

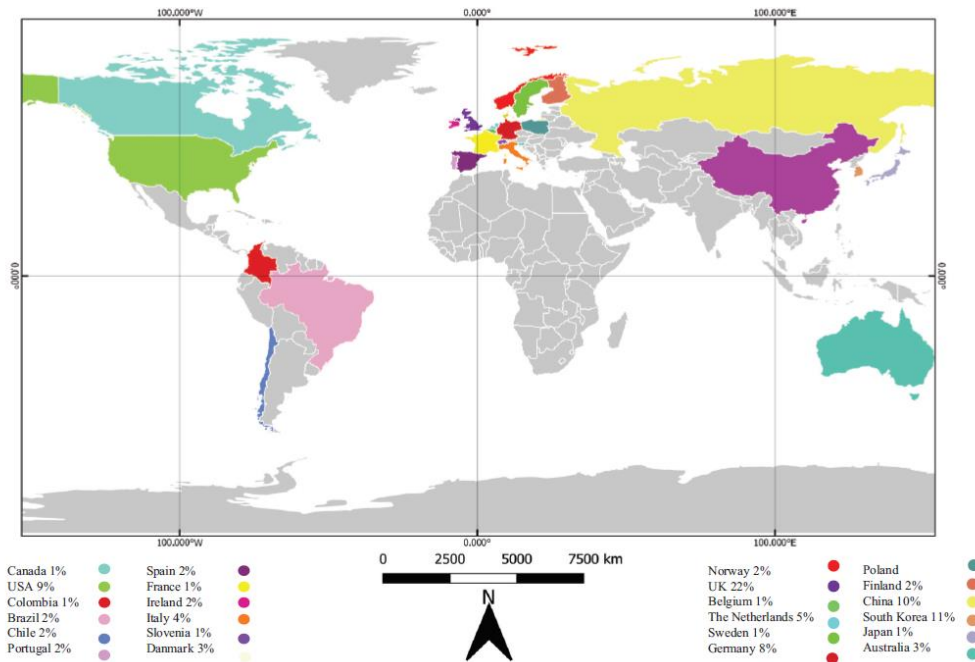


Figura II 1. Estudos da contaminação de microplásticos (MP) em crustáceos no mundo.

no interior dos aquários, marcas de mordidas nas bolsas plásticas. Resíduos plásticos que também apresentaram marcas de mordidas foram ingeridas pela lagosta *Homarus americanus* (POTOCKA et al. 2019). Os animais tiveram elásticos plásticos nas garras por 16 dias e ingeriram partículas ativamente.

Watts et al. (2014) expôs *Carcinus maenas* a microesferas de plástico para determinar possíveis captações de MPs pelas brânquias e ingestão por alimento pré-exposto a contaminação (no caso, o alimento era carne de mexilhão *Mytilus edulis*). Os autores mencionam contaminação por níveis tróficos, mas o mexilhão não ingeriu o plástico, a carne foi utilizada como alimento misturada com partículas de MP. Foram utilizadas microesferas de PS (8 – 10 µm) e Raman para detectá-los. Os animais mantiveram os MPs nos tecidos por 14 dias e inalaram partículas depois de 21 dias, nenhum MP foi encontrado na hemolinfa. Análises bioquímicas e celulares foram feitas com craca (*Amphibalanus amphitrite*) e *Artemia franciscana*, que após ingerirem MPs tiveram sucesso reprodutivo (PEIXOTO et al. 2019), atividades natatórias e correspondentes alterações enzimáticas (GAMBARDELLA et al. 2017). Após a exposição experimental de 48 horas, a ingestão de MPs gerou efeitos neurotóxicos e estresse oxidativo. Wang et al. (2019a, 2019b) também usaram *Artemia parthenogenetica* para investigar alterações na sobrevivência, crescimento e desenvolvimento de adultos e juvenis. Após 14 dias de exposição a altas concentrações de PS, a sobrevivência não foi afetada, mas os animais apresentaram microvilosidades desorganizadas, aumento no número de

mitocôndrias e aparecimento de autofagossomos, que são prejudiciais para *A. parthenogenetica*, especialmente para larvas.

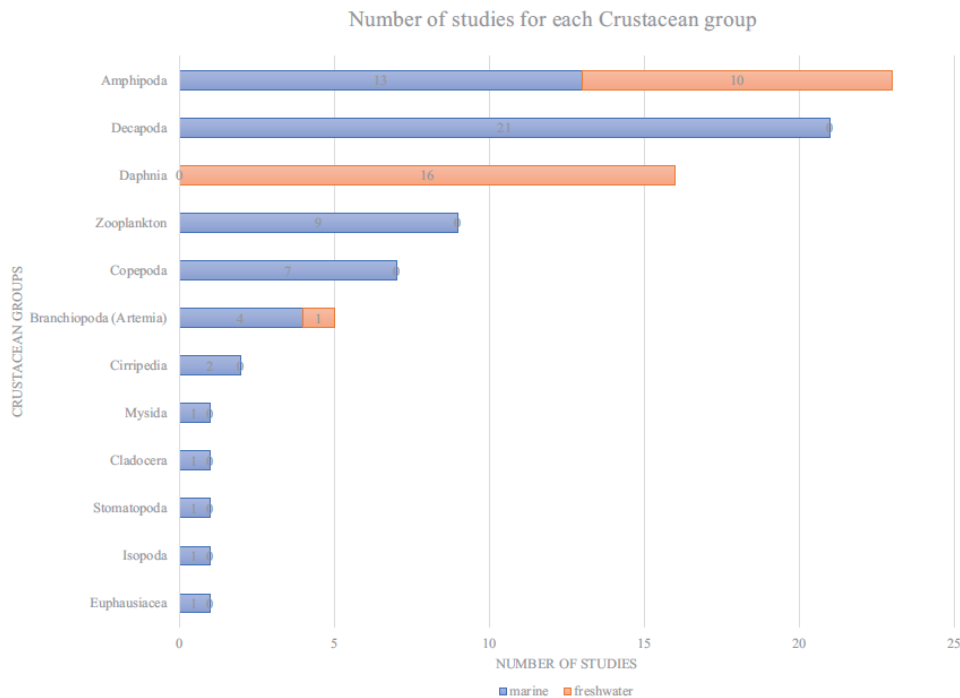


Figura II 2. Gráfico de estudos de contaminação de microplásticos em crustáceos aquáticos.

A maioria dos artigos mencionados utilizaram zooplâncton (grande parte copépodes). Esses pequenos crustáceos são mais fáceis para manipular em condições controladas (SÁ et al. 2018). Adicionalmente, eles são consumidores primários e estão em contato com polímeros mais leves. Cole et al. (2013, 2015) e Lee et al. (2013) observaram efeitos da ingestão de diferentes tamanhos e concentrações de MPs na alimentação, sobrevivência, desenvolvimento e fecundidade de animais. Eles verificaram a diminuição na alimentação (ingestão de algas) em *Centropages typicus* e diminuição na taxa de sobrevivência e fecundidade do copépodes *Calanus helgolandicus* e *Trigriopus japonicus* quando expostos a PS (SÁ et al. 2018). Cole et al. (2016) utilizaram MPs fecais de *C. helgolandicus* para determinar se poderiam ser vetores de contaminação, se poderiam alterar as propriedades e taxas de afundamento do MP e assim facilitar a transferência de MP para a biota coprófaga. Os organismos foram expostos a 20,6 µm PS por 18 horas. A ingestão de afetou significativamente a integridade estrutural, densidade e a deposição de MPs fecais, indicando que os polímeros poderiam alcançar áreas mais profundas, e poderiam ser ingeridos por coprófagos (como consumido por outro copépode *C. typicus*). Outra espécie, *Calanus finmarchicus*, foi usada em um experimento para investigar o impacto da exposição a MP na alimentação, acúmulo de lipídios, crescimento e ecdise (COLE et al. 2019). As análises foram feitas pelas fezes dos animais, pelo crescimento do prossomo,

cromatografia de gás (CG) para a massa lipídica e processo de ecdise por características morfológicas. Foi observado a diminuição de 40% na ingestão de algas quando MP estava presente, sem alteração significativa para lipídios e ecdise. Cole et al. (2013) também utilizaram copépodes, decápodes e eufasiáceos para analisar a ingestão, a análise foi realizada por microscópio de luz invertida com fluorescência e espalhamento Raman. Os resultados mostram que os MPs foram acumulados em vários segmentos do corpo como antenulas, urossomo e carapaça. Vroom et al. (2017) na análise de outras espécies de crustáceos, afirmaram que MPs com biofilmes na água marinha podem ser ingeridos preferencialmente ao invés de MP puro. Alterações nas propriedades biológicas, físicas e químicas dos polímeros facilitam a translocação para várias profundidades da água e a ingestão por todos os grupos de animais.

Segundo Welden e Cowie (2016a) e observado nessa revisão, apenas uma pequena porcentagem (cerca de 27%) das pesquisas verificam retenção de MP em organismos direto da natureza. Alguns autores sugerem que o nível de MP ingerido em laboratório corrobora a retenção em contextos naturais. Porém, acreditamos que seja importante que ambas as abordagens (experimentos em laboratório e direto da natureza) sejam relacionadas. Nesse princípio, algumas poucas pesquisas descrevem contaminação de MP em organismos de testes *in vivo* e *in vitro*. O primeiro teste foi realizado com decápodes (*N. norvegicus*), onde 83% de 120 animais do ambiente continham MP, adicionado a 60% de ingestão em laboratório. Nesse estudo, foi indicado que alguns filamentos de plástico não foram eliminados pelo animal, ou seja, foram bioacumulados.

Welden e Cowie (2016a) expuseram as mesmas espécies a diferentes níveis de MP para entender o impacto do MP no processo de ecdise e comprimento da carapaça. O experimento foi baseado em 10 fêmeas com ecdises recentes, todas em tanques individuais, alimentadas com polipropileno (5 de 0,5 mm) e carne de lula (0,5 g) por um mês e a muda foi induzida por ablação ocular bilateral. Exceto para o controle do tratamento do experimento, os pesquisadores coletaram os indivíduos separadamente para analisar a existência de ingestão de MP. Dos 1450 animais analisados, 975 (67%) continham MPs, predominantemente fibras. A conclusão notável é que os organismos com muda recente tendem a ter concentrações mais baixas de plástico do que organismos sem muda recente. Os autores afirmam que os machos fazem muda com mais frequência e, conseqüentemente possuem trato digestivos maiores, e assim as fêmeas podem acumular mais MPs no corpo. Estudos futuros sobre ecdise podem aumentar nosso conhecimento quanto a contaminação e acúmulo de MP. No mesmo ano, um

estudo com a mesma espécie (WELDEN e COWIE 2016b), os crustáceos mostraram variação na média da massa corporal de -0,0189% ao dia. A presença de plástico na comida induziu falsa satisfação nutricional, reduzindo o crescimento do corpo.

Carrasco et al. (2019) descreveram um resultado diferente quando contaminaram anfípodes (*Orchestoidea tuberculata*) com 0%, 5% e 10% de MPs no alimento. A taxa de crescimento não foi afetada pela absorção de plástico. No entanto, os espécimes consumiram significativamente menos comida quando a concentração de MPs foi de 10% do que quando foi de 0% e 5%. Como os anfípodes foram mantidos por 15 dias, um período mais longo de experimentação poderia resultar em uma diferença mais significativa no crescimento corporal. Cole et al. (2014) investigaram diferentes protocolos de digestão com digestão ácida (HCl), alcalina (NaOH) e enzimática (proteínase-K), e extraíram MPs ingeridos pelo zooplâncton *Temora longicornis*. O tratamento com proteínase-K digeriu 97% das amostras, significativamente mais do que outros tratamentos. Das 18 amostras expostas a esferas fluorescentes de PS (100 mL^{-1}) durante a noite, 11 indivíduos (77%) foram contaminados pela ingestão.

Duas novas contribuições relevantes para a pesquisa de MP em crustáceos são de Dawson et al. (2018) e Cau et al. (2020), que observaram a fragmentação de MP em fragmentos menores por meio da ingestão de animais. Dawson et al. (2018) documentaram a fragmentação de microesferas fluorescentes de PE em partículas menores por krill antártico (*Euphausia superba*). Os animais foram expostos a duas concentrações de alimentos com MPs e algas por 4 dias. Foram analisados os MPs ingeridos e excretados nas fezes, sendo 78% e 94% menores, respectivamente, que o diâmetro original. Os autores usaram um microscópio fluorescente para avaliar onde os MPs estavam localizados no corpo das eufáceas e degradaram o animal com digestão enzimática. Notavelmente, a digestão da enzima não afetou o formato do plástico, e a ingestão do MP causou a redução do tamanho. Mais evidências de degradação de MP por meio da alimentação foram demonstradas em lagostins selvagens *N. norvegicus* (CAU et al. 2020). O estômago e o intestino foram dissecados, os MPs extraídos com separação por densidade e posteriormente filtrados. MPs foram encontrados em todos os animais, e sete espécimes apresentavam os mesmos MPs no estômago e intestino, com diminuição de tamanho de um órgão para o outro. A partir desses resultados, é possível inferir que os plásticos se degradaram em fragmentos menores por meio do aparelho digestivo do animal. Como os autores citaram, esta é a primeira evidência da fragmentação das MPs por lagostins de águas

profundas. Novos estudos sobre o tema merecem atenção especial, pois o plástico pode ser reintroduzido na biota após ser excretado e representar um grande risco ao meio ambiente.

3.2.2 Risco de sorção de contaminantes aos crustáceos e cadeia trófica

Existem vários tipos de investigações utilizando crustáceos na passagem de MPs pela cadeia alimentar. O primeiro experimento testou a transferência trófica de MPs de mexilhões (*M. edulis*) para caranguejos (*C. maenas*) (FARRELL e NELSON 2013). Os autores usaram microesferas de PS para contaminar os animais em intervalos de até 21 dias, e os microplásticos foram encontrados nos órgãos e hemolinfa. Setälä et al. (2016) testaram duas abordagens, a ingestão experimental de microesferas por 12 espécies de zooplâncton e a transferência de MPs através da teia alimentar planctônica por predadores misídeos e copépodes. No primeiro experimento, todos os grupos ingeriram os MPs e, conforme previsto, os MPs bioacumularam em níveis tróficos entre o mesozooplâncton e o macrozooplâncton. Tosetto et al. (2016b) utilizaram o anfípode *Platorchestia smithi* para testar mudanças de comportamento e a passagem da contaminação de MP no nível superior trófico. *Bathygobius krefftii* foi alimentado com uma pipeta para garantir que os anfípodos contaminados tenham sido ingeridos pelos peixes. Não foi observado nenhum comportamento alterado nos peixes. Outra área de pesquisa é a análise da persistência de partículas de MP no animal após a passagem trófica. Santana et al. (2017) expuseram o mexilhão *Perna perna* a muitas partículas de policloreto de vinila (PVC) ao longo de 3 h. O caranguejo *Callinectes ornatu* (e uma espécie de peixe) foi exposto a este mexilhão contaminado por 10 dias sem restrição. Após esse tempo de exposição aos mexilhões contaminados com PVC, os animais foram expostos a alimentos não contaminados (peixes ou camarões) para verificar a presença de partículas persistentes de PVC. Os autores analisaram os tecidos e a transferência das MPs pela cadeia trófica, mas não foi observada persistência das partículas.

De acordo com Yu et al. (2019), a pesquisa sobre a adsorção de MPs cresceu exponencialmente devido ao alto potencial do MP para adsorção de poluentes orgânicos e metais pesados. Aditivos químicos, como ftalatos e éteres difenílicos polibromados (PBDE), nonilfenol, que são incluídos na produção de plásticos para fornecer características específicas, foram incluídos nesta abordagem de adsorção. Chua et al. (2014) e Scopetani et al. (2018) utilizaram os congêneres do PBDE para investigar se a presença de MPs poderia influenciar na captação desse poluente. Primeiro, eles expuseram os anfípodos *Allorchestes compressa* a uma solução de adição (PBDE em etanol) na presença e ausência de 0,1 g de PE de cosméticos ao

longo de 72 h. Após o protocolo de extração, as amostras foram analisadas com CG. Foi observado que os MPs inibiram a biodisponibilidade dos PBDEs devido à intensa capacidade de sorção do PE. Em um estudo incluindo microtomografia de raios-X de MPs ingeridos, foi demonstrado em *T. saltator* que os MPs de PE podem transferir e remover contaminantes pela ingestão de MP (SCOPETANI et al. 2018). Essa análise é notável pelo uso da microtomografia. No entanto, os resultados foram ambíguos e os MPs não foram claramente indicados na imagem. Em um estudo de Tosetto et al. (2016a), uma espécie de Amphipoda (*P. smithi*) foi contaminada com um dos poluentes orgânicos mais difundidos no meio ambiente, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), com a adição de uma microesfera de PE. O poluente orgânico foi adsorvido em MPs no ambiente marinho (mais de 2 meses no Porto de Sydney). Diferentes tipos de PAHs têm sido estudados, incluindo fenantreno e benzofenona. Brennecke et al. (2015) expuseram de forma semelhante pellets de PS no ambiente, alimentaram espécimes de *Uca rapax* com os MPs expostos por 2 meses. Foi observada a ingestão de MPs e a translocação das partículas para diferentes órgãos (hepatopâncreas, brânquias e estômago), mas nenhuma função foi alterada. Benzofenona-3 foi adicionado em PE e exposto a diferentes grupos de zooplâncton (BEIRAS et al. 2018), que embora os animais tenham ingerido os plásticos, esta contaminação não apresentou impactos significativos nas amostras, e, portanto, não pode ser considerada poluição.

3.3 Crustáceos de Água Doce

Conforme discutido em Au et al. (2015), a maioria dos estudos foca na presença de MPs em ambientes marinhos. A presença de MPs em ecossistemas terrestres e de água doce só foi reconhecida recentemente (e.g. REDONDO-HASSELERHARM et al. 2018a), e sabemos que a maior parte dessa contaminação se origina de fontes de água doce (principalmente de canais de drenagem). Redondo-Hasselerharm et al. (2018a) expuseram o anfípode *Hyaella Azteca* (Material Suplementar S5) a fibras e partículas de polietileno ao longo de 10, 28 e 42 dias para examinar o efeito da exposição na mortalidade, crescimento e ingestão de MP dos animais. As fibras eram mais tóxicas que as partículas, possivelmente devido à resistência no intestino, e ambas as formas de MPs impactaram o crescimento e a reprodução dos animais. A massa corporal de *Gammarus fossarum* (Amphipoda) também foi alterada com a ingestão de MP (BLARER e BURKHARDT-HOLM 2016; STRAUB et al. 2017). Os animais também foram expostos ao PS na forma de fibras e partículas (BLARER e BURKHARDT-HOLM 2016). Além disso, Straub et al. (2017) alimentaram anfípodas com biodegradável bioMP

(polihidroxibutirato) e MP à base de petróleo (polimetilmetacrilato, PMMA). Em ambos os estudos, os animais tenderam a perder peso devido à redução da ingestão alimentar.

Em experimentos semelhantes, indivíduos de *Gammarus pulex* e *Daphnia magna* foram expostos a quatro concentrações de MPs de garrafa PET ao longo de 24 horas para avaliar a absorção de MP. As amostras foram então expostas a cinco grupos de exposição crônica (WEBER et al. 2018), e algumas amostras selecionadas foram alimentadas com esferas fluorescentes de PS (SCHERER et al. 2017). Após o período de ingestão, foram analisados o peso úmido, as reservas de energia, ecdise e a mortalidade. Os juvenis ingeriram mais MPs do que os adultos, e a sobrevivência, desenvolvimento, metabolismo e atividade alimentar não foram afetados pela contaminação por MPs. Scherer et al. (2017) apontaram que o tamanho da partícula ingerida é dependente do tamanho do animal, principalmente durante o desenvolvimento. Outro estudo descobriu que a taxa de alimentação de *G. pulex* e *H. azteca* também não foi afetada (Redondo-Hasselerharm et al. 2018a). Essas duas espécies de anfípodes e um isópode (*Asellus aquaticus*), entre outros organismos, foram contaminados com diferentes concentrações de PS para investigar qualquer alteração na mortalidade e no crescimento. Os MPs foram misturados com sedimentos de 0% a 40% do peso seco de plástico (dw) por 28 dias. A ingestão de MPs não afetou a atividade alimentar nem a sobrevivência. Os mesmos resultados foram observados com micropartículas de pneu de carro (REDONDO-HASSELERHARM et al. 2018b) e na exposição da planta aquática *Lemna minor* ao PE e depois a *Gammarus duebeni* (MATEOS-CÁRDENAS et al. 2019). Neste último trabalho, embora a ausência de efeitos na mortalidade e mobilidade dos anfípodes ao longo das 48 h, *L. minor* conseguiu adsorver o PE, tornando-o potencialmente disponível para a cadeia trófica. As micropartículas do pneu de carro são originadas da borracha, que às vezes não é reconhecida como plástico (WAGNER et al. 2018). No entanto, para os fins desta revisão, consideramos borracha como plástico, conforme é categorizada por alguns autores (VERSCHOOR, 2015). Uma análise toxicológica aguda e de longo prazo foi testada usando partículas de desgaste de pneus de carro (TWP). Em longo prazo (altas concentrações de exposição (500-2000 partículas mL⁻¹) ao longo de 21 dias), foram observados impactos na mortalidade, produção reprodutiva (produção neonatal) de *H. azteca* (KHAN et al. 2019).

Dois processos experimentais foram utilizados por Batel et al. (2016). Primeiro, os náuplios de *Artemia* foram expostos a diferentes tamanhos de MPs por até 24 horas. Esses animais foram então oferecidos ao peixe-zebra (*Dario renio*) e posteriormente, foi adicionado benzo[a]pireno (BaP). O *Artemia* ingeriu o MP e foi contaminado pelo BaP. Além disso, o MP

e o poluente nocivo foram transferidos através da cadeia trófica por espécies de crustáceos e peixes. Uma observação notável é que o *Artemia* pode armazenar substâncias hidrofóbicas no sistema intracelular, indicando que eles incorporaram BaP que foi adsorvido nos MPs. Embora este seja um caso de extrema contaminação, o polímero adsorveu o poluente e serviu como vetor de poluentes químicos.

Daphnia magna é frequentemente utilizada em testes de contaminação porque é um organismo padrão bem descrito em estudos ecotoxicológicos. É também um filtrador passivo e, portanto, particularmente suscetível à exposição a partículas (OGONOWSKI et al. 2016). Por se tratar de uma espécie bem documentada e alguns métodos e resultados semelhantes, os trabalhos serão discutidos coletivamente e menos detalhados para evitar repetições. Os autores que testam a ingestão e os efeitos de MPs e NPs observaram resultados muito semelhantes. PE e PS, micro e nanoplásticos foram expostos a *D. magna* ao longo de 14 (MA et al. 2016) e 21 dias (RIST et al. 2017; PACHECO et al. 2018). As consequências da ingestão de MP incluíram uma diminuição nas taxas de alimentação e um aumento na mortalidade. Os efeitos dos NPs foram piores, incluindo maior adsorção de fenantreno em NPs, maior bioacumulação nas amostras, aumento na mortalidade de adultos, no número de ovos abortados, e diminuição do número de descendentes. Comparando as partículas com base nesses testes e espécies, os NPs são potencialmente mais perigosos. É importante notar que a presença de fenantreno e partículas de plástico podem contaminar ainda mais espécies do que apenas o plástico. Como também mostrado por Ma et al. (2016) e Frydkjær et al. (2017), PE adsorveu menos [¹⁴C] fenantreno do que os organismos *Saccharomyces cerevisiae*, *Vibrio fischeri* e *D. magna*.

Alguns autores utilizaram diferentes tipos de MPs e polímeros para investigar a exposição de animais. Jaikumar et al. (2019) alimentaram *D. magna*, *D. pulex* e *Ceriodaphnia dubia* com partículas puras (PMP) e intemperizadas artificialmente (SMP). Ogonowski et al. (2016) fizeram o mesmo com *D. magna*, e Imhof et al. (2017) usaram uma mistura de vários polímeros. Os primeiros dois estudos observaram mortalidade elevada, um período inter-ninhada aumentado e reprodução diminuída com exposição a SMP. Efeitos espécie-específica também foram observados, sendo *C. dubia* a espécie mais sensível e *D. magna* a menos sensível. O último estudo demonstrou que a mortalidade, morfologia (comprimento do corpo, largura e comprimento da coluna da cauda) e parâmetros reprodutivos não foram alterados, mas em adultos, houve alteração da expressão de genes relacionados às respostas de estresse à contaminação por MP. A exposição a 25, 50 e 100 mg L⁻¹ PE ao longo de 21 dias não afetou a sobrevivência e reprodução das espécies por ingestão de MP (CANNIFF e HOANG 2018).

Também expostos ao longo de 21 dias a PS, os indivíduos demonstraram inesperadamente aumento do tamanho corporal e da atividade de natação (DE FELICE et al. 2019). Em contraste, *D. magna* mostrou imobilização após a ingestão de partículas de PE (REHSE et al. 2016), aumento da mortalidade com a ingestão de microfibras PET (JEMEC et al. 2016) e ingestão de PS após 7 e 21 dias (ALJAIBACHI e CALLAGHAN 2018; BOSKER et al. 2019). Além disso, Rehse et al. (2018) não observaram efeitos negativos da ingestão de PA, embora a combinação de Bisfenol A (BPA) e PA levasse à diminuição da imobilização. Isso foi demonstrado por Horton et al. (2018), em que os animais não foram afetados pelas esferas de PS. Embora houvesse consequências negativas na sobrevivência e mobilidade decorrentes à exposição a dois pesticidas (dimetoato e deltametrina), o PS não atuou como vetor de poluentes. Infelizmente, esses resultados não são comparáveis devido a condições experimentais variáveis (duração, diferentes tipos de contaminação e quantidades de MPs e poluentes).

Os próximos dois artigos discutidos (KRATINA et al. 2019; SHCHAPOVA et al. 2019) exploraram abordagens e metodologias relativamente novas. O primeiro artigo estudou o impacto da exposição combinada de MP e aquecimento no metabolismo e na alimentação, e na injeção de partículas na hemolinfa. *Gammarus pulex* foi exposto a várias concentrações de MPs em diferentes temperaturas (9, 15 e 19 ° C). Como esperado, a temperatura modificou o metabolismo (respiração) e a taxa de alimentação. Foi observado que em condições mais quentes, os efeitos dos MPs ingeridos foram maiores do que em temperaturas mais frias. Embora os processos de resposta fisiológica exijam estudos adicionais, este trabalho demonstra que as mudanças climáticas podem potencializar os impactos negativos dos MPs nos organismos.

A ferramenta implantável em crustáceos é uma técnica pouco explorada. Um estudo usando um conjugado de microcápsulas (PAH/PSS)6/PLL-g-PEG (poli(cloridrato de alilamina), poli(4-estirenosulfonato de sódio) e copolímero de poli(L-lisina)-enxerto de poli(etilenoglicol)) em crustáceos foi conduzido por Shchapova et al. (2019). Como o glicol PE interfere nas funções do sistema circulatório, eles injetaram essas microcápsulas no vaso da hemolinfa central do Amphipoda *Eulimnogammarus verrucosus* entre o sexto e o sétimo segmentos do péron. Os autores observaram uma diminuição das MPs já na primeira semana, e a maior concentração de microcápsulas estava na cabeça, nos três primeiros segmentos e no urossomo. Embora este estudo não tenha mostrado toxicidade, as células dos anfípodas reconheceram as cápsulas como corpos estranhos e tentaram isolá-las por 12 horas. Esta

pesquisa apresenta uma nova técnica nesta área e pode ser um método promissor para futuros testes toxicológicos, não só para MPs, mas também para outros tipos de contaminação.

A resposta dos crustáceos a MPs e a contaminação da poluição orgânica é regularmente explorada, mas há pesquisas limitadas sobre a adsorção de metais pesados (BRENNECKE et al. 2016). Um estudo que explorou esse tópico foi realizado por Kim et al. (2017). Eles utilizaram o níquel (Ni) como contaminante e dois tipos de polímeros (um com grupo carboxila (PS-COOH) e outro ausente (PS)) aos quais expuseram *D. magna*. Eles propuseram que o cátion de níquel seria mais adsorvido no polímero com PS-COOH. No entanto, a diferença entre a adsorção desses dois polímeros não foi significativa, o que pode ser explicado pela disfunção da adsorção do Ni. Consequentemente, maior investigação é necessária para explorar os mecanismos potenciais de toxicidade.

4. CONCLUSÃO

Atualmente, são publicados regularmente estudos sobre o acúmulo de MP e a adsorção de poluentes em crustáceos. Esta revisão busca identificar as técnicas e metodologias utilizadas nesta área até o momento. Acreditamos que os autores devam estar atentos à sobreposição de alguns artigos, principalmente no que diz respeito a experimentos em laboratório. Muitos estudos descrevem o mesmo tipo de teste e induzem um tratamento extrapolado, que não simula um possível cenário da vida real. Atualmente, a maioria dos estudos investigou crustáceos marinhos (devido à maior diversidade e abundância no ambiente marinho e à manutenção experimental dos organismos), enquanto os crustáceos de água doce têm recebido substancialmente menos atenção. A maioria dos trabalhos de água doce estudou *Daphnia magna* e anfípodas (Fig. 2). Muitas pesquisas de água doce têm se concentrado na alteração da taxa de alimentação, que é uma análise muito direta e, portanto, não tão difícil quanto outras abordagens, como estudos em animais de água doce *in situ*, ou efeitos da poluição orgânica e metálica e na cadeia trófica, ou abordagens atuais que estendam o tempo de experimentos. Espécies aparentemente não afetadas pelos MPs devem-se possivelmente pelas características de exposição, como forma de partícula, dose ou tempo e, especialmente, à ecologia trófica das espécies estudadas (MATEOS-CÁRDENAS et al. 2019).

Alguns estudos analisaram apenas a contaminação por metal em crustáceos e outros grupos (UGOLINI et al. 2012; RIVERA-HERNÁNDEZ et al. 2019), mas há poucos estudos que se concentraram especificamente na adsorção de metais em MP. Há muito espaço para pesquisa, pois o metal se associa de forma diferente nos polímeros quando comparado a POPs

(poluentes orgânicos persistentes). Em contraste com os poluentes orgânicos, o acúmulo de metais em MPs não está relacionado ao tipo de polímero, que está ligado à formação de biofilme em ambientes aquáticos (BOGUSZ e OLESZCZUK 2017). A lacuna na adsorção do metal não reflete a realidade como, por exemplo, Hodson et al. (2017) propôs que os MPs são uma fonte potencial de metais pesados para os animais. Assim, sugerimos um maior enfoque em sua metodologia para entender mais sobre os efeitos da MP, metal e contaminação orgânica nos crustáceos.

Concluimos que os estudos com abordagens conectadas são ausentes. O atual corpo de trabalhos descreve os efeitos da contaminação apenas nas populações, mas não inclui consequências nas comunidades de animais (BROWNE et al. 2015; ROCHMAN et al. 2016; BUCCI et al. 2020). No momento, temos informações potenciais sobre a ingestão de MP e existem alguns estudos que consideram diferentes níveis tróficos (KATSANEVAKIS et al. 2007). Ainda assim, são escassos os insights sobre as eventuais consequências relacionadas à transferência trófica ou consequências no nível da comunidade. Sugerimos que estudos futuros se concentrem na conectividade de efeitos em níveis ecológicos mais elevados. Por exemplo, como a quantidade de plástico no ambiente afeta a biomassa ou a diversidade de organismos, ou os efeitos das áreas de barlavento e sotavento na presença de MPs e uma assembleia de organismos. De acordo com Browne et al. (2015), relacionar impactos de níveis inferiores a superiores pode fornecer informações relevantes sobre as alterações nas estruturas ecológicas (cadeia trófica, competição e predação), e em serviços sociais, como manutenção da qualidade da água, ciclagem biogeoquímica e produção de comida descontaminadas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências estão listadas no artigo publicado em anexo.

6. ANEXO

Artigo publicado na Environmental Review e material suplementar

A review of current approaches for the study of microplastic contamination in crustaceans

Rayane Sorrentino and André R. Senna

Abstract: Microplastics (MPs) are ubiquitous in marine environment, and a growing body of evidence suggests that they pose a threat to marine ecosystems. The ingestion of MPs causes a false sense of satiation and decline in nutritional status. After animal ingestion, MPs fragment into nanoplastics, returning to the environment through egestion and thereby becoming vectors of contaminant exposure (organic and inorganic) into marine food webs. Crustacea is one invertebrate group frequently investigated in studies of MP ingestion. Through a critical review of the current literature, we provide an overview of techniques utilized in research on the contamination of MPs on members of the Crustacea subphylum and thereby identify methodological limitations and future research needs.

Key words: Crustacea, methodology, marine animals, freshwater, microplastic.

Résumé : Les microplastiques (MP) sont omniprésents dans l'environnement marin, et un nombre croissant de preuves suggère qu'ils constituent une menace pour les écosystèmes marins. L'ingestion de MP provoque une fausse sensation de satiété et une baisse de l'état nutritionnel. Après avoir été ingérés par des animaux, les MP se fragmentent en nanoplastiques, retournent dans l'environnement par expulsion et deviennent ainsi des vecteurs d'exposition aux contaminants (organiques et inorganiques) dans les réseaux alimentaires marins. Les crustacés sont un groupe d'invertébrés fréquemment étudié dans le cadre d'études sur l'ingestion de MP. Grâce à un examen critique de la littérature actuelle, les auteurs fournissent un aperçu des techniques utilisées dans la recherche sur la contamination par les MP sur les membres du sous-phylum des crustacés et identifient ainsi les limites méthodologiques et les besoins futurs en matière de recherche. [Traduit par la Rédaction]

Mots-clés : crustacés, méthodologie, animaux marins, eau douce, microplastique.

Introduction

With our dependence on plastics increasing since their commercial development in the 1930s and 1940s (Jambeck et al. 2015), they have become an essential part of modern human lifestyle (Devriese et al. 2015). Today, the mismanagement of plastic waste is a global threat to the natural environment as this litter is found throughout all of Earth's ecosystems (Frias and Nash 2019; Provencher et al. 2019). Due to their hydrocarbon composition, plastics are not biodegradable and therefore accumulate in landfills and in natural habitats (Geyer et al. 2017). Although many studies have attempted to quantify the plastic deposition in ocean sediment (e.g., Brandon et al. 2019), it is challenging to estimate reliably because of continuous plastic fragmentation, the wind-driven mixing of surface water, and subsequent sinking as smaller pieces (Courteney-Jones et al. 2019). One of the most documented synthetic particles in the environment is microplastic (MP) (1 μm –5 mm) (Frias and Nash 2019). It has been shown that MPs accrued within the atmosphere accumulate on building rooftops and in snow from remote regions such as the Arctic (Bergmann et al. 2019; Gasperi et al. 2018).

According to Nizzetto et al. (2016), the density of MP polymers can range from 16 kg m⁻³ as expanded polystyrene (PS) to 2200 kg m⁻³ as polytetrafluoroethylene (Supplementary Table S1¹). As a result, they can sink to great depths in fresh- and saltwater bodies, even within the hadal zone (sea zone greater than 6000 m depth) (Peng et al. 2018). Ziccardi et al. (2016) report that weathering and the development of biofilms on the plastic particles affect particle density, and thereby their buoyancy and fate within aquatic systems. Factors such as wind and currents also serve to increase the expansion of these contaminants within the aquatic environment (Critchell and Lambrechts 2016). Aquatic biotas are intensely vulnerable to MP ingestion and contamination because of MP ubiquity and the different factors that cause its buoyancy and sinking. The distribution of MPs in the water column not only is influenced by their density and aggregation/biofouling formation, but also by water temperature, salinity, and many other physical factors (Courteney-Jones et al. 2019). Choy et al. (2019) reported that the greatest concentration of MPs in the Monterey Bay pelagic ecosystem was between 200 and 600 m⁻¹, demonstrating that MPs occur at different depths and negatively impact both the pelagic and benthic food webs (Avio et al. 2020). The number of organisms reported to be susceptible to this plastic pollution is continually

Received 24 March 2020. Accepted 8 September 2020.

R. Sorrentino. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Pós-Graduação em Biologia Animal, Rodovia BR 465 - Km7, Seropédica, RJ, Brasil; School of Biological, Earth and Environmental Sciences, University of New South Wales, Sydney, New South Wales 2052, Australia.

A.R. Senna. Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Faculdade de Formação de Professores (FFP), Departamento de Ciências (DCIEN). Rua Dr. Francisco Portela, 1470, Patronato, São Gonçalo, RJ, Brasil.

Corresponding author: Rayane Sorrentino (email: rayanesorrentino@gmail.com).

Copyright remains with the author(s) or their institution(s). Permission for reuse (free in most cases) can be obtained from copyright.com.

¹Supplementary data are available with the article at <https://doi.org/10.1139/er-2020-0024>.

increasing (Ziccardi et al. 2016). It is now understood that all levels of the food chain have been affected by MP uptake (Wright and Kelly 2017). Redondo-Hasselerharm et al. (2018a) have suggested that uptake susceptibility could be species specific.

In addition to the physical ingestion of MPs in natural environments, the ingestion of MPs has also been observed experimentally. According to Welden and Cowie (2016a), many invertebrate surveys are performed in the laboratory. Some studies join the natural uptake with experimental tests using multiple MP concentrations (Murray and Cowie 2011), while others analyze the ingestion of particles with organic pollutants (Chua et al. 2014) and metals adsorbed, or the transfer of these ingested MPs through the trophic chain (Batel et al. 2016; Tosetto et al. 2016b). Notably, most works investigate the contamination in specific species, without investigating effects on assemblages of organisms (Browne et al. 2015). Moreover, many papers mentioned in this review use contamination and pollution interchangeably when they can and should be distinguished from each other, as proposed by Underwood et al. (2017). When the contamination of a specific chemical alters ecological assemblages and populations, it is considered pollution; otherwise, it is only a contaminant.

Among the invertebrates, crustaceans are most commonly studied (Sá et al. 2018), and a range of different MP analyses have employed these organisms. In response to the lack of methodological uniformity and critical evaluation of this current research, we compiled the different MP analytical strategies utilizing crustaceans, including within marine, freshwater, and terrestrial ecosystems, and description of contamination in laboratory experiments.

Approach

This literature review was conducted using Google Academic and Scholar and several online databases, including Web of Science, ScienceDirect, PubMed, and Research Gate. The literature review was conducted from November 2018 to March 2020 and all published articles from 1970 until March 2020 were included for this review. The search terms were combinations of the following keywords: microplastic, Crustacea, Decapoda, Amphipoda, Ostracoda, Copepoda, Isopoda, Branchiopoda, invertebrate, zooplankton, benthos, marine, freshwater, plastic pollution, heavy metal, and organic pollutant. Theses and unpublished works were not considered. A total of 119 research articles (87 with described methodology) were included. The first studies describe methods to determine MPs in crustaceans, followed by those that describe laboratory experiments.

Geographic coordinates utilized in study graphs and tables were noted as cited in the paper, and those not cited were determined by Google maps. If the location was not clearly mentioned, the location was defined by the laboratory research of the first author. The graphics and maps were designed with the software Excel and QGIS 3.4, respectively.

Findings

Analytical methods used to determine the presence of microplastics (MPs) within crustaceans

Marine zooplankton

Although research on small plastic debris started in the 1970s (Carpenter et al. 1972), the first papers about MP contamination in zooplankton were published 30 years later. The pioneers of this research were Moore et al. (2001, 2002) and Moore (2008). Moore et al. (2002), Moore (2008), and Lattin et al. (2004) correlated the density and the mass of plastic debris with zooplankton samples in the North Pacific Subtropical Gyre at multiple sites and depths along the Southern California coast (Supplementary Table S1¹). To sample the plastic and plankton, they used neuston and manta trawls, fixed the material, and inspected it under a microscope. Through microscopic inspection, they found large densities of MPs; moreover, they discussed what conditions (e.g.,

proximity to the coast, oceanic gyres) could influence the concentration of MPs.

Since 2014 the number of papers analyzing MP in zooplankton has been increasing. Frias et al. (2014) demonstrated the presence of marine plastic debris in samples of zooplankton from Portugal. Samples were collected at four different points and preserved in ~4% borax-buffered formaldehyde, and the plastics were identified and distinguished by micro-FTIR (Fourier transformed infrared spectroscopy). Some works detect and quantify MP in a sample degrading the organic matter with acids, bases or enzymes. Desforges et al. (2015) evaluated multiple digestion liquids and conditions on two zooplankton species (*Thysanoessa spinifera* and *Neocalanus cristatus*). The specimens were degraded with acid to assess their plastic ingestion using 100% hydrochloric acid (HCl), 1:1 HCl and nitric acid (HNO₃), 100% HNO₃, 100% hydrogen peroxide (H₂O₂), and 1:1 HCl and H₂O₂, with duplicates, 15 individuals, and two different conditions (heat and duration). The sample treated with only HNO₃ digested all the zooplankton tissue, leaving an oily residue. The other chemicals degraded the material into small fragments. This same technique was utilized in Sun et al. (2017, 2018a, 2018b), in which zooplankton from China (including copepods and shrimps) were preserved in a 5% formaldehyde solution, washed with deionized water, digested with 100% HNO₃ and heated in a water bath (approximately 80 °C for 3 h). Despite its use by many authors, this method can affect the properties of nylon, polyethylene terephthalate (PET), and biopolymers (e.g., acetal, polyetheretherketone) by merging PET and high-density polyethylene (HDPE) fragments, and digesting polyamide (PA) (Miller et al. 2017). However, this protocol is useful to assess the MP when the sample has a high concentration of organisms, and it is difficult to access the interior of the body of each microcrustacean.

Marine benthic crustaceans

The seafloor is recognized as one of the major sinks for MPs (Fang et al. 2018). Like zooplankton, benthic animals are very susceptible to MP ingestion. To date, no works have compared zooplankton and benthic organisms' MP ingestion, probably due to the many artifacts of sampling methods of different types of organisms (Woodall et al. 2014). However, it is possible to affirm that plastic that sinks in the sediment will be bioavailable to benthic suspension and deposit-feeding animals (Van Cauwenberghe et al. 2015). Although not specifically studying crustaceans, Courteney-Jones et al. (2019) identified MPs in deep-sea invertebrates collected from 1976 to 2015. This observation indicates that the plastic is continually fragmenting and sinking in the seabed, immediately as PA, or with time, polyethylene (PE).

Studies investigating MP contamination in benthic crustaceans describe a few different types of techniques (Supplementary Table S2¹). Some of them investigate the samples without chemical degradation. In Taylor et al. (2016), different deep-sea organisms (zoanthid, octocoral, holothurian, squat lobster, and hermit crab) were collected and preserved in 70%–80% ethanol. Andrade and Ovando (2017) fixed the crab *Lithodes santolla* in 10% formaldehyde-sea water solution, and Goldstein and Goodwin (2013) preserved barnacles (*Lepas* spp.) attached to a plastic substrate in 5% formalin buffered with sodium borate, and non-attached barnacles in 10% ethanol. The animals were frozen in –28 °C as adult macroinvertebrates (amphipods, decapods, and nebalia) in Remy et al. (2015). In all these studies, the stomach and gut areas were examined by stereoscopic microscopy to search for MPs. Remy et al. (2015) mounted microscope slides with 99.5% bidistilled glycerin for microscopic analyses and used Raman spectroscopy for polymer identification. While the advantages of both Raman spectroscopy and FTIR include nondestructive sample analysis and small sample size requirements, Raman spectroscopy provides better spatial resolution, wider spectral coverage, and higher sensitivity (Araujo et al.

2018), so depending on the sample and the MP characteristics, Raman may be a more appropriate technique.

Another extraction method is through chemical degradation of the dissected gut. Some of these chemicals are acids such as HCl, HNO₃, and HClO₄, bases such as NaOH and KOH (potassium hydroxide), H₂O₂, and enzymes (Piarulli et al. 2019). Enzymes were utilized in two studies, the first (Iannilli et al. 2018) provided new evidence of ingestion by amphipod in natural contexts, and Piarulli et al. (2019) tested the efficiency of two types of digestion in crabs. The authors of the first study degraded the digestive tracts of *Talitrus saltator* with proteinase K. The second compared digestion by KOH with a combination of lipase, protease, and amylase. Both analyzed the polymers by FTIR. KOH is usually utilized to digest different groups of marine organisms, especially crustacean tissue, as observed in decapod and amphipod analyses. According to Piarulli et al. (2019), KOH is promising in terms of effectiveness and low impact on polymers.

Some authors have collected different groups of benthic and epibenthic animals to correlate the presence of MPs with the habitat, trophic level, and feeding mode. Bour et al. (2018), who collected species including shrimp (*Crangon allmanni*) and other organisms, removed entire digestive tracts, froze samples at -80 °C, and degraded biological material in 10% KOH heated to 50 °C overnight. In this case, the shrimp demonstrated a greater concentration of MPs (63%). Similarly, J. Wang et al. (2019), who compared MPs in sediments and benthic organisms, found more MPs in the soft tissue of one species of Crustacea (*Oregonia gracilis*) than in other benthic groups. They studied nine benthic organisms, including sand shrimp (*Crangon affinis*) and decorator crab (*Oregonia gracilis*) from the southern Yellow Sea. The gastrointestinal tracts and the soft tissue of fish and mollusks were dissected, and the other animals were degraded with 30% H₂O₂ and 65% HNO₃ for 2 days. Avio et al. (2020) characterized MP ingestion by many different pelagic, benthopelagic, and benthic species, including four benthic decapod species from the Adriatic Sea. The soft tissue was dissected and digested with H₂O₂, and *Penaes kerathurus* and *Palaemon* spp. demonstrated the greatest concentrations of MPs of all invertebrates. Unfortunately, this study did not observe the relationship between feeding strategy and plastics; however, the data corroborate those presented by Choy et al. (2019), who observed MPs in pelagic red crabs (*Pleuoncodes planipes*). These organisms move between multiple zones (pelagic, benthic) and are thereby more susceptible to ingesting MPs and passing it through the trophic chain.

Fang et al. (2018) verified the presence of MPs in different categories of benthic organisms from the Arctic and Subarctic regions (shrimp *Pandalus borealis* and crab *Chionoecetes opilio*). The animals were held at -20 °C, then dissected and degraded with 10% KOH. The same method was used by Jamieson et al. (2019) in the analysis of two species of lysianassoid amphipods (*Hirondellea* sp. and *Eurythenes gryllus*). These species were collected in six of the deepest marine ecosystems, located in three different areas: northwest Pacific (Japan, Izu-Bonin, and Mariana trenches), southwest Pacific (New Hebrides and Kermadec trenches) and southeast Pacific (Peru-Chile Trench), at depths ranging from approximately 7000 to 10 890 m. Both works mentioned plastic pollution in the animal in MP form. It is important to point out that they did not test or observe harmful impacts on the organisms. Therefore, we concluded that just the contamination was analyzed.

In addition to the taxonomic groups mentioned, the MP content in commercially popular crustaceans has been explored, demonstrating the MP contamination risks with regards to seafood commerce and human health. Shrimp species *Crangon crangon* and *Aristeus antennatus* and the lobster *Nephrops norvegicus* are commercially and economically relevant. Both species are found in shallow coastal and estuarine soft-bottom areas as well as in deep-sea communities (Devriese et al. 2015; Carreras-Colom et al. 2018; Cau et al. 2020). The species inhabit multiple ecosystems, indicating that they are exposed to MPs in the sand and those that sink

into deeper water columns. Hara et al. (2020) tested the effectiveness of three different digestive solutions (chemicals listed in Supplementary Table S2¹) to degrade the gut tract and determine their effect on the structure of different polymers, and to assess MPs ingested by individual *N. norvegicus*. Devriese et al. (2015) degraded whole and peeled shrimp *C. crangon* with a simple mixture of nitric acid and perchloric acid (HClO₄), at > 80 °C for 10 min. In contrast, Carreras-Colom et al. (2018) and Cau et al. (2020) did not use the chemical degradation method, instead choosing to dissect and analyze the individual stomach contents. There are multiple techniques to quantify MPs in decapods, but currently no standardization of the method. However, many experiments affirm that KOH appears promising for organic degradation, and HNO₃ does not because it compromises the polymer structure.

Although the food chain is mentioned in the title of studies conducted by Welden et al. (2018) and Zhang et al. (2019), neither investigation included MPs transferred directly between trophic levels. The spider crab *Maja squinado* and the European plaice (fish) *Pleuronectes platessa* were collected to compare the uptake of MPs and relate it to fishing activities, and a sand eel (*Ammodytes tobianus*) was collected to represent a specific trophic level (Welden et al. 2018). The carapace of crustaceans was covered in fibre, which is from fishing instruments; however, the researchers did not find a relationship between the number of MPs ingested and the locations of fishing activities. The greater proportion of the contamination in the animals' stomach was related to the proximity to the shore, and unrelated to the higher rate of fishing activity. Eight other species of crustaceans and other fish species were analyzed after acid degradation to understand the trophic level connection (Zhang et al. 2019). Although the taxa of interest were those of the fish specimens, MPs were present in all animals. These results imply that MP contamination may pass between trophic levels. However, before a significant conclusion can be made, it is crucial to test this hypothesis through experiments. Specifically, due to the complexity of organisms and the marine environment, it is critical to sample animals correctly and conduct well-designed experiments.

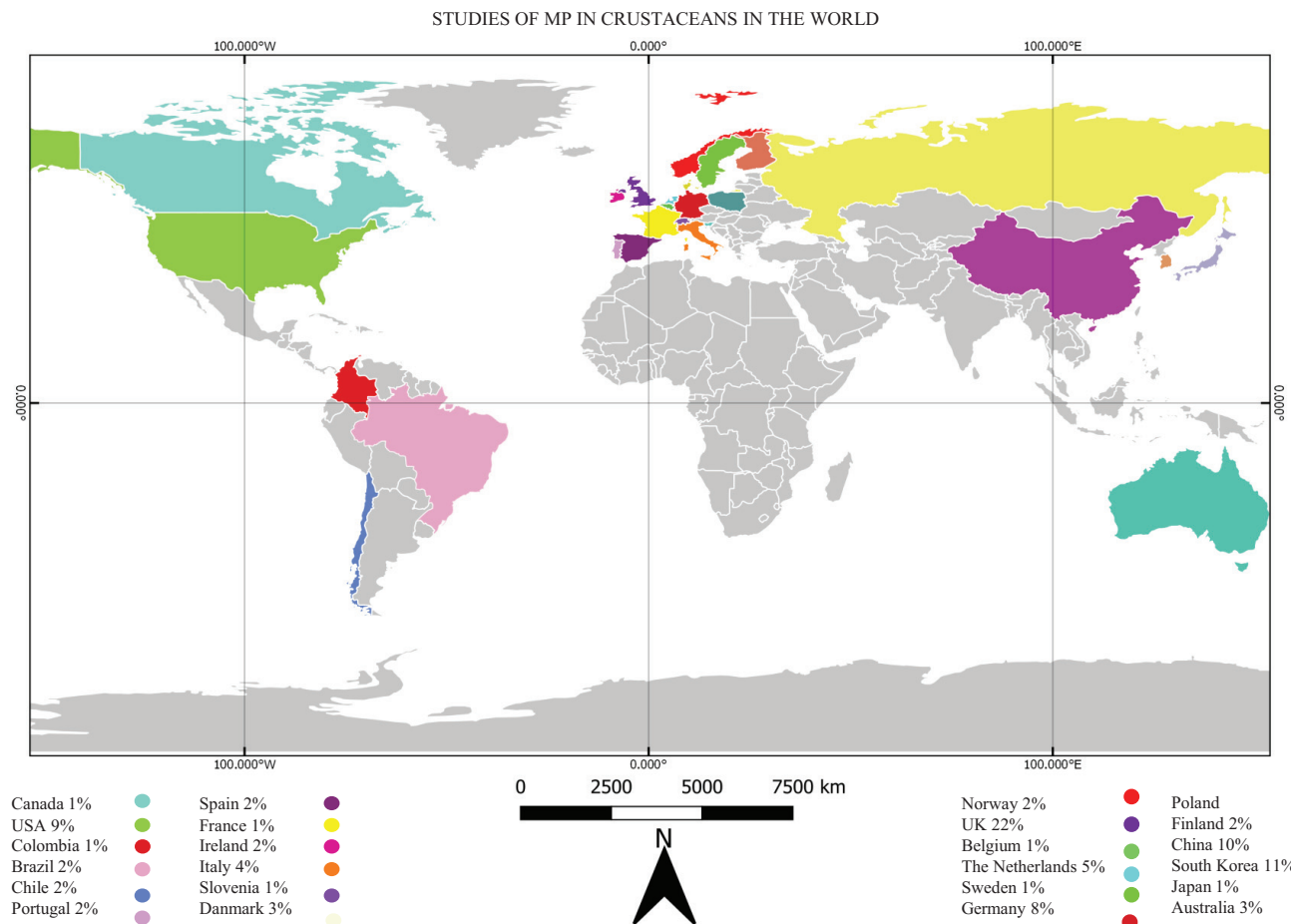
MPs research in laboratory experiments

A majority (approximately 69%) of the research on MPs is based on laboratory tests. These laboratory tests have encompassed many types of animal taxa, including marine and freshwater and zooplankton and benthic groups. These experiments have included simple ingestion tests, ingestion + animal in situ analyses, ingestion + adsorption of organic pollution, ingestion + adsorption of pollutants + contamination to trophic chain level. The following sections of this review are organized by types of experiments performed with marine crustaceans: section titled "Risk of MPs to crustaceans" (Supplementary Table S3¹), section titled "Risk of sorption of contaminants to crustaceans and in the trophic chain" (Supplementary Table S4¹).

There are few papers (Cole et al. 2013; Lee et al. 2013) in which the authors utilized plastics that have since been defined as nanoplastics (NPs) (1 nm–1 μm) (Gigault et al. 2018). However, those papers are cited here because they were published before the NPs definition was established, and MP particles were used in the experiment.

Risk of MPs to crustaceans

The first MP ingestion test was conducted by Wilson (1973). Although this test marks the first detection of plastic debris contamination in crustaceans, the author was specifically interested in the food selection mechanisms of marine copepods (*Acartia tonsa*). He utilized "micronic beads" in five different sizes with 25 copepods in 30 mL of water. The copepods were kept in contact with a total concentration of 3000–4000 beads mL⁻¹ for 15 min. They were then mounted on glycerin slides and analyzed under a microscope. In this experiment, the organisms did not demonstrate a preference between the ingestion of larger or smaller

Fig. 1. Studies of microplastic (MP) contamination in crustaceans around the world.

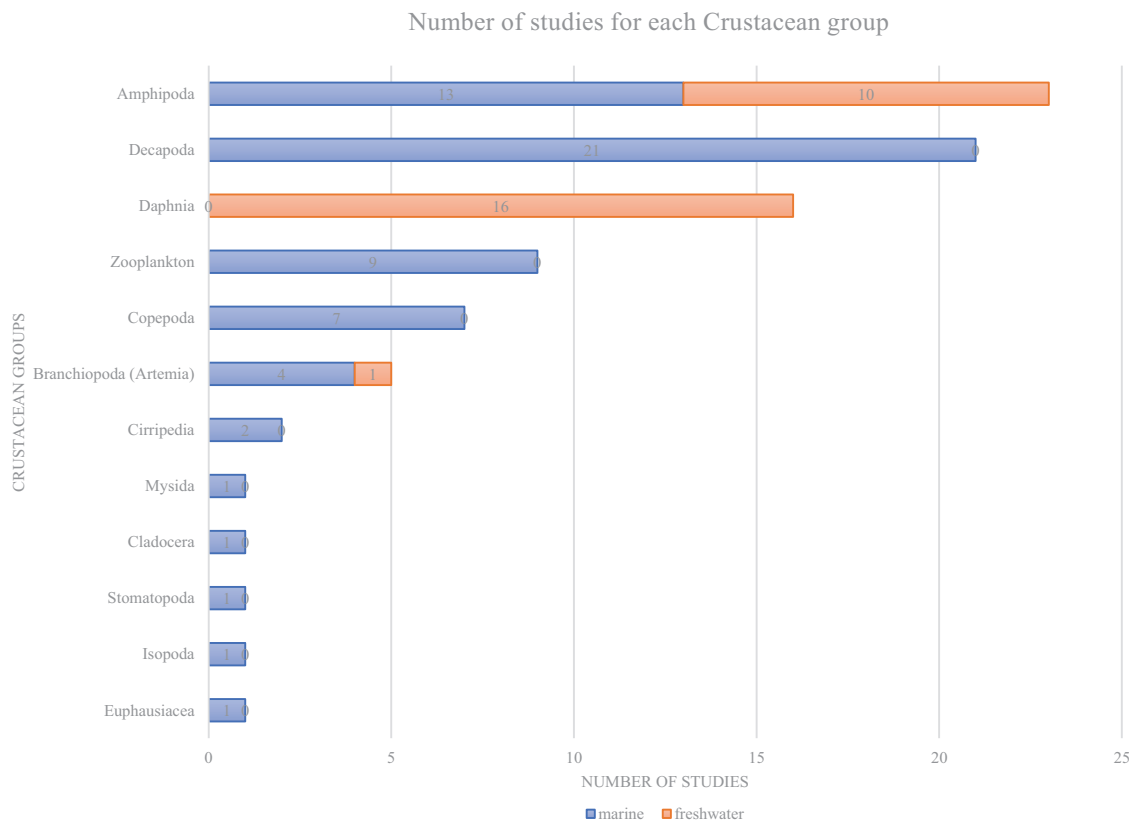
beads. In the following decades, there were similar studies with copepods (Paffnhofer and Sant 1985; Ayukai 1987; Powell and Berry 1990). These works tested the feeding response of copepods using a variety of particles, which included algae, bacteria, and inert particles (beads or MPs). The experiments used different concentrations of beads and abiotic conditions that could influence the feeding habits (e.g., alteration in salinity) (Powell and Berry 1990). These experiments are outside the scope of this review and will not be described here in further detail.

The first test that aimed to investigate if MPs could contaminate crustaceans was done by Thompson et al. (2004). The authors collected samples of the amphipod *Orchestia gammarellus* and barnacle *Semibalanus balanoides* (also a member of Polychaeta) that were kept in aquaria with 1 g of MP fragments for several days. The ingestion was assessed through microscopic analyses. This study was the pioneering research of MP ingestion in crustaceans in the UK (Figs. 1 and 2), providing evidence that organisms could ingest small plastics. The total number of studies involving MPs and crustaceans increased after 2013, 9 years after Thompson et al. (2004). In 2013, Ugolini et al. (2013) contaminated *T. saltator* (Amphipoda) with three sizes of PE microspheres. The treated samples were exposed to contaminated food for 24 h, and then the contaminated food was replaced by uncontaminated food for periods of 3, 6, 24, 48, and 168 h. The authors tested the gut resident time (GRT) in sandhoppers of the microspheres and the possible effect of MPs on their survival. The sandhoppers' feces were analyzed by stereomicroscope to verify the presence of microspheres. From the stereomicroscopic analysis, the researchers

confirmed that the specimens ingested the MPs. However, the difference in survival taxa was not significant. Other taxa have been subjected to fecal analysis. Hämer et al. (2014) fed *Idotea emarginata* (Isopoda) food contaminated with microbeads, fragments, and fibres. Although the animals presented MPs in their stomach and gut, the feces contained the same concentration of MPs as that of the food, which means that the MPs did not accumulate inside the animal. Also, the isopods were neither positively nor negatively affected by consumption. A similar result (Bruck and Ford 2018) was reported for *Echinogammarus marinus*. The researchers fed these amphipods the macroalgae *Fucus vesiculosus* plus three different concentrations of MPs (0.9, 9, and 99 MP g⁻¹) for 35 days. In the group fed with the greatest concentration of MPs, three of five animals had plastic beads. Low concentrations (0.9 MP g⁻¹) of 8 µm MPs did not significantly impair the feeding, growth, and moulting of amphipods during the exposure period. However, the researchers suggest that the animals eating contaminated food need to ingest a greater volume than animals eating uncontaminated food because MPs do not contribute to any nutritional requirements.

To assess the ingestion of different concentrations of MPs and if the feeding strategy could affect the consumption of MPs, Setälä et al. (2016) used two species of Amphipoda (*Monoporeia affini* and *Gammarus* sp.) and Mysida (*Neomysis integer* and *Praunus flexuosus*), as well as other Polychaeta and mussels in a mesocosm. They added 5, 50, and 250 beads mL⁻¹ to each group of animals, and then analyzed the intestine and stomach. All groups ingested MPs, and excluding the two bivalve species, *Gammarus* and mysids

Fig. 2. Graphic of studies of microplastic contamination in marine and freshwater crustaceans.



ingested a greater concentration of microbeads than other organisms. The authors affirmed that the swimming activity of animals gradually contributed to the distribution of the beads in and on the sediment. Because the MPs were not within the water column and the crustaceans are not filter feeders, the crustaceans could easily access the settled beads.

Hodgson et al. (2018) tested a different methodology. They utilized three different plastic bags (HDPE), one produced from “15% recycled material”, the second “degradable”, and the third “biodegradable/compostable” plastic. The bags were kept 4 weeks at sea to acquire a microbial biofilm. The authors then exposed the plastics to amphipods (*O. gammarellus*). The control group, instead of exposing MPs to amphipods, were offered the plastic samples without biofilm, to determine if the plastic would degrade or the biofilm would influence the splintering. The ingested MP was analyzed in the fecal material, and the plastic bags were analyzed to note possible bitemarks. Although MPs were not found in the feces of the amphipods, they were found in the experimental container, and the plastic samples had bite marks. Plastic debris that also had evidence of bite marks were ingested by the American lobster *Homarus americanus* (Potocka et al. 2019). The animals had rubber bands around each claw for 16 days, and they actively ingested the debris. This study did not report a specific effect of the MPs. However, it serves as more evidence of plastic ingestion and that it may cause false satiation and nutritional issues.

Watts et al. (2014) exposed *Carcinus maenas* to microspheres of plastic to determine possible respiratory uptake across the gills and ingestion of pre-exposed food (mussel *Mytilus edulis*). The authors mentioned representation of the trophic passage of plastic contamination, but the mussel was not exposed to MP ingestion, it was utilized as food mixed with MP particles to the decapod. The authors utilized fluorescent PS microspheres (8–10 μm) and Raman scattering microscopies to detect MPs. The animals

retained MPs within the body tissues after 14 days and those inhaled through the gills after 21 days, and no MP was found in the hemolymph. Another approach has been to analyze the biochemical or cellular responses in crustaceans as effects of MP ingestion. The *Amphibalanus amphitrite* (barnacle) and the important aquaculture animal *Artemia franciscana* (shrimp) had altered reproductive success (Peixoto et al. 2019) and swimming activity and corresponding alterations in enzyme activities (Gambardella et al. 2017). After a 48-h experimental MP exposure (at multiple concentrations), these species presented neurotoxic effects and oxidative stress. Wang et al. (2019a, 2019b) also utilized *Artemia parthenogenetica* to investigate the alterations in survival, growth, and development of adults and juveniles. After 14 days of exposure to a high concentration of PS microspheres, although their survival was not affected, they showed fewer and disordered microvilli, and an increased number of mitochondria and appearance of the autophagosome, which are detrimental to *A. parthenogenetica*, especially to larvae.

Most of the studies already discussed utilized zooplankton (mostly copepods). These small crustaceans are easy to maintain and manipulate under controlled conditions (Sá et al. 2018). Additionally, they are primary consumers and, as such, are directly in contact with less dense MPs. Cole et al. (2013, 2015) and Lee et al. (2013) developed experiments with animals to observe the effects of ingestion of different sizes and concentrations of MPs on the feeding process, survival, development, and fecundity. They observed a decrease in feeding (ingestion of algae) by *Centropages typicus*, and a decrease in survival and fecundity of the marine copepod *Calanus helgolandicus* and *Tigriopus japonicus* when exposed to PS fluorescent MPs (Sá et al. 2018). In Cole et al. (2016) also used *C. helgolandicus* to analyze if fecal pellets could be a vector for the transport of MPs, alter the properties and sinking rates of zooplankton egest, and facilitate the transfer of plastics to coprophagous biota. The

organisms were exposed to 20.6 μm PS MPs for 18.5 h. The ingestion of MP significantly altered the structural integrity, density, and sinking rates of fecal pellets, indicating that this polymer could be accessed in deeper areas, and the pellets can be indirectly ingested by coprophagy (eaten by another copepod species, *C. typicus*). Another species, *Calanus finmarchicus*, was used in a 6-day experiment to investigate the impact of fibrous and particulate MP exposure on feeding, lipid accumulation, growth, and moulting (Cole et al. 2019). The MP uptake was determined by measuring copepod feces, growth by prosome length, lipid mass by gas chromatography (GC) after extraction, and moulting by morphological characteristics every 24 h. The authors observed a 40% decrease in algal ingestion rates when MP was presented, with no significant lipid accumulation and negative effects on the moulting of juvenile copepods. Additionally, Cole et al. (2013) assessed the ingestion of polystyrene spheres 7.3–30.6 μm by 15 zooplankton taxa representatives (e.g., copepods, decapods and euphausiids). To assess the ingestion, the specimens were analyzed through an inverted light microscope with fluorescence and coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy. The analyses showed that the MPs ingested were accumulated on swimming legs, antennules, segments of the carapace, and urosome. Studying *C. finmarchicus* and other species, Vroom et al. (2017) concluded that MPs with biofilm formation in seawater might be preferably ingested over pristine MP. Alterations in biological, physical, and chemical properties of polymers facilitate the translocation into multiple water depths and the ingestion by all animal groups.

According to Welden and Cowie (2016a) and observed in this review, only a small percentage (approximately 27%) of examinations are concerned with the uptake of MP in wild invertebrates. Some authors suggest that the level of ingested MPs in laboratories appears to support the level of intake in natural contexts. However, we believe that it is important that the analyses be linked (survey analyses and experimental tests). In line with this principle, some authors use a twofold approach, whereby they have an interest in demonstrating the MP contamination in animals from nature and in experiments, to corroborate the analysis. The first demonstration in the Clyde Sea (Murray and Cowie 2011) showed the presence of plastic contamination in the stomachs of 83% of 120 decapod specimens (*N. norvegicus*) and additionally, 60% of the animals in the experiment ingested strands of polypropylene. The results indicate that some of the filaments were not eliminated from the foregut of the animal.

Welden and Cowie (2016a), exposed the same species to different levels of MPs to understand the impact of MP on the moult stage, date of the trawl, and carapace length. The experiment was based on 10 recently mounted females, all of which were placed in individual tanks, fed with strands of polypropylene (five of 0.5 mm) and squid mantle (0.5 g) for 1 month, and with the moult induced by bilateral eye ablation. Except for the treatment control of the experiment, the researchers collected individuals separately to analyze the existence of MP ingestion. Of the 1450 animals analyzed, 975 (67%) contained MPs, predominantly fibres. The notable conclusion is that recently moulted organisms tend to have lower concentrations of plastic than not recently moulted organisms. They affirmed that males have more frequently moulted and, consequently, possess a larger gastric mill, so the female may accumulate more MP in the body. Future studies of moulting could increase our understanding of moulting and generate more conclusive results. In the same year, Welden and Cowie (2016b) contaminated the same species (*N. norvegicus*) with MPs. The animals were fed with 1.5 g of plastics, and at the end of the experiment, these crustaceans showed a change in mean body mass of -0.0189% per day. The presence of plastic in the food induced false nutritional satisfaction, resulting in reduced growth of the body. Carrasco et al. (2019) described a different result when they contaminated amphipods (*Orchestoidea tuberculata*) with 0%, 5%, and 10% of MPs in food. The growth rate was not affected by the

uptake of plastic. However, the specimens consumed significantly less food when the concentration of MPs was 10% than when it was 0% and 5%. As the amphipods were kept in containers for 15 days, a longer period of experimentation may yield a more significant difference in body growth. Cole et al. (2014) investigated different protocols of digestion with acid (HCl), alkaline (NaOH), and enzymatic (proteinase-K) digestion, and also extracted MPs ingested by zooplankton *Temora longicornis*. Proteinase-K treatment digested 97% of the samples, significantly more than other treatments. Of the 18 specimens exposed to fluorescent PS beads (100 MPs mL^{-1}) overnight, 11 individuals (77%) were contaminated by the ingestion.

Two new relevant contributions to the MP research in crustaceans are from Dawson et al. (2018) and Cau et al. (2020), who observed fragmentation of MP into smaller fragments through animal ingestion. Dawson et al. (2018) documented the fragmentation of PE fluorescent microbeads into smaller particles by Antarctic krill (*Euphausia superba*). The animals were exposed to two concentrations of food with a greater or smaller quantity of MPs and algae for 4 days. The MPs ingested and egested in the feces were analyzed, and they were 78% and 94% smaller, respectively, than the original diameter. The author used a fluorescent microscope to assess where the MPs were located in the *Euphausia* body and degraded the animal with an enzyme. Notably, the enzyme digestion did not affect the format of plastic, and the ingestion of the MP caused the size reduction. More evidence of MP degradation through feeding was demonstrated in wild langoustines *N. norvegicus* (Cau et al. 2020). The stomach and intestine were dissected, the MP extracted with density separation and subsequently filtered. MPs were found in all the animals, and seven specimens had the same MPs in the stomach and intestine, with a decrease in size from the former to the latter. From these results, it is possible to infer that the plastics degraded into smaller fragments through the animal's digestive apparatus. As the authors cited, this is the first evidence of the fragmentation of MPs by deep-sea langoustines. New studies on this topic deserve particular attention because the plastic may be reintroduced into biota after being excreted and could pose a great risk to the environment.

Risk of sorption of contaminants to crustaceans and in the trophic chain

There are multiple types of investigations utilizing crustaceans in the passage of MPs through the food chain. The first experiment tested the trophic transfer of MPs from mussels (*M. edulis*) to crabs (*C. maenas*) (Farrell and Nelson 2013). The authors used PS microspheres to contaminate the animals at intervals up to 21 days, after which MPs were present in multiple crab organs, especially the hemolymph. Setälä et al. (2016) tested two approaches, the experimental ingestion of microspheres by 12 species of zooplankton and the transference of MPs through the planktonic food web by mysid and copepod predators. In the first experiment, all taxa ingested the MPs and, as predicted, the MPs bioaccumulated in the trophic level between mesozooplankton and macrozooplankton. Toso et al. (2016b) utilized the amphipod *Platorchestia smithi* to test the passage of MP contamination and behavioural changes to other trophic chain levels. *Bathygobius krefftii* was fed with a pipette to ensure that the animals ate the amphipods during six feeding rounds over approximately 1 week. The authors did not observe any altered behaviour in the fish. Another research area is the analyses of the persistence of MP particles in the animal after the trophic passage. Santana et al. (2017) exposed the mussel *Perna perna* to many polyvinylchloride (PVC) particles over 3 h. The crab *Callinectes ornatus* (and also a fish species) were exposed to this contaminated mussel for 10 days without restriction. After the 10 days of exposure to the PVC contaminated mussels, the animals were exposed to uncontaminated food (fish or shrimp) to verify the presence of persistent PVC particles. The authors analyzed the tissues and the transfer of MPs through the trophic chain, but particle persistence was not observed.

According to Yu et al. (2019), research on MPs adsorption has grown exponentially due to MP's high potential for adsorption of organic pollutants and heavy metals. Chemical additives, such as phthalates and polybrominated diphenyl ethers (PBDE), nonyl-phenol, which are included in plastic production to provide specific characteristics, have been included in this adsorption approach. Chua et al. (2014) and Scopetani et al. (2018) utilized the congeners of PBDE to investigate if the presence of MPs could influence the uptake of this pollutant. First, they exposed amphipods *Allorchestes compressa* to a spiking solution (PBDE in ethanol) in the presence and absence of 0.1 g of PE from cosmetics over 72 h. After the extraction protocol, the samples were analyzed with GC. It was observed that the MPs inhibited the bioavailability of the PBDEs because of the intense sorption capability of PE. In a study including X-ray microtomography of ingested MPs, it was demonstrated in *T. saltator* that PE MPs could transfer and remove contaminants by MP ingestion (Scopetani et al. 2018). This approach is notable for its use of microtomography. However, the results were ambiguous and the MPs were not clearly indicated in the image. In a study by Tosetto et al. (2016a), a species of Amphipoda (*P. smithi*) was contaminated with one of the most widespread organic pollutants in the environment, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), with the addition of a PE microsphere. The organic pollutant was adsorbed in MPs in a natural context (over 2 months in the Port of Sydney). Different types of PAHs have been studied, including phenanthrene and benzophenone. Brennecke et al. (2015) similarly exposed PS pellets in a natural context, fed specimens of *Uca rapax* with the exposed MPs for 2 months. The ingestion of MPs and the translocation of the particles to different organs (hepatopancreas, gills, and stomach) was observed, but no functions were altered. Benzophenone-3 was spiked in PE MPs and exposed to different groups of zooplankton (Beiras et al. 2018), and although the animals ingested the plastics, this contamination did not present a significant impact on the specimens, and therefore cannot be considered pollution.

Freshwater crustaceans

As discussed in Au et al. (2015), most of the studies have focused on the presence of MPs in marine systems. The presence of MPs in terrestrial and freshwater ecosystems has only recently been recognized (e.g., Redondo-Hasselerharm et al. 2018a), and we know that most of this contamination originates from freshwater sources (principally from drainage channels). Redondo-Hasselerharm et al. (2018a) exposed the amphipod *Hyalella Azteca* (Supplementary Table S5¹) to fibres and particles of polyethylene over 10, 28, and 42 days to examine the effect of exposure on the mortality, growth, and MP ingestion of the taxa. The fibres were more toxic than the particles, possibly due to resistance in the gut, and both forms of MPs impacted the growth and reproduction of the animals. The corporal mass of *Gammarus fossarum* (Amphipoda) was also altered with MP ingestion (Blarer and Burkhardt-Holm 2016; Straub et al. 2017). The animals were also exposed to PS in fibre and particle forms (Blarer and Burkhardt-Holm 2016). Additionally, Straub et al. (2017) fed amphipods biodegradable bioMP (polyhydroxybutyrate) and petroleum-based MP (polymethylmethacrylate, PMMA). In both studies, the animals tended to lose weight due to the reduction of food uptake.

In similar experiments, individual *Gammarus pulex* and *Daphnia magna* were exposed to four concentrations of PET bottle MPs over 24 h to assess the uptake of MP. The specimens were then exposed to five groups of chronic exposure (Weber et al. 2018), and some select specimens were fed with fluorescent PS spheres (Scherer et al. 2017). After the ingestion period, wet weight, energy reserves, moult activity, and mortality were analyzed. Juveniles ingested more MPs than adults, and survival, development, metabolism, and feeding activity were not affected by MP contamination. Scherer et al. (2017) pointed out that the ingested particle size is

dependent on the animal size, principally during development. Another study found that the feeding rate of *G. pulex* and *H. azteca* was not affected either (Redondo-Hasselerharm et al. 2018a). These two amphipod species and an isopod (*Asellus aquaticus*), amongst other organisms, were contaminated with different concentrations of irregular PS to investigate any alterations in mortality and growth. MPs were mixed with sediment from 0% to 40% plastics dry weight (dw) for 28 days. The MP ingestion affected neither feeding activity nor survival. The same results were observed with ingested car tire tread microparticles (Redondo-Hasselerharm et al. 2018b) and in the exposure of duckweed species *Lemna minor* to PE and then to *Gammarus duebeni* (Mateos-Cárdenas et al. 2019). In the latter work, although there was an absence of effects in mortality and mobility in amphipods over the 48 h, *L. minor* could adsorb the PE, making it potentially available to the trophic chain. Car tire tread microparticles originate from rubber, which sometimes is not recognized as plastic (Wagner et al. 2018). However, for the purposes of this review, we consider rubber to be plastic, as it is categorized by some authors (Verschoor, 2015). Both an acute and longer-term toxicological analysis were tested using car tire wear particles (TWP). Over the longer term (high exposure concentrations (500–2000 particles mL⁻¹) over 21 days), impacts on the mortality, reproductive output (neonate production), and net growth of *H. azteca* were observed (Khan et al. 2019).

Two experimental processes were utilized by Batel et al. (2016). First, *Artemia nauplii* were exposed to different sizes of MPs for up to 24 h. These animals were then offered to the zebrafish (*Dario renio*). Subsequently, benzo[a]pyrene (BaP) was added. The *Artemia* ingested the MP and was contaminated by BaP. In addition, the MP and the harmful pollutant were transferred through the trophic chain by crustacean species and fish. One notable observation is that the *Artemia* could store hydrophobic substances in their intracellular yolk droplets, indicating that they had incorporated the BaP that was adsorbed onto the MPs. Although this is a case of extreme contamination, it shows that the polymer adsorbed the pollutant and served as a vector of chemical pollutants.

Daphnia magna is frequently utilized in contamination tests because it is a well-described standard organism in ecotoxicological studies. It is also a passive filter feeder and thereby particularly susceptible to particulate exposure (Ogonowski et al. 2016). Given that this species is well documented and some methods and results are similar, the papers will be collectively discussed and less detailed to avoid repetition. The authors that test the ingestion and effects of both MPs and NPs have observed very similar results. PE and PS MP and NP were exposed to *D. magna* over 14 (Ma et al. 2016) and 21 days (Rist et al. 2017; Pacheco et al. 2018). The consequences of MP ingestion included a decrease in feeding rates and an increase in mortality. The effects of NPs were worse, including higher adsorption of phenanthrene on NPs, enhanced bioaccumulation in the specimens, increased parental mortality and number of aborted eggs, and decreased number of offspring. Comparing the particles based on these tests and species, the NPs are potentially more hazardous. It is important to note that the presence of phenanthrene and plastic particles may contaminate even more species than the plastic alone. As also shown by Ma et al. (2016) and Frydkjær et al. (2017), PE MPs adsorbed less [¹⁴C] phenanthrene than the organisms *Saccharomyces cerevisiae*, *Vibrio fischeri*, and *D. magna*.

Some authors have utilized different MP types and polymers to investigate animal exposure. Jaikumar et al. (2019) fed *D. magna*, *D. pulex*, and *Ceriodaphnia dubia* with pristine (PMP) and artificially weathered (SMP) particles. Ogonowski et al. (2016) did the same with *D. magna*, and Imhof et al. (2017) used a mix of several polymers. The first two studies observed elevated mortality, an increased inter-brood period, and decreased reproduction with SMP exposure. Species-specific effects were also observed, and *C. dubia* was the most sensitive species and *D. magna* the least sensitive. The last study demonstrated that the mortality, morphology (body length,

width, and tail spine length), and reproductive parameters were not altered, but in adults, there were altered expression of genes related to stress responses to MP contamination. Exposure to 25, 50, and 100 mg L⁻¹ PE MP over 21 days did not affect the survival and reproduction of the species by MP ingestion (Canniff and Hoang 2018). Also exposed over 21 days to PS, the individuals unexpectedly demonstrated increased body size and swimming activity (De Felice et al. 2019). In contrast, *D. magna* showed immobilization after ingesting PE particles (Rehse et al. 2016), increased mortality with PET microfibres ingestion (Jemec et al. 2016) and ingestion of PS after 7 and 21 days (Aljaibachi and Callaghan 2018; Bosker et al. 2019). Additionally, Rehse et al. (2018) observed no negative effects of PA ingestion, though the combination of bisphenol A (BPA) and PA led to decreased immobilization. The same was demonstrated by Horton et al. (2018), in that the animals were not affected by PS spheres. Although there were negative consequences on survival and mobility resulting from exposure with two pesticides (dimethoate and deltamethrin), the PS did not act as a vector of pollutants. Unfortunately, these results are not comparable due to variable experimental conditions (duration, different types of contamination, and quantities of MPs and pollutants).

The next two papers discussed (Kratina et al. 2019; Shchapova et al. 2019) explored relatively new approaches and methodologies. The first paper studied the impact of combined MP exposure and warming on metabolism and feeding, and the injection of particles in the hemolymph. *Gammarus pulex* was exposed to several concentrations of MPs at different temperatures (9, 15, and 19 °C). As expected, the temperature modified the metabolism (respiration) and the feeding rate. It was observed that in warmer conditions, the effects of ingested MPs were greater than in colder temperatures. Although the physiological response processes require additional study, this work demonstrates that climate change may enhance the negative impacts of MPs in organisms.

The implantable tool in crustaceans is a poorly explored technique. A study using a conjugate of (PAH/PSS)6/PLL-g-PEG microcapsules (poly(allylamine hydrochloride), poly(sodium 4-styrenesulfonate), and poly(L-lysine)-graft-poly(ethylene glycol) copolymer) in crustaceans was conducted by Shchapova et al. (2019). As PE glycol interferes with circulatory system functions, they injected these microcapsules into the central hemolymph vessel of the Amphipoda *Eulimnogammarus verrucosus* between the sixth and seventh segments of the pereon. The authors observed a decrease of MPs as early as the first week, and the greater concentration of microcapsules was in the head, the first three segments, and urosome. Although this study did not show toxicity, the amphipod cells recognized the capsules as foreign bodies and tried to isolate them for 12 h. This research presents a new technique in this area and may be a promising method for future toxicology tests, not only for MPs, but also for other types of contamination.

Crustacean response to MPs and organic pollution contamination is regularly explored, but there has been limited research on the adsorption of heavy metals (Brennecke et al. 2016). One study that explored this topic was by Kim et al. (2017). They utilized nickel (Ni) as a contaminant and two types of polymers (one with a carboxyl group (PS-COOH) and the other lacking (PS)) to which they exposed *D. magna*. They proposed that the nickel cation would be more adsorbed onto the polymer with PS-COOH. However, the difference between adsorption of these two polymers was not significant, which may be explained by the dysfunction of the adsorption of Ni. Consequently, more investigation is needed to explore potential mechanisms of toxicity.

Conclusions

At the present time, studies on the accumulation of MP and adsorption of pollutants in crustaceans are regularly published. This review seeks to identify the techniques and methodologies

utilized in this field thus far. We believe that authors should be aware of the superposition of some papers, especially regarding laboratory experiments. Many studies describe the same type of test and also induce an extrapolated treatment, which does not simulate a possible real-life scenario. At present, most studies have investigated marine crustaceans (due to the higher diversity and abundance in the marine environment and experimental maintenance of the organisms), while freshwater crustaceans have received substantially less attention. Most of the freshwater works have studied *Daphnia magna* and select Amphipoda (Fig. 2). Much freshwater research has focused on the alteration of the feeding rate, which is a very straightforward analysis and therefore not as difficult as other approaches, such as in situ freshwater animal studies, or effects of different types of organic and metal pollution and trophic chain contamination, or current approaches extending the time of experiments. Species seemingly unaffected by the MPs may be so due to exposure characteristics such as particle shape, dose or time and especially to trophic ecology of the species studied (Mateos-Cárdenas et al. 2019).

Some studies have analyzed only metal contamination in crustaceans and other groups (Ugolini et al. 2012; Rivera-Hernández et al. 2019), yet there have been few studies that have focused specifically on MP adsorption of metals. There is much room for exploration as metal associates differently with polymers than POPs (persistent organic pollutants). In contrast to organic pollutants, the accumulation of metals onto MPs is not related to polymer type, which is linked to the formation of biofilm in aquatic environments (Bogusz and Oleszczuk 2017). The gap on the adsorption of metal does not reflect reality as, for example, Hodson et al. (2017) proposed that MPs are a potential source of heavy metals to animals. So, we suggest a greater focus on their methodology to understand more about the MP, metal, and organic contamination effects on crustaceans.

We concluded that linkage studies are absent. The current body of works describes the effects of contamination only on populations, but does not include consequences on communities of animals (Browne et al. 2015; Rochman et al. 2016; Bucci et al. 2020). At this time, we have potential information about MP ingestion, and there have been a few studies that considered different trophic levels (Katsanevakis et al. 2007). Still, insights on eventual consequences regarding trophic transfer or consequences at the community level are scarce. We suggest that future studies focus on the connectivity of effects at higher ecological levels. For example, how more or less plastic in the environment affects the biomass or diversity of organisms, or the effects of windward and leeward areas on the presence of MPs and an assemblage of organisms. According to Browne et al. (2015), linking impacts from lower to higher levels may provide relevant information on the alterations in ecological structures (trophic chain, competition, and predation), and also in social services, such as maintenance of water quality, biogeochemical cycling and production of uncontaminated food.

References

- Aljaibachi, R., and Callaghan, A. 2018. Impact of polystyrene microplastics on *Daphnia magna* mortality and reproduction in relation to food availability. PeerJ, 6: e4601. doi:10.7717/peerj.4601. PMID:29686944.
- Andrade, C., and Ovando, F. 2017. First record of microplastics in stomach content of the southern king crab *Lithodes santolla* (Anomura: Lithodidae), Nassau Bay, Cape Horn, Chile. Anales Inst. Patag. 45(3): 59–65. doi:10.4067/S0718-686X2017000300059.
- Araujo, C.F., Nolasco, M.M., Ribeiro, A.M.P., and Ribeiro-Claro, P.J.A. 2018. Identification of microplastics using Raman spectroscopy: latest developments and future prospects. Water Res. 142: 426–440. doi:10.1016/j.watres.2018.05.060.
- Au, S.Y., Bruce, T.F., Bridges, W.C., and Klaine, S.J. 2015. Responses of *Hyalella azteca* to acute and chronic microplastic exposures. Environ. Toxicol. Chem. 34(11): 2564–2572. doi:10.1002/etc.3093. PMID:26042578.
- Avio, C.G., Pittura, L., d'Errico, G., Abel, S., Amorello, S., Marino, G., et al. 2020. Distribution and characterization of microplastic particles and textile microfibers in Adriatic food webs: General insights for biomonitoring

- strategies. *Environ. Pollut.* **258**: 113766. doi:10.1016/j.envpol.2019.113766. PMID:31855672.
- Ayukai, T. 1987. Discriminate feeding of the calanoid copepod *Acartia clausi* in mixtures of phytoplankton and inert particles. *Coep. Biol.* **94**(4): 579–587. doi:10.1007/BF00431404.
- Batel, A., Linti, F., Scherer, M., Erdinger, L., and Braunbeck, T. 2016. Transfer of benzo[a]pyrene from microplastics to *Artemia nauplii* and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. *Environ. Toxicol. Chem.* **35**(7): 1656–1666. doi:10.1002/etc.3361. PMID:26752309.
- Beiras, R., Bellas, J., Cachot, J., Cormier, B., Cousin, X., Engwall, M., et al. 2018. Ingestion and contact with polyethylene microplastics does not cause acute toxicity on marine zooplankton. *J. Hazard. Mater.* **360**: 452–460. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.07.101.
- Bergmann, M., Mützel, S., Primpke, S., Tekman, M.B., Trachsel, J., and Gerdt, G. 2019. White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. *Sci. Adv.* **5**(8): eaax1157. doi:10.1126/sciadv.aax1157. PMID:31453336.
- Blarer, P., and Burkhardt-Holm, P. 2016. Microplastics affect assimilation efficiency in the freshwater amphipod *Gammarus fossarum*. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **23**(23): 23522–23532. doi:10.1007/s11356-016-7584-2. PMID:27614640.
- Bogusz, A., and Oleszczuk, P. 2017. Microplastics in the environment: characteristic, identification and potential risk. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska LXXI*. **2**: 97–114.
- Bosker, T., Olthof, G., Vijver, M.G., Baas, J., and Barmantlo, S.H. 2019. Significant decline of *Daphnia magna* population biomass due to microplastic exposure. *Environ. Pollut.* **250**: 669–675. doi:10.1016/j.envpol.2019.04.067. PMID:31035149.
- Bour, A., Avio, C.G., Gorbi, S., Regoli, F., and Hylland, K. 2018. Presence of microplastics in benthic and epibenthic organisms: Influence of habitat, feeding mode and trophic level. *Environ. Pollut.* **243**(Pt. B): 1217–1225. doi:10.1016/j.envpol.2018.09.115. PMID:30267918.
- Brandon, J.A., Jones, W., and Ohman, M.D. 2019. Multidecadal increase in plastic particles in coastal ocean sediments. *Sci. Adv.* **5**(9): eaax0587. doi:10.1126/sciadv.aax0587. PMID:31517049.
- Brennecke, D., Ferreira, E.C., Costa, T.M.M., Appel, D., da Gama, B.A.P., and Lenz, M. 2015. Ingested microplastics (>100 nm) are translocated to organs of the tropical fiddler crab *Uca rapax*. *Mar. Pollut. Bull.* **96**(1–2): 491–495. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.05.001. PMID:26013589.
- Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I., and Canning-Clode, J. 2016. Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **178**: 189–195. doi:10.1016/j.ecss.2015.12.003.
- Browne, M.A., Underwood, A.J., Chapman, M.G., Williams, R., Thompson, R.C., and van Franeker, J.A. 2015. Linking effects of anthropogenic debris to ecological impacts. *Proc. Biol. Sci.* **282**(1807): 20142929. doi:10.1098/rspb.2014.2929. PMID:25904661.
- Bruck, S., and Ford, A.T. 2018. Chronic ingestion of polystyrene microparticles in low doses has no effect on food consumption and growth to the intertidal amphipod *Echinogammarus marinus*? *Environ. Pollut.* **233**: 1125–1130. doi:10.1016/j.envpol.2017.10.015. PMID:29037496.
- Bucci, K., Tulio, M., and Rochman, C.M. 2020. What is known and unknown about the effects of plastic pollution: a meta-analysis and systematic review. *Ecol. Appl.* **30**(2): e02044. doi:10.1002/eap.2044. PMID:31758826.
- Canniff, P.M., and Hoang, T.C. 2018. Microplastic ingestion by *Daphnia magna* and its enhancement on algal growth. *Sci. Total Environ.* **633**: 500–507. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.03.176. PMID:29579661.
- Carpenter, E.J., Anderson, S.J., Harvey, G.R., Miklas, H.P., and Peck, B.B. 1972. Polystyrene particles in coastal waters. *Science*, **178**(4062): 749–750. doi:10.1126/science.178.4062.749. PMID:4628343.
- Carrasco, A., Pulgar, J., Quintanilla-Ahumada, D., Perez-Venegas, D., Quijón, P.A., and Duarte, C. 2019. The influence of microplastics pollution on the feeding behavior of a prominent sandy beach amphipod, *Orchestoidea tuberculata* (Nicolet, 1849). *Mar. Pollut. Bull.* **145**: 23–27. doi:10.1016/j.marpolbul.2019.05.018. PMID:31590781.
- Carreras-Colom, E., Constenla, M., Soler-Membrives, A., Cartes, J.E., Baeza, M., Padrós, F., and Carrassón, M. 2018. Spatial occurrence and effects of microplastic ingestion on the deep-water shrimp *Aristeus antennatus*. *Mar. Pollut. Bull.* **133**: 44–52. doi:10.1016/j.marpolbul.2018.05.012. PMID:30041334.
- Cau, S.A., Avio, C.G., Dessi, C., Moccia, D., Pusceddu, A., Regoli, F., et al. 2020. Benthic crustacean digestion can modulate the environmental fate of microplastics in the deep. *Environ. Sci. Technol.* **54**(8): 4886–4892. doi:10.1021/acs.est.9b07705. PMID:32189493.
- Choy, C.A., Robison, B.H., Gagne, T.O., Erwin, B., Firl, E., Halden, R.U., et al. 2019. The vertical distribution and biological transport of marine microplastics across the epipelagic and mesopelagic water column. *Sci. Rep.* **9**(1): 7843. doi:10.1038/s41598-019-44117-2. PMID:31171833.
- Chua, E.M., Shimeta, J., Nugegoda, D., Morrison, P.D., and Clarke, B.O. 2014. Assimilation of polybrominated diphenyl ethers from microplastics by the marine amphipod, *Allorchestes compressa*. *Environ. Sci. Technol.* **48**(14): 8127–8134. doi:10.1021/es405717z. PMID:24884099.
- Cole, M., Lindeque, P.K., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., and Galloway, T.S. 2013. Microplastic ingestion by zooplankton. *Environ. Sci. Technol.* **12**: 6646–6655. doi:10.1021/es400663f. PMID:23692270.
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P.K., Fileman, E.S., Halsband, C., and Galloway, T.S. 2014. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Nat. Sci. Rep.* **4**(4528): 4528. doi:10.1038/srep04528. PMID:24681661.
- Cole, M., Lindeque, P.K., Fileman, E., Halsband, C., and Galloway, T.S. 2015. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. *Environ. Sci. Technol.* **49**(2): 1130–1137. doi:10.1021/es504525u. PMID:25563688.
- Cole, M., Lindeque, P.K., Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., and Galloway, T.S. 2016. Microplastics alter the properties and sinking rates of zooplankton faecal pellets. *Environ. Sci. Technol.* **50**(6): 3239–3246. doi:10.1021/acs.est.5b05905. PMID:26905979.
- Cole, M., Coppock, R., Lindeque, P.K., Altin, D., Reed, S., Pond, D.W., et al. 2019. Effects of nylon microplastic on feeding, lipid accumulation, and moulting in a coldwater copepod. *Environ. Sci. Technol.* **53**(12): 7075–7082. doi:10.1021/acs.est.9b01853. PMID:31125216.
- Courtene-Jones, W., Quinn, B., Ewins, C., Gary, S.F., and Narayanaswamy, B.E. 2019. Consistent microplastic ingestion by deep-sea invertebrates over the last four decades (1976–2015), a study from the North East Atlantic. *Environ. Pollut.* **244**: 503–512. doi:10.1016/j.envpol.2018.10.090. PMID:30366298.
- Critchell, K., and Lambrechts, J. 2016. Modelling accumulation of marine plastics in the coastal zone; what are the dominant physical processes? *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **171**: 111–122. doi:10.1016/j.ecss.2016.01.036.
- Dawson, A.L., Kawaguchi, S., King, C.K., Townsend, K.A., King, R., Huston, W.M., and Nash, S.M.B. 2018. Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. *Nat. Commun.* **9**: 1001. doi:10.1038/s41467-018-03465-9. PMID:29520086.
- De Felice, B., Sabatini, V., Antenucci, S., Gattoni, G., Santo, N., Bacchetta, R., et al. 2019. Polystyrene microplastics ingestion induced behavioral effects to the cladoceran *Daphnia magna*. *Chemos*, **231**: 423–431. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.05.115. PMID:31146134.
- Desforges, J.W., Galbraith, M., and Ross, P.S. 2015. Ingestion of Microplastics by Zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **69**(3): 320–330. doi:10.1007/s00244-015-0172-5. PMID:26066061.
- Devriese, L.I., van der Meulen, M.D., Maes, T., Bekaert, K., Paul-Pont, I., Frère, L., et al. 2015. Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. *Mar. Pollut. Bull.* **98**(1–2): 179–187. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.06.051. PMID:26456303.
- Fang, C., Zheng, R., Zhang, Y., Hong, F., Mu, J., Chen, M., et al. 2018. Microplastic contamination in benthic organisms from the Arctic and sub-Arctic regions. *Chemos*, **209**: 298–306. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.06.101. PMID:29933166.
- Farrell, P., and Nelson, K. 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environ. Pollut.* **177**: 1–3. doi:10.1016/j.envpol.2013.01.046. PMID:23434827.
- Frias, J.P.G.L., and Nash, R. 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Mar. Pollut. Bull.* **138**: 145–147. doi:10.1016/j.marpolbul.2018.11.022. PMID:30660255.
- Frias, J.P.G.L., Otero, V., and Sobral, P. 2014. Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal Waters. *Mar. Environ. Res.* **95**: 89–95. doi:10.1016/j.marenvres.2014.01.001. PMID:24461782.
- Frydkjær, C.K., Iversen, N., and Roslev, P. 2017. Ingestion and egestion of microplastics by the Cladoceran *Daphnia magna*: effects of regular and irregular shaped plastic and sorbed phenanthrene. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **99**(6): 655–661. doi:10.1007/s00128-017-2186-3. PMID:29027571.
- Gambardella, C., Morgana, S., Ferrando, S., Bramini, M., Piazza, V., Costa, E., et al. 2017. Effects of polystyrene microbeads in marine planktonic crustaceans. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **145**: 250–257. doi:10.1016/j.ecoenv.2017.07.036. PMID:28750293.
- Gasper, J., Wright, S.L., Dris, R., Collard, F., Mandin, C., Guerrouache, M., et al. 2018. Microplastics in air: are we breathing it in? *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*, **1**: 1–5. doi:10.1016/j.coesh.2017.10.002.
- Geyer, R., Jambeck, J.R., and Law, K.L. 2017. Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci. Adv.* **3**(7): e1700782. doi:10.1126/sciadv.1700782. PMID:28776036.
- Gigault, J., ter Halle, A., Baudrimont, M., Pascal, P., Gauffre, F., Phi, T., et al. 2018. Current opinion: what is a nanoplastic? *Environ. Pollut.* **235**: 1030–1034. doi:10.1016/j.envpol.2018.01.024. PMID:29370948.
- Goldstein, M.C., and Goodwin, D.S. 2013. Gooseneck barnacles (*Lepas* spp.) ingest microplastic debris in the North Pacific Subtropical Gyre. *PeerJ*, **1**(184): e184. doi:10.7717/peerj.184. PMID:24167779.
- Hämer, J., Gutow, L., Köhler, A., and Saborowski, R. 2014. Fate of microplastics in the marine isopod *Idotea emarginata*. *Environ. Sci. Technol.* **48**(22): 13451–13458. doi:10.1021/es501385y. PMID:25289587.
- Hara, J., Frias, J., and Nash, R. 2020. Quantification of microplastic ingestion by the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* from Irish waters. *Mar. Pollut. Bull.* **152**: 110905. doi:10.1016/j.marpolbul.2020.110905. PMID:31957681.
- Hodgson, D.J., Bréchon, A.L., and Thompson, R.C. 2018. Ingestion and fragmentation of plastic carrier bags by the amphipod *Orchestia gammarellus*: effects of plastic type and fouling load. *Mar. Pollut. Bull.* **127**: 154–159. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.11.057. PMID:29475648.
- Hodson, M.E., Duffus-Hodson, C., Clark, A., Prendergast-Miller, M., and Thorpe, K.L. 2017. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. *Environ. Sci. Technol.* **51**(8): 4714–4721. doi:10.1021/acs.est.7b00635. PMID:28355064.

- Horton, A.A., Vijver, M.G., Lahive, E., Spurgeon, D.J., Svendsen, C., Heutink, R., et al. 2018. Acute toxicity of organic pesticides to *Daphnia magna* is unchanged by co-exposure to polystyrene microplastics. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **166**: 26–34. doi:10.1016/j.ecoenv.2018.09.052. PMID:30243044.
- Iannilli, V., Di Gennaro, A., Lecce, F., Sighicelli, M., Falconieri, M., Pietrelli, L., et al. 2018. Microplastics in *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda): new evidence of ingestion from natural contexts. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **25**(28): 28725–28729. doi:10.1007/s11356-018-2932-z. PMID:30109688.
- Imhof, H.K., Rusek, J., Thiel, M., Wolinska, J., and Laforsch, C. 2017. Do microplastic particles affect *Daphnia magna* at the morphological, life history and molecular level? *PLoS ONE*, **12**(11): e0187590. doi:10.1371/journal.pone.0187590. PMID:29145427.
- Jaikumar, G., Brun, N.R., Vijver, M.G., and Bosker, T. 2019. Reproductive toxicity of primary and secondary microplastics to three cladocerans during chronic exposure. *Environ. Pollut.* **249**: 638–646. doi:10.1016/j.envpol.2019.03.085. PMID:30933761.
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., et al. 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, **347**(6223): 768–770. doi:10.1126/science.1260352. PMID:25678662.
- Jamieson, A.J., Brooks, L.S.R., Reid, W.D.K., Piertney, S.B., Narayanaswamy, B.E., and Linley, T.D. 2019. Microplastics and synthetic particles ingested by deep-sea amphipods in six of the deepest marine ecosystems on Earth. *R. Soc. Open Sci.* **6**(180667): 1–11. doi:10.1098/rsos.180667. PMID:30891254.
- Jemec, A., Horvat, P., Kunej, U., Bele, M., and Krzan, A. 2016. Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Environ. Pollut.* **219**: 201–209. doi:10.1016/j.envpol.2016.10.037. PMID:27814536.
- Katsanevakis, S., Verriopoulos, G., Nicolaidou, A., and Thessalou-Legaki, M. 2007. Effect of marine litter on the benthic megafauna of coastal soft bottoms: a manipulative field experiment. *Mar. Mar. Pollut. Bull.* **54**(6): 771–778. doi:10.1016/j.marpolbul.2006.12.016. PMID:17303184.
- Khan, F.R., Lynn Halle, L., and Palmqvist, A. 2019. Acute and long-term toxicity of micronized car tire wear particles to *Hyalella azteca*. *Aquat. Toxicol.* **213**: 105216. doi:10.1016/j.aquatox.2019.05.018. PMID:31185428.
- Kim, D., Chae, Y., and An, Y. 2017. Mixture toxicity of nickel and microplastics with different functional groups on *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Technol.* **51**(21): 12852–12858. doi:10.1021/acs.est.7b03732. PMID:29019667.
- Kratina, P., Watts, T.J., Green, D.S., Kordas, R.L., and O’Gorman, E.J. 2019. Interactive effects of warming and microplastics on metabolism but not feeding rates of a key freshwater detritivore. *Environ. Pollut.* **255**(Pt. 2): 113259. doi:10.1016/j.envpol.2019.113259. PMID:31563782.
- Lattin, G.L., Moore, C.J., Zellers, A.F., Moore, S.L., and Weisberg, S.B. 2004. A comparison of neustonic plastic and zooplankton at different depths near the southern California shore. *Mar. Pollut. Bull.* **49**(4): 291–294. doi:10.1016/j.marpolbul.2004.01.020. PMID:15341821.
- Lee, K., Shim, W.J., Kwon, O.Y., and Kang, J. 2013. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. *Environ. Sci. Technol.* **47**(19): 11278–11283. doi:10.1021/es401932b. PMID:23988225.
- Ma, Y., Huang, A., Cao, S., Sun, F., Wang, L., Guo, H., and Ji, R. 2016. Effects of nanoplastics and microplastics on toxicity, bioaccumulation, and environmental fate of phenanthrene in fresh water. *Environ. Pollut.* **219**: 166–173. doi:10.1016/j.envpol.2016.10.061. PMID:27814532.
- Mateos-Cárdenas, A., Scott, D.T., Seitmaganbetova, G., van Pelt, F.N.A.M., O’Halloran, J., and Jansen, M.A.K. 2019. Polyethylene microplastics adhere to *Lemna minor* (L.), yet have no effects on plant growth or feeding by *Gammarus duebeni* (Lillj.). *Sci. Total Environ.* **689**: 413–421. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.06.359. PMID:31279188.
- Miller, M.E., Kroo, F.J., and Motti, C.A. 2017. Recovering microplastics from marine samples: a review of current practices. *Mar. Pollut. Bull.* **123**(1–2): 6–18. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.08.058. PMID:28886920.
- Moore, C.J. 2008. Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. *Environ. Res.* **108**(2): 131–139. doi:10.1016/j.envres.2008.07.025. PMID:18949831.
- Moore, C.J., Moore, S.L., Leecaster, M.K., and Weisberg, S.B. 2001. A comparison of plastic and plankton in the North Pacific central gyre. *Mar. Pollut. Bull.* **42**(12): 1297–1300. doi:10.1016/S0025-326X(01)00114-X. PMID:11827116.
- Moore, C.J., Moore, S.L., Weisberg, S.B., Lattin, G.L., and Zellers, A.F. 2002. A comparison of neustonic plastic and zooplankton abundance in southern California’s coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* **44**(10): 1035–1038. doi:10.1016/S0025-326X(02)00150-9. PMID:12474963.
- Murray, F., and Cowie, P.R. 2011. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Mar. Pollut. Bull.* **62**(6): 1207–1217. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.03.032. PMID:21497854.
- Nizzetto, L., Bussi, G., Futter, M.N., Butterfield, D., and Whitehead, P.G. 2016. A theoretical assessment of microplastic transport in river catchments and their retention by soils and river sediments. *Environ. Sci. Processes Impacts*, **18**(8): 1050–1059. doi:10.1039/C6EM00206D. PMID:27255969.
- Ogonowski, M., Schür, C., Jarsén, Á., and Gorokhova, E. 2016. The effects of natural and anthropogenic microplastics on individual fitness in *Daphnia magna*. *PLoS ONE*, **11**(5): e0155063. doi:10.1371/journal.pone.0155063. PMID:27176452.
- Pacheco, A., Martins, A., and Guilhermino, L. 2018. Toxicological interactions induced by chronic exposure to gold nanoparticles and microplastics mixtures in *Daphnia magna*. *Sci. Total Environ.* **628–629**: 474–483. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.02.081. PMID:29453176.
- Paffnhofer, G., and Sant, K.B.V. 1985. The feeding response of a marine planktonic copepod to quantity and quality of particles. *Mar. Ecol.* **27**: 55–65.
- Peixoto, D., Amorim, J., Pinheiro, C., Oliva-Teles, L., Varó, I., de Medeiros Rocha, R., and Vieira, M.N. 2019. Uptake and effects of different concentrations of spherical polymer microparticles on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **176**: 211–218. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.03.100. PMID:30933895.
- Peng, X., Chen, M., Chen, S., Dasgupta, S., Xu, H., Ta, K., et al. 2018. Microplastics contaminate the deepest part of the world’s ocean. *Geochem. Perspect. Lett.* **9**: 1–5. doi:10.7185/geochemlet.1829.
- Piarulli, S., Scapinello, S., Comandini, P., Magnusson, K., Granberg, M., Wong, J.X.W., et al. 2019. Microplastic in wild populations of the omnivorous crab *Carcinus aestuarii*: A review and a regional-scale test of extraction methods, including microfibrils. *Environ. Pollut.* **251**: 117–127. doi:10.1016/j.envpol.2019.04.092. PMID:31075692.
- Potocka, M., Bayer, R., and Potocki, M. 2019. Plastic pollution affects American lobsters, *Homarus americanus*. *Mar. Pollut. Bull.* **138**: 545–548. doi:10.1016/j.marpolbul.2018.12.017. PMID:30660305.
- Powell, M.D., and Berry, A.J. 1990. Ingestion and regurgitation of living and inert materials by the estuarine copepod *Eurytemora affinis* (Poppe) and the influence of salinity. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **31**(6): 763–773. doi:10.1016/0272-7714(90)90081-2.
- Provencher, J.F., Ammendolia, J., Rochman, C.M., and Mallory, M.L. 2019. Assessing plastic debris in aquatic food webs: what we know and don’t know about uptake and trophic transfer. *Environ. Rev.* **27**(3): 304–317. doi:10.1139/er-2018-0079.
- Redondo-Hasselerharm, P.E., Falahudin, D., Peeters, E., and Koelmans, A.A. 2018a. Microplastic effect thresholds for freshwater benthic macroinvertebrates. *Environ. Sci. Technol.* **52**(4): 2278–2286. doi:10.1021/acs.est.7b05367. PMID:29337537.
- Redondo-Hasselerharm, P.E., Ruijter, V.N., Mintenig, S.M., Verschoor, A., and Koelmans, A.A. 2018b. Ingestion and chronic effects of car tire tread particles on freshwater benthic macroinvertebrates. *Environ. Sci. Technol.* **52**(23): 13986–13994. doi:10.1021/acs.est.8b05035. PMID:30407008.
- Rehse, S., Kloas, W., and Zarfl, C. 2016. Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. *Chemos.* **153**: 91–99. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.02.133. PMID:27010171.
- Rehse, S., Kloas, W., and Zarfl, C. 2018. Microplastics reduce short-term effects of environmental contaminants. Part I: effects of Bisphenol A on freshwater zooplankton are lower in presence of polyamide particles. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*, **15**(2): 280–215. doi:10.3390/ijerph15020280. PMID:29415519.
- Remy, F., Collard, F., Gilbert, B., Compère, P., Eppe, G., and Lepoint, G. 2015. When microplastic is not plastic: the ingestion of artificial cellulose fibers by macrofauna living in seagrass macrophytodebris. *Environ. Sci. Technol.* **49**(18): 11158–11166. doi:10.1021/acs.est.5b02005. PMID:26301775.
- Rist, S., Baun, A., and Hartmann, N.B. 2017. Ingestion of micro- and nanoplastics in *Daphnia magna* - quantification of body burdens and assessment of feeding rates and reproduction. *Environ. Pollut.* **228**: 398–407. doi:10.1016/j.envpol.2017.05.048. PMID:28554029.
- Rivera-Hernández, J.R., Fernández, B., Santos-Echeandia, J., Garrido, S., Morante, M., Santos, P., and Albetosa, M. 2019. Biodynamics of mercury in mussel tissues as a function of exposure pathway: natural vs microplastic routes. *Sci. Total Environ.* **674**: 412–423. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.04.175. PMID:31005843.
- Rochman, C.M., Browne, M.A., Underwood, A.J., van Franeker, J.A., Thompson, R.C., and Amaral-Zettler, L.A. 2016. The ecological impacts of marine debris: unraveling the demonstrated evidence from what is perceived. *Ecology*, **97**(2): 302–312. doi:10.1890/14-2070.1. PMID:27145606.
- Sá, L.C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Rocha, T.L., and Futter, M.N. 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: what do we know and where should we focus our efforts in the future? *Sci. Total Environ.* **645**: 1029–1039. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.07.207.
- Santana, M.F.M., Moreira, F.T., and Turra, A. 2017. Trophic transference of microplastics under a low exposure scenario: Insights on the likelihood of particle cascading along marine food-webs. *Mar. Pollut. Bull.* **121**(1–2): 154–159. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.05.061. PMID:28595982.
- Scherer, C., Brennholt, N., Reifferscheid, G., and Wagner, M. 2017. Feeding type and development drive the ingestion of microplastics by freshwater invertebrates. *Sci. Rep.* **7**(1): 17006–17009. doi:10.1038/s41598-017-17191-7. PMID:29208925.
- Scopetani, C., Cincinelli, A., Martellini, T., Lombardini, E., Ciofini, A., Fortunati, A., et al. 2018. Ingested microplastic as a two-way transporter for PBDEs in *Talitrus saltator*. *Environ. Res.* **167**: 411–417. doi:10.1016/j.envres.2018.07.030. PMID:30118960.
- Setälä, O., Norkko, J., and Lehtiniemi, M. 2016. Feeding type affects microplastic ingestion in a coastal invertebrate community. *Mar. Pollut. Bull.* **102**(1): 95–101. doi:10.1016/j.marpolbul.2015.11.053. PMID:26700887.
- Shchapova, E., Nazarova, A., Gurkov, A., Borvinskaya, E., Rzhchitskiy, Y., Dmitriev, I., et al. 2019. Application of PEG-covered non-biodegradable polyelectrolyte microcapsules in the crustacean circulatory system on the example of the amphipod *eulimnogammarus verrucosus*. *Polymers*, **11**(8): 1246. doi:10.3390/polym11081246. PMID:31357585.

- Straub, S., Hirsch, P.E., and Burkhardt-Holm, P. 2017. Biodegradable and petroleum-based microplastics do not differ in their ingestion and excretion but in their biological effects in a freshwater invertebrate *Gammarus fossarum*. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health*, **14**: 774. doi:10.3390/ijerph14070774. PMID:28703776.
- Sun, X., Li, Q., Zhu, M., Liang, J., Zheng, S., and Zhao, Y. 2017. Ingestion of microplastics by natural zooplankton groups in the northern South China Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **115**(1–2): 217–224. doi:10.1016/j.marpolbul.2016.12.004. PMID:27964856.
- Sun, X., Liang, J., Zhu, M., Liang, J., Zhao, Y., and Zhang, B. 2018a. Microplastics in seawater and zooplankton from the Yellow Sea. *Environ. Pollut.* **242**: 585–595. doi:10.1016/j.envpol.2018.07.014. PMID:30014936.
- Sun, X., Liua, T., Zhu, M., Liang, J., Zhao, Y., and Zhang, B. 2018b. Retention and characteristics of microplastics in natural zooplankton taxa from the East China Sea. *Sci. Total Environ.* **640–641**: 232–242. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.308. PMID:29859439.
- Taylor, M.L., Gwynnett, C., Robinson, L.F., and Woodall, L.C. 2016. Plastic microfibre ingestion by deep-sea organisms. *Sci. Rep.* **6**: 33997. doi:10.1038/srep33997. PMID:27687574.
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., et al. 2004. Lost at sea: where does all the plastic go? *Science*, **304**(5672): 838. doi:10.1126/science.1094559. PMID:15131299.
- Tosetto, L., Brown, C., and Williamson, J.E. 2016a. Microplastics on beaches: ingestion and behavioural consequences for beachhoppers. *Mar. Biol.* **163**: 199. doi:10.1007/s00227-016-2973-0.
- Tosetto, L., Williamson, J.E., and Brown, C. 2016b. Trophic transfer of microplastics does not affect fish personality. *Anim. Behav.* **123**: 159–167. doi:10.1016/j.anbehav.2016.10.035.
- Ugolini, A., Pasquali, V., Baroni, D., and Ungherese, G. 2012. Behavioural responses of the supralittoral amphipod *Talitrus saltator* (Montagu) to trace metals contamination. *Ecotoxicology*, **21**(1): 139–147. doi:10.1007/s10646-011-0773-3. PMID:21874546.
- Ugolini, A., Ungherese, G., Ciofini, M., Lapucci, A., and Camaiti, M. 2013. Microplastic debris in sandhoppers. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **129**: 19–22. doi:10.1016/j.ecss.2013.05.026.
- Underwood, A.J., Chapman, M.G., and Browne, M.A. 2017. Some problems and practicalities in design and interpretation of samples of microplastic waste. *Anal. Methods*, **9**(9): 1332–1345. doi:10.1039/C6AY02641A.
- Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbens, J., and Janssen, C.R. 2015. Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. *Mar. Environ. Res.* **111**: 5–17. doi:10.1016/j.marenvres.2015.06.007. PMID:26095706.
- Verschoor, A. 2015. Towards a definition of microplastics: considerations for the specification of physico-chemical properties (116), RIVM Letter Report 2015-0116, Bilthoven.
- Vroom, R.J.E., Koelmans, A.A., Besseling, E., and Halsband, C. 2017. Aging of microplastics promotes their ingestion by marine zooplankton. *Environ. Pollut.* **231**: 987–996. doi:10.1016/j.envpol.2017.08.088. PMID:28898955.
- Wagner, S., Hüffer, T., Klöckner, P., Wehrhahn, M., Hofmann, T., and Reemtsma, T. 2018. Tire wear particles in the aquatic environment - a review on generation, analysis, occurrence, fate and effects. *Water Res.* **139**: 83–100. doi:10.1016/j.watres.2018.03.051. PMID:29631188.
- Wang, J., Wang, M., Ru, S., and Liu, X. 2019. High levels of microplastic pollution in the sediments and benthic organisms of the South Yellow Sea, China. *Sci. Total Environ.* **651**: 1661–1669. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.10.007. PMID:30316086.
- Wang, Y., Zhang, D., Zhang, M., Mu, J., Ding, G., Mao, Z., et al. 2019a. Effects of ingested polystyrene microplastics on brine shrimp, *Artemia parthenogenetica*. *Environ. Pollut.* **244**: 715–722. doi:10.1016/j.envpol.2018.10.024. PMID:30384077.
- Wang, Y., Mao, Z., Zhang, M., Ding, G., Sun, J., Du, M., et al. 2019b. The uptake and elimination of polystyrene microplastics by the brine shrimp, *Artemia parthenogenetica*, and its impact on its feeding behavior and intestinal histology. *Chemos*, **234**: 123–131. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.05.267. PMID:31207418.
- Watts, A.J.R., Lewis, C., Goodhead, R.M., Beckett, S.J., Moger, J., Tyler, C.R., and Galloway, T.S. 2014. Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*. *Environ. Sci. Technol.* **48**(15): 8823–8830. doi:10.1021/es501090e. PMID:24972075.
- Weber, A., Scherer, C., Brennholt, N., Reifferscheid, G., and Wagner, M. 2018. PET microplastics do not negatively affect the survival, development, metabolism and feeding activity of the freshwater invertebrate *Gammarus pulex*. *Environ. Pollut.* **234**: 181–189. doi:10.1016/j.envpol.2017.11.014.
- Welden, N.A.C., and Cowie, P.R. 2016a. Environment and gut morphology influence microplastic retention in langoustine, *Nephrops norvegicus*. *Environ. Pollut.* **214**: 859–865. doi:10.1016/j.envpol.2016.03.067. PMID:27161832.
- Welden, N.A.C., and Cowie, P.R. 2016b. Long-term microplastic retention causes reduced body condition in the langoustine, *Nephrops norvegicus*. *Environ. Pollut.* **218**: 895–900. doi:10.1016/j.envpol.2016.08.020. PMID:27524255.
- Welden, N.A., Abylkhani, B., and Howarth, L.M. 2018. The effects of trophic transfer and environmental factors on microplastic uptake by plaice, *Pleuronectes platessa*, and spider crab, *Maja squinado*. *Environ. Pollut.* **239**: 351–358. doi:10.1016/j.envpol.2018.03.110. PMID:29674213.
- Wilson, D.S. 1973. Food size selection among copepods. *Ecology*, **54**(4): 909–914. doi:10.2307/1935688.
- Woodall, L.C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G.L.J., Coppock, R., Sleight, V., et al. 2014. The deep sea is a major sink for microplastic debris. *R Soc. Open Sci.* **1**(4): 140317. doi:10.1098/rsos.140317. PMID:26064573.
- Wright, S.L., and Kelly, F.J. 2017. Plastic and human health: a micro issue? *Environ. Sci. Technol.* **51**(12): 6634–6647. doi:10.1021/acs.est.7b00423. PMID:28531345.
- Yu, F., Yang, C., Zhub, Z., Bai, X., and Ma, J. 2019. Adsorption behavior of organic pollutants and metals on micro/nanoplastics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* **694**: 133–143.
- Zhang, F., Wang, X., Xu, J., Zhu, L., Peng, G., Xu, P., and Li, D. 2019. Food-web transfer of microplastics between wild caught fish and crustaceans in East China Sea. *Mar. Pollut. Bull.* **146**: 173–182. doi:10.1016/j.marpolbul.2019.05.061. PMID:31426144.
- Ziccardi, L.M., Edgington, A., Hentz, K., Kulacki, K.J., and Driscoll, S.K. 2016. Microplastics as vectors for bioaccumulation of hydrophobic organic chemicals in the marine environment: a state-of-the-science review. *Environ. Toxicol. Chem.* **35**(7): 1667–1676. doi:10.1002/etc.3461.

Capítulo III: **Retenção e ingestão de microplásticos por organismos marinhos em praias do Rio de Janeiro**

Autores: Sorrentino, R., Marques, M., Martinez, S. e Senna, A. R.

RESUMO

A persistência da poluição plástica no ambiente traz ameaças cada vez mais graves a biota. Atualmente, as causas e efeitos da contaminação microplástica no ambiente marinho vem sendo intensamente investigada pela literatura. Estudos analisam o processo de ingestão e retenção de microplásticos (MPs) por uma gama de organismos, além dos processos físico-químicos da adsorção de poluentes químicos, tanto orgânicos como metais pesados. Embora seja conhecido que muitos organismos marinhos consomem MPs, alguns estudos não apresentam observações do ambiente natural e extrapolam a concentração de partículas em testes em laboratório. Além disso, existe uma lacuna de estudos a respeito da contaminação de plásticos em macroalgas e em outros bentônicos sésseis como esponjas e ascídias. Nesse sentido, foi analisada a ingestão de microplásticos *in situ* por espécimes do grupo Amphipoda (Crustacea) coletados em praias do Rio de Janeiro, como também em testes em laboratório. Além da ingestão física, foi analisada a adsorção de diferentes metais pesados nos microplásticos e anfípodes. Como a contaminação de MPs é bioacumulada em diferentes níveis tróficos, a quantidade de MPs nos anfípodes foi correlacionada com aquelas retidas nos substratos naturais em que eram associados. Três substratos naturais, algas, esponjas e ascídias foram coletados, os anfípodes associados foram triados e a presença de MPs foi analisada em todos os organismos. Este trabalho apresenta uma abordagem ampla, com a análise da contaminação de MPs em contexto natural, com experimentos em laboratório e correlação de MPs nos substratos e nos epibiontes anfípodes. Baixas quantidades de microplásticos nos anfípodes foram analisadas, porém aqueles que habitavam as algas apresentaram maiores números de MPs. Pela presença de talos e ramos, as algas apresentam maiores quantidades de MPs, seguido das ascídias e esponjas. Sendo assim, algas são maiores acumuladoras de MPs, mas ainda não está claro os processos que influenciam a filtração das partículas plásticas por ascídias e esponjas. Adicionalmente a esse capítulo, foram apresentados resultados preliminares da adsorção de compostos químicos nos anfípodes (hidrocarbonetos e metais pesados).

Palavras-chave: plásticos, contaminação microplástica, Amphipoda, alga, esponja, ascídia.

ABSTRACT

The persistence of plastic pollution in the environment has intensely increase the threats to biota. Currently, the causes and effects of microplastics contamination in marine environment have been extensively reported. Studies analyse the process of ingestion and retention of microplastics (MPs) by a range of organisms, in addition to the physical-chemical process of adsorption of chemical pollutant, both organic and heavy metals. Although the knowledge of many marine organisms are ingesting MPs, some studies do not present observations of natural environment and extrapolate the concentration of particles in laboratory tests. Furthermore, there is a lack of studies regarding the contamination of plastics in macroalgae, and other sessile benthic animals such as sponges and sea squirts. Thereby, ingestion of MPs in situ by specimens of Amphipoda group (Crustacea) collected on beaches of Rio de Janeiro was analysed, as well as in laboratory tests. In addition to physical intake, the adsorption of different heavy metals on microplastics and amphipods was analysed. As contamination of MPs is bioaccumulated at different trophic levels, the number of MPs in amphipods was correlated with those retained in the substrate in which they were associated. Three natural substrates, algae, sponges, and sea squirts were collected, the associated amphipods were screened, and the presence of MPs was analysed in all organisms. This work reports a broad approach, analysing the contamination of MPs in natural context, with experiments in laboratory, correlation of MPs of substrates and epibionts amphipods. Low amount of microplastics in amphipods were reported, but those inhabiting algae had higher numbers of MPs. Due to the presence of stalks and branches, algae accumulated more MP, followed by sea squirts and sponges. Therefore, algae are the biggest accumulators of MPs, but the processes that influences filtration of plastic particles by sea squirts and sponges are still unclear. In addition to this chapter, preliminary results of adsorption of chemical compounds on amphipods (hydrocarbons and heavy metals) were presented.

Keywords: plastics, microplastic contamination, Amphipoda, Algae, Sponge, Ascidia.

1. INTRODUÇÃO

Diversas publicações científicas, governamentais e não governamentais têm registrado o aumento da contaminação e poluição por microplásticos (MPs) no ambiente marinho (STAP, 2011; NOAA-MDP, 2014; PLASTICEUROPE, ALIMBA et al. 2019). Os microplásticos são geralmente classificados em formatos como pellets, fragmentos e fibras, ou por sua composição polimérica (*e.g.* polietileno, poliamida) (WOODALL et al. 2014; ALIMBA e FAGGIO 2019). Por apresentarem grande área de superfície em relação ao volume (DE SÁ et al. 2018), e características hidrofóbicas, podem adsorver químicos facilmente (WRIGHT e KELLY 2017). Esse processo de adsorção tem comportamento tanto físico como químico, onde depende primeiramente da grande área superficial dos polímeros. Adicionalmente, depende das Forças de Van der Waals (soma das forças atrativas e repulsivas das moléculas) e da afinidade do poluente orgânico com a superfície do plástico quando comparada a água (WANG et al. 2016; AUTA et al. 2017). Polietileno, por exemplo, tem maior área superficial quando comparado a polipropileno e uma intensa afinidade a uma gama de poluentes orgânicos que variam em hidrofobicidade (WANG et al. 2016). Por outro lado, o acúmulo de metais pesados não é estritamente relacionado com o tipo de polímero. Possivelmente pode ser explicado pela adesão de biofilme, que interfere na capacidade de adsorção de metais (BOGUSZ e OLESZCZUCK 2016).

Muitos estudos analisam a ingestão de microplásticos e a transferência da contaminação de poluentes orgânicos e metais pesados em diversos organismos. Estudos reportam a translocação de MP para as células, acúmulo nos tecidos e órgãos, na transmissão de patógenos, como vetor de poluentes tóxicos (AUTA et al. 2017). Entretanto, grande parte dos estudos foca em espécies específicas, poucos exploram comunidades e assembleias. Ainda, poucos trabalhos analisam a contaminação microplástica em fitoplânctons, macroalgas e bentônicos sésseis (LI et al. 2020). Muitos organismos bentônicos são micro-habitats para poliquetas, moluscos, crustáceos e são colonizados por diatomáceas, algas, briozoários, entre outros (JONES et al. 2020). A transferência de MPs e outros contaminantes entre produtores primários como macro-algas para invertebrados pode ocorrer já que esses micro-habitats são depósitos de MPs (GOSS et al. 2018). Organismos filtradores, como ascídias e esponjas filtram muitas partículas que são translocadas para diferentes tecidos (GIRARD et al. 2020), podendo entrar em contato com os epibiontes. No entanto, essa linha de pesquisa ainda é pouco estudada.

Dentre os epibiontes de algas, ascídias e esponjas, os anfípodes são importantes componentes nas comunidades bentônicas, no que diz respeito a biomassa e diversidade de espécies. Possuem diversos hábitos alimentares, sendo importantes consumidores primários e secundários da cadeia trófica. Anfípodes consomem microplásticos naturalmente e em experimentos manipulativos, gerando diminuição da taxa nutricional e elevada mortalidade (CARRASCO et al. 2019). Muitas espécies são sensíveis a mudanças no ambiente, por isso são bons representantes para testes toxicológicos (RODRIGUEZ et al. 2007). Muitos estudos utilizam crustáceos, como os anfípodes, para entender os efeitos causados pela ingestão de microplásticos e a transferência dessa contaminação na cadeia trófica (CUNNINGHAM et al. 2021). Dessa forma, esse estudo abordou amplamente diferentes análises da contaminação de MPs em organismos marinhos. Primeiramente, a contaminação microplástica foi quantificada em anfípodes coletados em diferentes localidades do Rio de Janeiro anteriormente não amostradas, além da execução de testes manipulativos em laboratório como forma de corroborar com a ingestão de MP *in situ*. Com o objetivo de verificar o acúmulo de MPs por diferentes substratos naturais e consequente exposição aos anfípodes associados, três substratos naturais foram coletados e as quantidades de MPs foram analisadas e correlacionadas. Por fim, análises e resultados preliminares de adsorção de químicos contaminantes (metais pesados e hidrocarbonetos) nos MPs e nos anfípodes são apresentados.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo

As coletas para a análise de contaminação de microplásticos foram realizadas em alguns pontos na costa do Estado do Rio de Janeiro. O estado localiza-se na região Sudeste do Brasil e o litoral possuiu 633 km de extensão desde a Barra de Itabapoana até Trindade ao sul do estado. Conforme a orientação da costa, a região é separada por Cabo Frio em dois macro-compartimentos, norte (ou oriental) e sul. A parte norte possui um formato de delta e configura as regiões do Rio Itabapoana, Paraíba do Sul, Macaé até o embaiamento do cabo Búzios-cabo Frio. A região sul é definida pela Região dos Lagos (Arraial do Cabo), Baía de Guanabara, Jacarepaguá, Baía de Sepetiba até a Baía da Ilha Grande e Paraty (MUEHE e VALENTINI 1998; MUEHE e LINS DE BARROS 2016). As regiões são caracterizadas pela presença de rios, lagoas, praia arenosas, dunas, baías e costões rochosos (DIAS e KJERFVE 2009). Algumas regiões são preservadas e consideradas áreas de proteção ambiental, por outro lado, outras são extremamente poluídas e contaminadas, com altas taxas de densidade populacional e excessiva atividade turística.

O material coletado é proveniente das regiões de Armação de Búzios, Baía de Guanabara e região oceânica adjacente, Ilhas Maricás e Ilha Grande (Figura III 1). As águas da Armação de Búzios são muito ricas em nutrientes e significativamente menos impactadas à poluição. O município de Búzios é formado por uma península com 8 quilômetros de extensão e 23 praias. Recebe a Corrente do Brasil, originada da corrente Sul-Equatorial, e a Corrente das Malvinas, provenientes do efeito da Ressurgência. As águas profundas trazem e misturam os nutrientes, que contribuem para alimentação de diversos organismos, como algas, plâncton, e diversos invertebrados e vertebrados (CARBOREL 1998). Búzios, até o momento, é considerado um ambiente não impactado por contaminação urbana. De acordo com Oigman-Pszczol e Creed (2007), a densidade de lixo nas praias de Búzios é significativamente menor comparada a outras regiões do mundo. No entanto, esse quadro pode ter mudado, visto que existe uma lacuna quanto a dados de contaminação e poluição na região, e o turismo e a densidade populacional vem crescendo consideravelmente (IBGE).



Figura III 1: Mapa das localidades amostradas no estado do Rio de Janeiro. Ilha Grande: DR: Dois Rios; JG: Ilha de Jorge Grego; LP: Lopes Mendes. Baía de Guanabara e adjacências: UR:

Urca, BV: Boa Viagem; ITA: Itaipu; MA: Ilhas Maricás. Armação de Búzios: TAR: Tartaruga; FO: Forno; JF: João Fernandinho. Software Qgis 3.4. Coordenadas SIRGAS 2000.

A Baía de Guanabara (BG) é a segunda maior baía do Brasil, situada na parte centro sul do estado do Rio de Janeiro (22° 40'00" e 23° 00'S - 43° 00' e 43° 18'W), um dos centros mais populosos do mundo (FISTAROL et al. 2015). A BG é considerada um dos espaços geográficos mais importantes do estado por apresentar em suas margens uma refinaria de petróleo (REDUC), dois portos comerciais (Niterói e Rio de Janeiro), duas bases navais e um estaleiro da Marinha do Brasil, marinas e dois grandes aeroportos (Aeroporto Santos Dumont e Aeroporto Internacional Tom Jobim). Devido à intensa atividade marítima e turística é considerada um dos sistemas marinhos e estuarinos mais degradados do país (SOARES-GOMES et al. 2016) A baía recebe descargas de drenagem provenientes de mais de 11 milhões de habitantes, onde a contaminação orgânica e metálica tem sido evidente nos últimos anos (KJERFVE et al. 1997; CARREIRA et al. 2002; MACHADO et al. 2008). Na parte oceânica, a leste da Baía de Guanabara na cidade de Niterói, encontra-se o embaiamento de Itaipu que apresenta quatro praias, Piratininga, Sossego, Camboinhas e Itaipú. A região apresenta menor hidrodinamismo devido a presença do morro das Andorinhas e as Ilhas Menina, Mãe e Pai. A região oceânica não apresenta alta densidade populacional quando comparada à Baía de Guanabara, porém o processo de ocupação desde o final dos anos 70 e construção de edifícios à margem da lagoa e praias, vêm ocasionando destruição da vegetação de restinga e das dunas. Com isso, o aumento de poluição por lixo e descargas de esgoto vem se intensificando ao longo do tempo (ECCARD et al. 2017).

O arquipélago das Ilhas Maricás é composto por 3 ilhas sob domínio da Marinha do Brasil e inabitadas. Estão a 28 km da costa, abrigadas e conseqüentemente preservadas. Ainda é uma área inexplorada pela ciência e por programas de monitoramento. Porém, esses programas se tornam necessários visto a construção de emissários de efluentes do complexo petroquímico na região (MORAES et al. 2013). Por apresentarem exposição a diferentes níveis de contaminação, Búzios (Região dos Lagos), Baía de Guanabara e Ilhas Maricás (Maricá) foram definidas como localidades de coleta, onde as regiões foram tratadas como áreas de médio nível de contaminação, alta e baixa, respectivamente.

A Ilha Grande situa-se na Baía da Ilha Grande (BIG), localizada, no sul do Estado do Rio de Janeiro, abrigando os municípios de Angra dos Reis, Itaguaí, Mangaratiba, Paraty e Seropédica. Devido à grande biodiversidade, a BIG é uma área de proteção ambiental, onde

possui o maior número de unidades de conservação do Estado do Rio de Janeiro. A Ilha possui 193 km² e alguns trabalhos exploram a diversidade marinha e terrestre (MMA 2004) da localidade. Entretanto, tendo em visto o rápido crescimento populacional, de atividades turísticas e industriais, maiores investigações de efeitos antropogênicos na região tornam-se necessárias. A densidade populacional da ilha vem aumentando a cada ano, especialmente durante o verão. Como a ilha não possui um manejo de lixo apropriado, muitos resíduos são acumulados nas áreas costeiras (DA COSTA e LIMA 2019).

2.2 Estudo I: Quantificação de MP em Amphipoda *in situ* e experimento manipulativo

2.2.1 Estudo Piloto: Armação de Búzios e Praia de Itaipu (Niterói)

Em função da padronização e adequação da metodologia do estudo e entendimento de possíveis limitações do experimento, duas coletas piloto foram efetuadas. Este estudo foi realizado em Armação dos Búzios, nos costões rochosos das praias: Praia João Fernandinho, Forno e Tartaruga em Março de 2018. A localidade foi escolhida por representar grande cobertura de alga, diversidade e abundância de anfípodes (observação pessoal), adicionalmente pela facilidade de acesso, e por possuir uma base estrutural para realizar o experimento piloto. Nos três pontos, potes plásticos limpos foram utilizados para coletar, de forma arbitrária, tufos de macroalgas. Por meio de mergulho livre, os tufos de algas foram englobados pelos potes para que nenhum organismo, especialmente anfípodes, saísse da amostra. Todo o processo foi realizado rapidamente e com cautela para evitar a contaminação externa por microplásticos. Inicialmente, as amostras não foram fixadas pois seriam utilizadas para realizar um experimento. Utilizaríamos os anfípodes para verificar a taxa de sobrevivência e o comportamento em condições experimentais. Após a coleta, o material foi transferido para um cooler com água do mar fresca para serem transportados até o laboratório. Esperava-se que os organismos sobrevivessem nesse curto prazo (aprox. 30 minutos) de transporte até a base para execução do experimento. Entretanto, os anfípodes morreram antes de chegarmos à base para o teste, possivelmente pela sensibilidade a variação de temperatura. Posteriormente, os organismos foram fixados com etanol 70%.

Nos meses seguintes a Março, novas coletas foram elaboradas, porém executadas sem sucesso pois nos dias de trabalho de campo, condições marítimas (ressacas), climáticas, e acidentes de derramamento de óleo (petróleo reduz abundância de anfípodes (GÓMEZ GESTEIRA e DAUVIN 2000) impossibilitaram a retirada de material suficiente para as análises. Dessa forma, em Setembro e Outubro de 2018, foram efetuadas novas coletas na Praia

de Itaipú (Niterói), devido, novamente, a distância ao estabelecimento da execução do experimento, muitos organismos não sobreviveram. Potes e sacos plásticos foram utilizados para englobar tufo de macroalgas para a amostragem aleatória. Um cooler foi utilizado para dispor o material coletado para sobrevivência dos organismos. Após a coleta dos organismos, o material foi disposto em bandejas limpas, os anfípodes foram pegos com pipetas e colocados em Beckeres 500 ml.

Para a ingestão de microplásticos, partículas de polietileno foram separadas da composição da pasta de dente (Oral B – 3DWhite). Nesse sentido, 6 gramas de pasta foram diluídos em 6 litros de água destilada, durante 12 horas. Após esse período, a água foi filtrada com a utilização de uma bomba a vácuo Primatec 121 e filtros de celulose de 0,45µm (Whatman AE98). Para esse experimento piloto, foram utilizados 11 indivíduos para tratamento e 11 para controle, após 8 horas, os organismos foram fixados e levados para o Laboratório de Carcinologia da UERJ/FFP. Para verificação da ingestão, foi utilizado ácido nítrico como forma de degradação da matéria orgânica e separação do polímero. Em uma capela de exaustão, os organismos foram colocados em beckeres com 0,5 ml de ácido nítrico 100% por 30 minutos, a 60°C. Posteriormente, 5 ml de água destilada foram adicionados em cada Becker para filtragem com a bomba a vácuo. Os filtros foram analisados por meio de um microscópio estereoscópio com câmera acoplada (Bel Photonics, STEREO-ZOOM SÉRIE SZ/SZT), MPs foram contabilizados e classificados em fragmento e fibra

A partir da coleta piloto, o método de separação de MP dos organismos foi definido pelo uso de uma solução de NaCl saturada (1.2 g.cm^{-3} , 358.9g de NaCl em 1L de água destilada), como forma de separar as partículas dos organismos por densidade. O uso da solução saturada como método de separação de MP é de baixo custo, acessível e ambientalmente correto (QUINN et al. 2017). Além disso, foi definido o uso de ácido nítrico para decomposição de matéria orgânica e consequente acesso ao MP localizado no interior dos animais. Adicionalmente, foi observado que são necessários muitos organismos para a execução das réplicas de tratamento e controle do teste, e dessa forma a localidade precisa apresentar alta densidade de anfípodes. Infelizmente, eventos como chuvas e ressacas provocadas pelo inverno, foram a causa da diminuição de cobertura de alga, com ela a redução da abundância de anfípodes e, como resultado, o comprometimento da execução do experimento. Foi observado também que o polietileno da pasta de dente é menos denso que a água do mar e por isso ficou na superfície da água, enquanto os organismos estavam no fundo do copo de Becker. Sendo assim, alternativas foram elaboradas para a execução do estudo.

Para evitar fontes externas de contaminação, houve preferência pelo uso de materiais metálicos e de vidro. Para a amostragem, usamos potes de plástico, os potes de vidro não estavam disponíveis e seu uso seria perigoso para o mergulho. No entanto, os potes foram enxaguados e limpos com água destilada filtrada, bem como com outros materiais. Além disso, os funcionários e alunos usaram jalecos de algodão, as amostras foram cobertas com tampa ou papel alumínio. Soluções, como água salina, foram pré-filtradas antes do uso. Uma placa de Petri com água destilada filtrada, livre de contaminação, foi exposta durante o processamento das amostras para evitar contaminação pelo ar. Essa contaminação foi quantificada e o mesmo tipo de material encontrado nas amostras foi removido para evitar a superestimação dos dados.

2.2.2 Experimento Ilha Grande

Resultados parciais desse experimento foram publicados em: Silva et al. 2021. Ingestion of microplastics by benthic marine organisms in the Ilha Grande Bay Heritage site, Southeastern Brazil. *J. Hum. Environ. Trop. Bays.* 2, 1–13.

Para correlacionar a ingestão de MP *in situ* e experimentos manipulativos em laboratório, novas coletas foram efetuadas. As coletas foram efetuadas na Ilha Grande, durante Agosto e Setembro de 2019. Apesar de existirem estudos de monitoramento na Ilha, ingestão de microplásticos por organismos marinhos ainda não foi explorada. Originalmente, o estudo seria conduzido em três localidades da baía, sendo elas: Praias de Caxadaço e Lopes Mendes, além da Ilha de Jorge Grego. Entretanto, ao efetuar a coleta, mesmo com um grande esforço amostral, havia pouquíssima cobertura de algas, esponjas, ou qualquer substrato que pudesse conter anfípodes associados. Dentro do possível, no mês seguinte (Setembro) as coletas foram realizadas na Praia Dois Rios (lado oceânico) pela acessibilidade de coleta e pela proximidade ao Centro de Estudos Ambientais e Desenvolvimento Sustentável (CEADS). No costão esquerdo da praia foram coletadas amostras de anfípodes associados a macroalga (*Pterocladia* cf. *capillacea*) e ostras por meio de 3 quadracts (Q1, Q2, Q3) de 0,25 m². O material foi coletado por raspagem durante a maré baixa e colocados em sacos plásticos transparentes, previamente limpos. Após a coleta, o material foi levado até o CEADS para execução do experimento.

Para a ingestão de microplásticos, policloreto de vinila (PVC) foi utilizado por representar um dos termoplásticos mais produzidos atualmente (GEYER et al. 2017), além de possuir alta densidade (1.3-1.45 g/cm³) comparada à água do mar. Foi utilizado tubo de PVC preto com o propósito de ser facilmente identificável e para não gerar resultados imprecisos. O

tubo foi ralado e peneirado, e partículas menores que 0,5 mm foram utilizados. O tratamento continha 4 réplicas (Becker de 500 ml) contendo 1 g de PVC com 15 indivíduos cada, além do controle que continha apenas os organismos. Após a coleta o material foi despejado em bandejas limpas e anfípodes foram pegos com pipeta Pasteur individualmente e colocados nos beckeres. O restante dos anfípodes foram triados para análise de ingestão de MP no laboratório (UERJ/FFP). Uma bomba compressora (Boyu Acq-001 25l/m 110v) com divisores de ar foi utilizada, o experimento ocorreu em temperatura ambiente (23 – 25°C), com luz natural em um período de 24 horas. A mortalidade não foi mensurada pois o objetivo central do experimento era relatar a ingestão manipulativa do MP. Após as 24 horas, os organismos foram mortos e fixados em etanol 70% e levados para o Laboratório de Carcinologia da UERJ/FFP. O mesmo método de degradação por ácido e filtragem (do estudo I) foi utilizado para acessar os microplásticos ingeridos.

Uma técnica de análise de MP relativamente nova e pouco utilizada, foi conduzida neste estudo. A microtomografia é uma técnica não invasiva capaz de fornecer imagens tridimensionais das estruturas internas e externas dos organismos (ou materiais) por raio-X. Em parceria com a Universidade Federal Fluminense (UFF) e o professor Dr. Marcos Colaço, utilizamos análise de microtomografia (micro CT modelo Skyscan 1275) para verificar a presença de MP no interior dos anfípodes. Para o primeiro teste, um anfípode proveniente do teste *in vitro* foi colocado em uma ponteira de plástico com etanol 70% (Figura III 2). Após a análise com o microtomógrafo, percebemos que o organismo (Figura III 3) poderia ter maior contraste para a imagem. Com isso, o indivíduo foi corado com iodo por 1 hora, para que as estruturas internas tivessem mais contraste. As leituras no micro CT foram realizadas em aproximadamente uma hora e imagens foram disponibilizadas pelo software do equipamento.

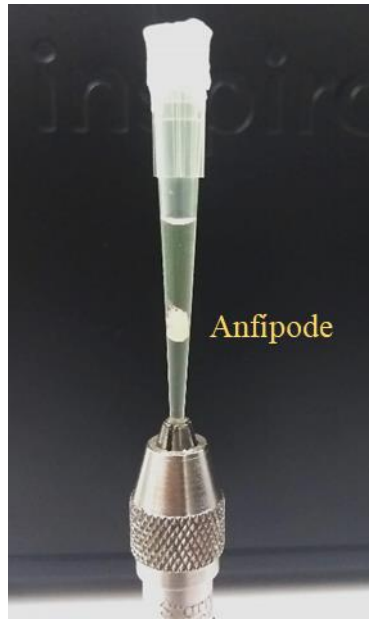


Figura III 2: Anfípode inserido em uma ponteira na base do cromatógrafo.

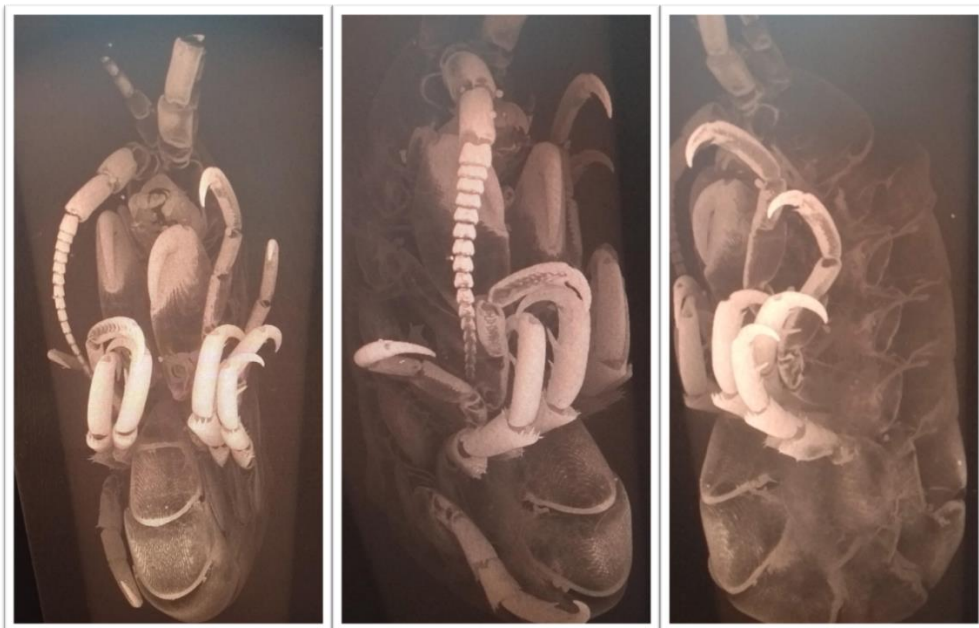


Figura III 3: Imagens geradas pelo microtomógrafo. Um indivíduo anfípode sem contraste por iodo. Microplásticos não puderam ser identificados na amostra.

2.3 Estudo II: Correlação da retenção de MP em substratos naturais e seus epibiontes anfípodas

Nesse estudo a correlação da abundância de microplásticos ingeridos por anfípodas e retidos nos substratos naturais foi analisada. Para isso, em Setembro, Outubro, Dezembro de 2019 e Janeiro 2020 amostragens foram realizadas na Praia João Fernandinho (Armação de

Búzios), na baía de Guanabara incluindo Praia da Urca (Rio de Janeiro) e Boa Viagem (Niterói), Praia de Itaipu (região oceânica de Niterói) e por fim, nas Ilhas Maricás (mais amostragens seriam realizadas, mas foram impossibilitadas devido a Pandemia do COVID-19). Durante maré baixa os organismos foram coletados manualmente nos costões rochosos (profundidade 1 – 6 metros) através de mergulho livre e autônomo. A coleta foi realizada de forma arbitrária e como os organismos possuem distribuição dispersa, especialmente ascídias, quadracts e transectos não foram utilizados. Três amostras forneceram a quantidade de substratos e anfípodes suficientes para a análise, bem como tempo satisfatório para coletar o material durante a maré baixa. Nenhuma espécie específica de algas, ascídias e esponjas foi definida pois cada localidade possui diferentes espécies. Entretanto, sempre mantendo a coleta dos três tipos de substratos.

Cada organismo foi cuidadosamente englobado por potes previamente limpos, de forma rápida, para evitar a fuga dos anfípodes e saída de microplásticos. Posteriormente, o material foi fixado com etanol 70% e levado para o Laboratório de Carcinologia da UERJ/FFP. No laboratório, amostras de esponjas e ascídias foram picotadas para retirar os anfípodes associados. Cada substrato foi colocado individualmente em um recipiente com solução hipersalina para separar os MPs. Após 24 horas, a mesma técnica de filtração mencionada anteriormente foi utilizada. Os anfípodes adultos ($5 > 10$ mm) de cada substrato foram triados, identificados e separados por família. Anfípodes caprelídeos foram excluídos da análise devido a diferenciação morfológica. Esses organismos possuem o abdômen reduzido e por isso apenas anfípodes com o formato arredondado foram selecionados. Para analisar possível diferença de ingestão de plásticos, os anfípodes de cada substrato foram agrupados em família e degradados com ácido nítrico. Devido à limitação de equipamentos, FT-IR não estava disponível para caracterização dos polímeros. Os microplásticos do anfípodes e dos substratos foram contabilizados e classificados em fragmento e fibra. Resultado de microplástico em anfípodes foi apresentado em MP dividido por número de indivíduos.

A análise de correlação do número de MPs ingeridos e encontrados nos substratos foi executada no software Rstudio (versão 1.3.959). Teste de normalidade foi examinado com Shapiro-Wilk ($p > 0.05$). Como os dados não foram normalmente distribuídos e o n amostral foi pequeno, correlação de Kendall foi calculada. Valor de $p < 0.05$ foi considerado estatisticamente significativo.

2.4 Estudo III: Experimento preliminar da adsorção de metais pesados e HPA em PVC e anfípodes

2.4.1 Análise da adsorção de metais pesados em PVC e anfípodes

A primeira etapa do experimento foi o processo de adsorção de metais nos microplásticos. Cromo (Cr), cádmio (Cd), chumbo (Pb) e zinco (Zn) foram utilizados para adsorver aos fragmentos de PVC, por serem compostos químicos contaminantes e serem carregados por partículas plásticas. Além disso, esses metais são fáceis de manipulação e eram compostos disponíveis no laboratório de Química da UERJ (Maracanã). Os microplásticos (~0,3 g) foram adicionados em beckeres de 25 mL com 10 mL de solução com 1 ppm dos analitos. Após 4 dias, retirou-se parte do sobrenadante de cada um dos metais e filtrou-se com membrana Millex' VG (0,22 µm) em um frasco vial de 5 mL para a leitura dos analitos. Os elementos foram atomizados em chama por espectrometria de absorção atômica (Modelo AAS-240, VARIAN) utilizando ar/acetileno e lâmpadas de cátodo oco para cada elemento. A partir da análise de adsorção, percebeu-se que cádmio, chumbo e zinco não adsorveram ao PVC, então a amostra PVC + cromo foi utilizada para o teste com anfípodes. Dessa maneira, utilizamos os outros metais para analisar o nível adsorção diretamente nos anfípodes (sendo um teste de contaminação de metais e não de ingestão de MPs). Desse modo, temos as amostras PVC + Cr + Amphipoda, Cr + Amphipoda, Cd + Amphipoda, Pb + Amphipoda e Zn + Amphipoda, todos os metais com 1 ppm de concentração.

Os anfípodes foram coletados em Janeiro de 2020 na Praia da Urca (Baía da Guanabara, Rio de Janeiro). Tufos de algas e ascídias foram amostrados de forma arbitrária para retirar os anfípodes associados. Foram utilizados sacos e potes plásticos limpos para englobar os substratos para impedir que os epibiontes fugissem. O material foi transportado em cooler para sobrevivência dos organismos até o laboratório para início do experimento. Com uma pipeta os anfípodes foram pegos e adicionados em beckeres com 500 mL de água do mar. No teste PVC + Cr foram adicionados 44 indivíduos, enquanto no teste com apenas metais foram adicionados de 52 a 77 indivíduos. Após 24 horas os organismos foram mortos, separados e as amostras de água e dos anfípodes do experimento com PVC foram analisadas em triplicata.

Uma alíquota de 4 mL da água do mar já acidificada com o auxílio de uma micropipeta de 1000 µL – 5000 µL para o vaso digestor foi tomada e foram adicionados 1 mL de ácido nítrico PA concentrado e de água oxigenada (30%). Amostras foram aquecidas em micro-ondas por 4 minutos e resfriados a temperatura ambiente. O digestivo foi filtrado em um balão

volumétrico de 50 mL através de um funil de vidro com papel de filtro para análise. Para as amostras de anfípodes, o único passo anterior a adição de ácido nítrico é a secagem da amostra em uma estufa (40 °C por 2 horas). A partir da concentração lida pelo equipamento, calculou-se o resultado da amostra baseado em:

$$\text{mg/L} = (\text{mg/L} - \text{Br}) \times 50/v$$

mg/L = leitura realizada na amostra

Br = leitura realizada no branco

50 = volume em (mL) da amostra digerida (25 mL para amostra de crustáceos)

V = alíquota (mL) da amostra

Em parceria com o Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente (CIENAM/UFBA), concentrações de mercúrio (Hg) foram analisadas em anfípodes também coletados na Praia da Urca a partir do analisador de mercúrio específico DMA-80 Tri Cell espectrofotômetro (Milestone, Sorisole (BG), Italy). Este equipamento não exige pré-tratamento das amostras, dessa forma o material foi pesado (0,0161 mg) em bolas de níquel e inserido para análise. As etapas de análise seguiram de: secagem (200 °C por 80 segundos), decomposição termal (650 °C por 180 segundos) e detecção e resfriamento (100 segundos). Todas as etapas foram realizadas sob um fluxo de oxigênio para transportar os produtos de decomposição através de um caminho aquecido para o catalisador, onde o Hg gasoso fica preso. Todos os tipos de mercúrio são reduzidos para Hg⁰ e são carregados em um amalgamador de ouro e seletivamente presos. Posteriormente, o amalgamador é aquecido para liberar o Hg e transportá-lo para as células de detecção (R. Sorrentino e S. Martinez comunicação pessoal).

2.4.2 Análise de hidrocarbonetos em anfípodes

Amostras provenientes da Praia da Urca também foram analisadas quanto a concentração de HPA em parceria com CIENAM/UFBA. Primeiramente as amostras foram liofilizadas por 24 horas e macerados. Para extração, todos os frascos utilizados foram descontaminados com metanol (24 °C por 15 minutos) e diclorometano (27 °C por 15 minutos). Em um recipiente, 0,1 g da amostra de anfípodes foram adicionados com 50 µL de composto padrão deuterado (sem iluminação por 60 minutos). 5 mL de diclorometano: hexano (1:1) foram adicionados como solvente, a amostra foi agitada por 1 minuto e colocada em um ultrassônico (30 °C) por 30 minutos. Em uma coluna de vidro (4 cm comprimento, 0.5 cm

largura) foram adicionadas alanina e sílica desativada (5%, 95%) e o solvente (1,5 mL) até a saída do volume morto. A leitura dos compostos foi realizada através de cromatografia de gás acoplada a um detector de espectrometria de massa GC-MS QP2010 Ultra (Shimadzu, Japão), equipado com amostrador automático AOC-20i e injetor operando em 310 °C e tempo de purga de 0,08 minutos empregado a análise de HPA. O volume injetado para análise foi 1,00 µL (SOLA et al. 2020).

3 RESULTADOS

3.1 Estudo I

Na coleta piloto de Itaipu e Búzios, os anfípodes foram identificados como pertencentes às famílias Maeridae (*Elasmopus* sp.) e Ampithoidae. Foram encontrados 14 itens de fragmentos e 20 fibras em 220 organismos, considerando microfibras com maior densidade (Figura III 4).

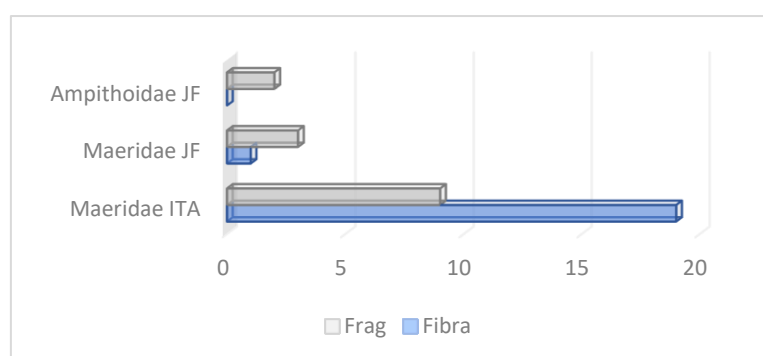


Figura III 4: Microplásticos encontrados em 220 anfípodes. Maeridae ITA 165 indivíduos, Maeridae João Fernandinho (JF) 30 indivíduos e Ampithoidae (JF) 25 indivíduos.

Nas coletas de Jorge Grego e Lopes Mendes (Ilha Grande) (Tabela III 1), foram identificados 31 espécimes de Ampithoidae e Hyalidae, além de 9 espécimes de Leucothoidae (*Leucothoe* sp.) e Maeridae (*Quadrimaera* sp.). O tamanho dos organismos variou de 4-8 mm e foram encontrados 5 microplásticos retidos nos organismos (SILVA et al. 2021). As famílias identificadas no material de Dois Rios são pertencentes às famílias Hyalidae e Maeridae (*Elasmopus* sp.). MPs encontrados foram resultantes dos organismos dos quadracts Q1 e Q3 (Tabela III 2). O material controle proveniente do experimento em laboratório não continha nenhum material semelhante ao PVC e os tratamentos não ingeriram nenhuma partícula de MPs durante o experimento.

Tabela III 1: Fragmentos ingeridos pelos anfípodes em Jorge Grego e Lopes Mendes.

<i>Jorge Grego</i> <i>/Lopes Mendes</i>	<i>Ind.</i>	<i>Frag.</i>	<i>Cor</i>	<i>Comprimento</i> <i>máximo (mm)</i>
Ampithoidae	31	1	preto	0.08
Hyalidae	31	1	preto	0.1
Maeridae	9	1	azul	0.7
Leucothoidae	9	2	transparente	0.7/0.1

Tabela III 2: Microplásticos ingeridos pelos anfípodes de Dois Rios. Q1 – 3 quadracts da coleta e controle do experimento manipulativo.

<i>Amostra</i>	<i>Ind.</i>	<i>Frag</i>	<i>Fibra</i>	<i>Cor</i>	<i>Comprimento máximo</i> <i>(mm)</i>
Q1	5	1	-	azul	1.1
Q2	46	-	-	-	-
Q3	23	1	-	azul	0.8
Controle	60	2	-	rosa	0.3/0.1
		-	1	rosa	0.4
		-	1	azul	0.07
		-	2	roxo	0.8/0.3
		-	1	preto	0.3

3.2 Estudo II

Os substratos coletados estão apresentados na Tabela III 3. *Sargassum* sp. foi a alga mais encontrada entre as localidades amostradas, além do registro também de *Jania* sp. e tufo de algas não identificadas. As esponjas foram *Aplysina* sp., Chalinidae e algumas espécies não identificadas. Adicionalmente, ascídias foram identificadas como *Phallusia nigra*, *Chavelina oblonga* e *Syela plicata*. Microplásticos foram registrados em todos os organismos coletados (232 itens), com predominância de fibras, 146 itens. Para todas as observações, algas retiveram maiores concentrações de MP, 56% de todos os itens, seguido de ascídias (27%) e esponjas (17%). Comparando a abundância de MP nas espécies de ascídias, *P. nigra* reteve mais partículas (40 itens), seguido de *C. oblonga* (19) e *S. plicata* (4).

Tabela III 3: Lista de substratos coletados e o total de microplásticos (fragmentos e fibras) retidos (JF: Praia João Fernandinho; UR: Urca; BV: Boa Viagem; ITA: Itaipu; MA: Ilhas Maricás).

<i>Local</i>	<i>Substrato</i>	<i>MP no substrato</i>		<i>Total de MP</i>
		Frag	Fibra	
JF	<i>Sargassum</i> sp.	15	52	67
	<i>Aplysina</i> sp.	10	1	11
	<i>Phallusia nigra</i>	13	27	40
UR	Algae	9	3	12
	Porifera	3	1	4
BV	Algae	7	12	19
	Algae	3	14	17
ITA	Porifera	10	2	12
	<i>Clavelina oblonga</i>	3	6	9
	<i>Styela plicata</i>	3	1	4
	<i>Sargassum</i> sp.	1	9	10
MA	<i>Jania</i> sp.	3	1	4
	Chalinidae	2	11	13
	<i>Clavelina oblonga</i>	4	6	10
	TOTAL	86	146	232

João Fernandinho teve a maior abundância de MPs nos organismos (51%), em seguida, Itaipu (18%), Maricás (16%), Boa Viagem (8%) e Urca (7%) (Figura III 6). Infelizmente, esponjas e ascídias não foram encontradas em Boa Viagem, o que certamente contribuiu para a baixa quantidade de MP. Comprimento de fibras variou de 0.09 até 4.9 mm e fragmentos de 0.04 a 3.0 mm, apresentando média de comprimento de 1.1 mm. A respeito das cores, houve uma predominância de microplásticos azuis (67,7%), seguido de preto (10%), rosa (5,7%) e roxo (4,8%) (Anexo III 1).

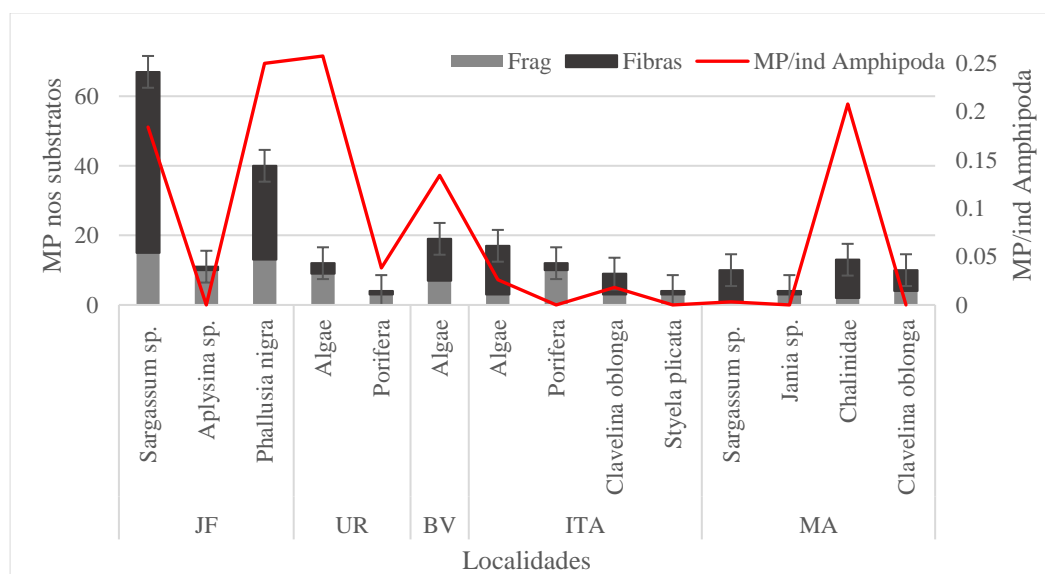


Figura III 5: Presença de MPs nos substratos e nos anfípodes associados nos locais amostrados. Colunas cinzas representam fragmentos e pretas fibras. Linha vermelha mostra o número de MP/indivíduos de anfípode.

Um total de 3.063 indivíduos foram analisados e identificados em 11 famílias. A maior riqueza de famílias foi encontrada em Maricás (8 famílias). Foram encontrados 20 fragmentos e 17 famílias em todos os anfípodes, com média de 0,01 MP por indivíduo. Maeridae e Synopiidae (0,2 MP/ind.) apresentaram maior número de MP/ind., em seguida, Ischyroceridae (0,1 MP/ind.) (Figura III 6). De acordo com as características dos MPs, foi observado uma média de 0,8 mm de comprimento, com maior representatividade de MPs azuis (32%), rosa, roxo, preto (16%) e seguido de verde e colorido (8%) (Anexo III 2).

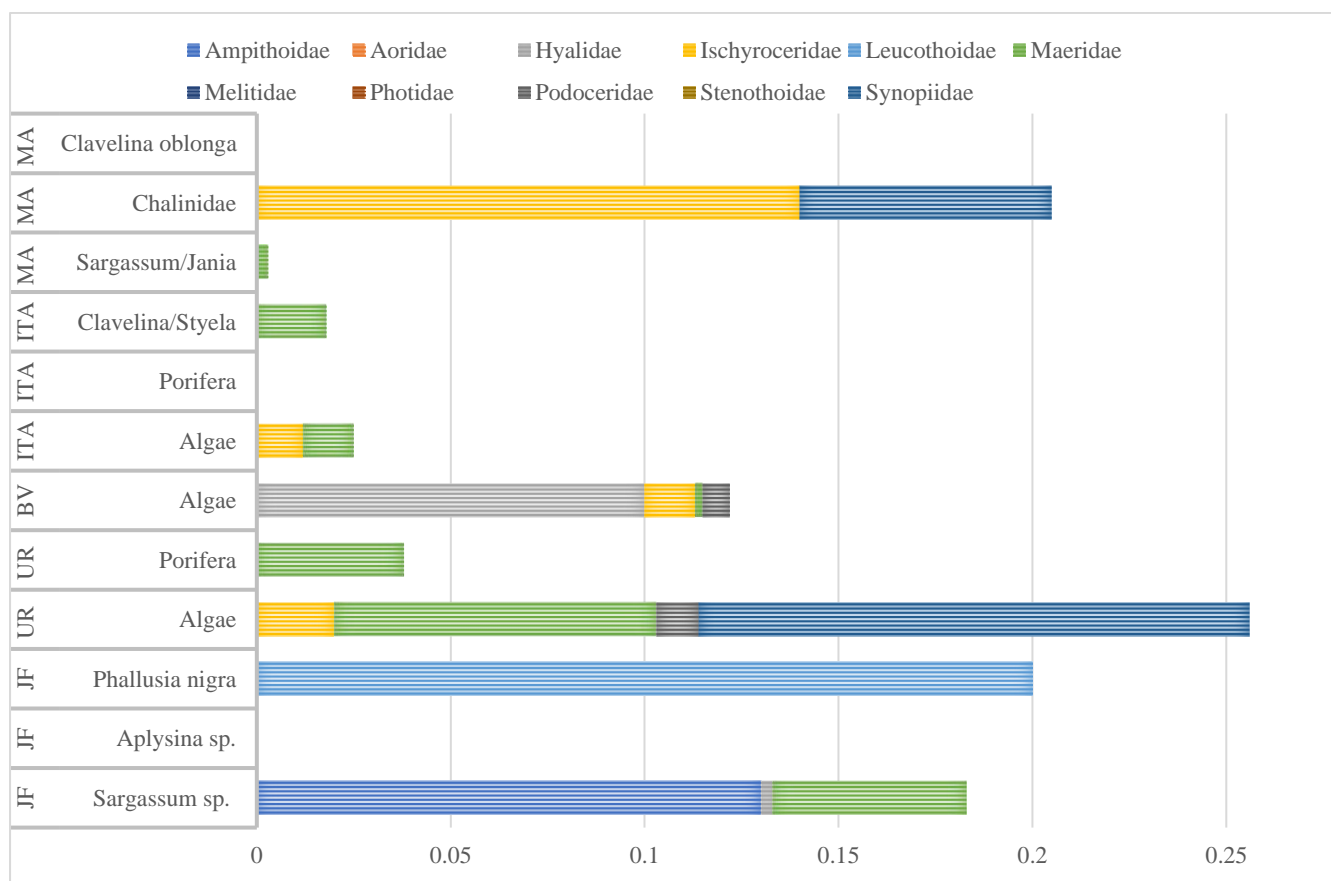


Figura III 6: Microplásticos/indivíduos de Amphipoda nas famílias analisadas.

A correlação entre a abundância de MPs em algas ($p = 0,07$), esponjas e ascídias ($p = 0,09$) e anfípodes não foi observada (Anexo III 3). Entretanto, os epibiontes de JF tiveram mais MPs por indivíduo (39%), corroborando com o resultado anterior (Figura III 6). Ao contrário da abundância de MP nos substratos coletados na Urca, anfípodes dessa localidade

apresentaram a segunda maior densidade de MP (26%). Foi observado que epibiontes associados a algas retiveram mais MPs/ind. (54%) (associados a ascídias 24% e esponjas 22%). Anfípodes coletados nas esponjas de JF e ITA e aqueles associados a *Clavelina oblonga* (Ascidiacea) de MA não tiveram microplásticos ingeridos.

3.3 Estudo III

Dentre todos os metais analisados no processo de adsorção no PVC, apenas o cromo foi adsorvido (Tabela III 4). Percebe-se que com a adição de 1 ppm de metal, na parte líquida analisada restou apenas 0,012, resultando em adsorção pelo PVC quase completa. Os outros metais estudados não foram adsorvidos no PVC devido à composição química do polímero. Nos resultados preliminares (Tabela III 5) das amostras da Urca, o chumbo apresentou maior concentração na água do mar e zinco nos anfípodes. Cd, Pb e Zn apresentaram maiores concentrações nos anfípodes, além do 1 ppm que foi adicionado. Dentre os hidrocarbonetos aromáticos analisados nos anfípodes, nenhum foi conclusivamente mensurado pela cromatografia, porém, foram identificados hidrocarbonetos não aromáticos como os alcanos.

Tabela III 4: Valores obtidos pelo espectrofotômetro de absorção atômica das amostras líquidas contendo PVC e metais pesados. Cr na amostra líquida está inferior a amostra inicial com 1 ppm de concentração, ou seja, o PVC adsorveu 1,032 da concentração adicionada.

Amostra	Cr	Cd	Pb	Zn
1 ppm Cr	1,044			
PVC + metal	0,012			
1 ppm Cd		0,953		
PVC + Metal		0,842		
1 ppm Pb			0,98	
PVC + Metal			0,98	
1 ppm Zn				1,0104
PVC + Zn				over

Tabela III 5: Valores preliminares obtidos pelo espectrofotômetro de absorção atômica das amostras da água do mar, anfípodes e adsorção dos metais. ND: Não detectado. < LQ = menor que o limite de quantificação do aparelho. LQ= limite de quantificação. LD Cr = 0,0061 ppm; LD

Cd = 0,027 ppm; LD Pb = 0,035 ppm; LD Zn = 0,0055 ppm. LQ Cr = 0,0186 ppm; LQ Cd = 0,081 ppm; LQ Pb = 0,106 ppm; LQ Zn = 0,0165 ppm *Massa do crustáceo seco = 0,0339.

Amostra	Cr mg/L	Cd mg/L	Pb mg/L	Zn mg/L	Hg(mg/Kg)
Água do mar	ND	0,09	0,58	ND	-
Amphipoda	0,002	0,006	0,07	0,9	0,1
Amphipoda + 1 ppm de Cr	0,61	-	-	-	-
Amphipoda + 1 ppm de Cd	-	1,58	-	-	-
Amphipoda + 1 ppm de Pb	-	-	2,00	-	-
Amphipoda + 1 ppm de Zn	-	-	-	1,53	-
Cr + PVC	<LQ	-	-	-	-
Amphipoda* + Cr + PVC	ND	<LQ	0,20 mg/g	0,19 mg/g	-

4. DISCUSSÃO

4.1 Estudo I

Durante a pesquisa piloto e as seguintes coletas, mesmo com grande esforço amostral, a pouca densidade de anfípodes comprometeu a execução de parte do estudo e é importante ressaltar que esses estudos pilotos e preliminares determinaram pontos importantes para execução do estudo: melhor estruturação de delineamento amostral, especialmente na definição de pontos que possuem cobertura satisfatória de substratos; escolha adequada de microplásticos e a necessidade de laboratórios com infraestrutura específica (aquários e ambientes climatizados, bombas de compressão mais potentes) para execução de experimentos *in vitro*. A respeito da pesquisa executada na Ilha Grande, este foi o primeiro estudo que abordou a contaminação microplástica em organismos bentônicos na região, em especial para Lopes Mendes (SILVA et al. 2021). Nos estudos de monitoramento das praias da Ilha Grande, plásticos são os resíduos mais representativos, desde as praias do lado oceânico como das praias dentro de vilas (mais próximas ao continente) (MACEDO et al. 2017; MADUREIRA et al. 2017; SILVA et al. 2021). Em relação à contaminação de MPs, praias localizadas na parte sul da ilha, principalmente Dois Rios, têm apresentado grande abundância de MPs provenientes

de ações de ondas, fragmentação de macroplásticos (MACEDO et al. 2019) e a presença dos rios que trazem partículas de outras localidades.

Apesar da baixa quantidade de microplásticos nos anfípodes, qualquer ingestão mesmo que mínima, está sujeita a ser bioacumulada na cadeia trófica. Especialmente por anfípodes serem organismos abundantes e fazerem parte da dieta de diversos vertebrados e invertebrados marinhos. A Ilha Grande é fortemente representada por uma comunidade pesqueira tradicional e contaminações como essas podem atingir a oferta de peixes, moluscos e especificamente crustáceos de interesse econômico. Aqui relata-se resultados iniciais da ingestão de microplásticos por anfípodes (ascídias foram incluídas em análises paralelas SILVA et al. 2021). Porém, futuras investigações de acúmulo de MPs nos organismos devem ser continuadas e mais profundamente estudadas.

4.2 Estudo II

Esse é o primeiro estudo que relaciona contaminação de MP em diferentes substratos naturais e seus anfípodes epibiontes. A comparação e análise da retenção de MP nesses organismos são importantes para entender o transporte contaminação microplástica. Como esses substratos são habitados por diversos animais, os microplásticos são transferidos diretamente pela cadeia trófica. Mais de 50% dos MPs foram retidos por algas e seus anfípodes associados. Essas descobertas afirmam que as estruturas das algas, como galhos, estipes e talos, prendem as partículas de plástico que ficam disponíveis para os organismos associados. A aderência de MPs foi relatada em algas *Fucus vesiculosus* por meio de experimentos de laboratório (GUTOW et al. 2016), com a adição de concentração extrapolada de partículas de poliestireno (SUNDAEK et al. 2018), em alga comestível nori fresca *Pyropia* sp. (LI et al. 2020), bem como em lâminas de macroalgas e ervas marinhas do ambiente natural (FENG et al. 2020; GOSS et al. 2018; SENG et al. 2020). JONES et al. (2020) também analisaram MP em ervas marinhas e biota associada, porém, MPs ingeridos por anfípodes foram menos frequentes do que aqui, mesmo quantificando mais animais. No entanto, esses resultados demonstram que os produtores primários são potenciais depósitos e acumuladores de MPs para seus organismos associados.

Estudos que exploram a retenção de MPs em esponjas marinhas e ascídias são ainda menos comuns. Estudos sobre esponjas, relatam absorção de grânulos de plástico por experimentos em laboratório (TURON et al. 1997; LEYS e EERKES-MEDRANO 2006) e alguns relataram MPs incorporados em amostras de esponjas coletadas diretamente do

ambiente (MODICA et al. 2020; CELIS-HERNANDES et al. 2021; FALLOW e FREEMAN 2021; GIRARD et al. 2021). Como esses estudos mediram a concentração de MP em MP g⁻¹ de tecido seco, nossos resultados não são comparáveis. No entanto, o comprimento dos MPs está alinhado com o do presente estudo, comprimento mínimo 0,1 mm (MODICA et al. 2020), e principalmente no que diz respeito à pouca concentração de fibras maiores (3 – 5 mm) retidas nas esponjas (FALLON e FREEMAN 2021). Seguindo o que é sugerido, os MPs entram no mesoólio por filtração ativa e o organismo pode selecionar o tamanho, preferindo partículas muito pequenas (0,01 – 0,02 mm). Fibras maiores incorporariam o corpo da esponja por processo de endocitose, mas os experimentos que induzem a absorção de MP por exopinacócitos são necessários para entender essa ocorrência. Esses estudos confirmariam uma possível seleção do tamanho das partículas, se a água transportaria todas as partículas, ou qual processo influenciaria a fibra a ser embutida e incorporada no mesoólio, conforme mostrado em esponjas de coleções de museus (FALLON e FREEMAN 2021; MODICA et al. 2021). De fato, as esponjas podem absorver fibras desde águas rasas a áreas profundas, pois as fibras são distribuídas e acumuladas em costões rochosos rasos e em sedimentos profundos. Adicionalmente, os anfípodes associados às esponjas habitam a espongiocele onde a água já é filtrada pelo hospedeiro (THIEL 1999). Possivelmente isso justifique a menor quantidade de MP ingerida pelos anfípodes. Porém, mesmo que esses epibiontes habitem uma estrutura mais fechada, quando comparada a algas, por exemplo, o fluxo da água realizado pela esponja também expõe os anfípodes a contaminação por partículas de plástico.

No momento, apenas quatro estudos relataram MPs em ascídias (MESSINETTI et al. 2018; 2019; VERED et al. 2019; SILVA et al. 2021). Dentre esses, os dois estudos experimentais de MESSINETTI et al. (2018; 2019) relataram efeitos da contaminação no crescimento juvenil de ascídias. Conforme demonstrado por MESSINETTI et al. (2018), alguns espécimes podem sentir a microesfera e rejeitá-la pelo sifão oral com contrações corporais. Embora os MPs tenham se acumulado, translocado para o sistema circulatório intestinal e causado desenvolvimento lento dos juvenis, o processo de captação e translocação através dos tecidos e órgãos ainda são incertos. Em relação à análise de ascídias no ambiente natural, *Herdmania momus*, *Microcosmus exasperatus* (VERED et al. 2019) e *Phallusia nigra* (SILVA et al. 2021) foram relatadas ingerindo MPs. Aqui, *P. nigra* reteve dois terços do número de MPs em ascídias (40 itens), seguida pela ascídia colonial *Clavelina oblonga* (19) e *Styela plicata* (4). Como o processo de captação de MP pelas ascídias é pouco investigado, é difícil sugerir fatores que influenciam nessa ingestão. No entanto, em espécies solitárias e

coloniais, o nível de fluxo de água, tentáculos, estruturas no sifão oral e cestos branquiais podem influenciar a absorção e retenção de partículas nos corpos da ascídia. Espécies de anfípodes habitam o corpo da ascídia, geralmente nos cestos branquiais, onde a água que entra ainda não é filtrada (THIEL 1999). Desta forma, MP acumulado ou translocado para o cesto branquial torna-se disponível para os anfípodes associados.

Não houve correlação entre MPs encontrados em substratos e anfípodes. A ingestão de MPs por anfípodes de água doce, entremarés, pelágicos e bentônicos tem sido comumente relatada (BRUCK e FORD 2018; WEBER et al. 2018; YARDY e CALLAGHAN 2020; MATEOS-CÁRDENAS et al. 2021), porém poucos estudos investigam a ingestão de MP em contextos naturais (JAMIESON et al. 2019; JONES-WILLIAMS et al. 2019). Estudos recentes não relatam efeitos na sobrevivência, ingestão de alimentos, desenvolvimento corporal e metabolismo (BRUCK e FORD 2018; WEBER et al. 2018), e os anfípodes consomem mais alimento quando a concentração de MP é zero (CARRASCO et al. 2019). Os mecanismos pelos quais os anfípodes têm para selecionar alimentos na presença de MPs precisam de uma investigação mais aprofundada. Mas os anfípodes parecem preferir alimentos com alta qualidade nutricional (CARRASCO et al. 2019). Nesse estudo, isso pode explicar uma possível preferência do anfípode pelo consumo de alimento e, conseqüentemente, pouco interesse na ingestão de MP. Adicionalmente, não houve diferença na ingestão de partículas entre as famílias. Muitos fatores podem influenciar a ingestão de MP, como o tamanho, formato dos plásticos e peças bucais dos animais (WU et al. 2021). Esses anfípodes são detritívoros, herbívoros e carnívoros, porém a relação do hábito alimentar com a ingestão de MP ainda não está clara. Estudos realizados com crustáceos e outros grupos de organismos ainda não trazem evidências suficientes sobre os mecanismos que afetam a localização, identificação e ingestão ativa dos microplásticos (BOTTERELL et al. 2020; PIARULLI et al., 2020).

Este estudo focou na presença da contaminação microplástica em organismos bentônicos de costões rochosos. Em relação à concentração de MP em torno das localidades no Rio de Janeiro, as fibras foram as mais comuns, o que está de acordo com outros estudos (GOSS et al. 2018; JONES et al. 2020; LI et al. 2020; SENG et al. 2020). Comparando os locais, a praia de João Fernandinho (JF) apresentou maior número de plásticos. Este resultado foi inesperado porque áreas mais poluídas e densamente povoadas estão relacionadas com alta concentração de MP (BROWNE et al. 2015). No entanto, comparando todos os locais, JF tem uma preferência intensa pelas atividades de pesca e uso recreativo, como mergulho livre e tráfego de embarcações (OIGMAN-PSZCZOL e CREED 2007). Além disso, esta área

apresenta elevada atividade turística, o que pode contribuir para o elevado número de MPs. Da mesma forma, a praia de Itaipu tem grande uso recreativo e atividades pesqueiras. Maricás (MA), Boa Viagem (BV) e Urca (UR) também apresentaram densidades inesperadas de MP. MA é uma área bem preservada e com baixa atividade humana, que acreditava-se ter menos partículas de plástico. Mas a ausência de estudos na área dificulta a comparação e discussão. Por outro lado, BV e UR situam-se na Baía de Guanabara, uma região cercada por uma grande área metropolitana, com graves transtornos ambientais (presença de poluentes orgânicos, metais pesados e resíduos) (CARVALHO e BAPTISTA NETO 2016). Devido a essa característica, esperava-se que ambos os locais contribuíssem mais para a quantidade de MPs. Porém, pela ausência de estudos sobre MP em organismos do costão rochoso dessas duas praias, uma elaboração comparativa é dificultada. Estudos sobre MP em praias próximas à UR apresentaram menor número de MP do que dentro da baía (CARVALHO e BAPTISTA NETO 2016; OLIVATTO et al. 2019). A Urca localiza-se na entrada da baía, longe dos rios, o que pode contribuir para a menor quantidade de MP relatada no trabalho. Além disso, a falta de amostras de esponjas e ascídias em BV possivelmente contribuíram para um menor número de MPs.

4.3 Estudo III

Durante a fabricação do termoplástico policloreto de vinila, são adicionados metais para incorporar características. Chumbo, cádmio, zinco, possuem propriedades de estabilização térmica ocorrida pela degradação (WYPYCH 1979). Sendo assim, o polímero não adsorveria mais concentrações de Cd, Pb, Zn. Embora o Cr tenha sido adsorvido, suas concentrações no experimento com anfípodes foi muito baixa, impedindo a quantificação pelo aparelho.

Os resultados preliminares não suportam uma discussão elaborada, pois é necessária maior massa de material para ser analisado e mais repetições. Especialmente pela análise de metais nos anfípodes ter apresentado maiores concentrações além da adicionada. Possivelmente, algum resíduo (sedimento) da água pode ter contaminado a amostra e aumentado a concentração. Contudo, é importante ressaltar algumas informações a respeito da contaminação de metais, polímeros e organismos marinhos. Existem duas maneiras gerais que MPs interagem com metais, eliminando de sua matriz polimérica e adsorvendo os metais que estão no ambiente aquoso (TURNER et al. 2020). Alguns fatores interferem esses processos químicos, como tamanho, área superficial e tipo do polímero, características químicas dos metais e as condições ambientais. Essa interação exhibe três tipos de efeitos para os organismos

marinhos, sinérgico, antagônico e efeito potencializador (CAO et al. 2021). O primeiro é a soma do efeito dos dois poluentes, antagônico seria a redução de biodisponibilidade do metal no ambiente pela capacidade de adsorver no microplástico, e por último quando um químico que normalmente não teria efeito toxicológico, interage com um que possui esse potencial (BHAGAT et al. 2020; CAO et al. 2021). Efeitos na fisiologia, reprodução, mobilidade e mortalidade são relatados em muitos grupos de organismos (LIU et al. 2021), porém anfípodes não são comumente estudados nesse sentido. Dessa forma, são investigados efeitos toxicológicos em anfípodes como bioindicador de contaminação metálica. Alguns metais, como o zinco, são reportados de concentrarem mais em anfípodes coletados no campo do que em testes em laboratório, enquanto cromo, parece não se acumular nesses organismos (UGOLINI et al. 2004; 2012). Poderíamos inferir que essa observação justificaria a não detecção de cromo nas amostras de anfípodes + Cr + PVC. Porém, experimentos aprofundados são necessários para a construção de uma conclusão.

Alcanos foram identificados nas amostras de anfípodes coletados na Praia da Urca. Esses compostos estão associados a queima de combustível (gasolina, diesel), parafina e óleo mineral, que são conhecidos por serem liberados na área não somente da Urca, como também na Baía de Guanabara. Entretanto, para definição da concentração e da caracterização do alcano pelo método de cromatografia gasosa (GC-MS), são necessárias maiores densidades da amostra.

5. CONCLUSÃO

Alguns desafios foram encontrados durante a execução dos experimentos desse estudo, principalmente os relacionados à amostragem e manipulação de anfípodes. Entretanto, alguns dados até o momento inexplorados para a ciência são relatados aqui. Esse estudo fornece informações importantes sobre a suscetibilidade de organismos bentônicos à contaminação por MP, especialmente em locais no Rio de Janeiro não estudados anteriormente. Substratos naturais em costões rochosos são excelentes microhabitats para muitos organismos. Eles fornecem aos epibiontes um local protegido para se desenvolver, recrutar e de recursos alimentares. A presença de MPs nestes substratos, ou qualquer outro poluente, contribui para a passagem dessa contaminação através da cadeia trófica. Embora os anfípodes não tenham apresentado uma quantidade intensa de MP no estudo, outros organismos podem ser vulneráveis a essas partículas, como caranguejos e moluscos. Pesquisas futuras são necessárias para esclarecer os mecanismos que influenciam principalmente a absorção de MPs por

esponjas, ascídias e anfípodes. Adicionalmente, maior atenção deve ser aplicada no entendimento do processo de filtração da água desses animais, o acúmulo de partículas no tecido e a biodisponibilidade de MPs para os organismos associados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALIMBA, C. G. e FAGGIO, C. 2019. Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. 68, 61–74.

AUTA, H. S.; EMENIKE, C. U.; FAUZIAH, S.H. 2017. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. **Environment International**. 102, 165–176.

BHAGAT, J., NISHIMURA, N., SHIMADA, Y. 2020. Toxicological interactions of microplastics/nanoplastics and environmental contaminants: current knowledge and future perspectives. **Journal of Hazardous Material**. 405, 123913.

BOGUSZ, A. e OLESZCZUCK, P. 2016. Microplastics in the environment: characteristic, identification and potential risk. *In*: Olszówka M. e Maciąg K. (red.), Nauka w służbie przyrodzie: wybrane zagadnienia, **Fundacja na Rzecz Promocji Nauki i Rozwoju Tygiel Lublin**, 61–73.

BOTTERELL, Z.L.R.; BEAUMONT, N.; COLE, M.; HOPKINS, F.E.; STEINKE, M.; THOMPSON, R.C.; LINDEQUE, P.K. 2020. Bioavailability of Microplastics to Marine Zooplankton: Effect of Shape and Infochemicals. **Environmental Science & Technology**. 54 (19), 12024–12033.

BRUCK, S. e FORD, A.T. 2018. Chronic ingestion of polystyrene microparticles in low doses has no effect on food consumption and growth to the intertidal amphipod *Echinogammarus marinus*? **Environmental Pollution**. 233, 1125–1130.

CAO, Y.; ZHAO, M.; MA, X.; SONG, Y.; ZUO, S.; LI, H.; D, W. 2021. A critical review on the interactions of microplastics with heavy metals: Mechanism and their combined effect on organisms and humans. **Science of the Total Environment**. 788, 147620.

CARBOREL, C. 1998. Modelling of upwelling in the coastal area of Cabo Frio (Rio de Janeiro - Brazil). **Revista Brasileira de Oceanografia**. 46 (1), 1–17.

CARRASCO, A.; PULGAR, J.; QUINTANILLA-AHUMADA, D.; PEREZ-VENEGAS, D.; QUIJÓN, P. A.; DUARTE, C. 2019. The influence of microplastics pollution on the feeding behavior of a prominent sandy beach amphipod, *Orchestoidea tuberculata* (Nicolet, 1849). **Marine Pollution Bulletin**. 145, 23–27.

CARREIRA, R. S.; WAGENER, A. L. R.; READMAN, J. W.; FILEMAN, T. W.; MACKO, S.A., VEIGA, A. 2002. Changes in the sedimentary organic carbon pool of a fertilized tropical estuary, Guanabara Bay, Brazil: an elemental, isotopic and molecular marker approach. **Marine Chemical**. 79, 207–227.

CARVALHO, D.G e BAPTISTA NETO, J.A 2016. Microplastic pollution of the beaches of Guanabara Bay, Southeast Brazil. **Ocean and Coast Management**. 128, 10–17.

CELIS-HERNÁNDEZ, O.; ÁVILA, E.; WARD, R. D.; RODRÍGUEZ-SANTIAGO, M. A.; AGUIRRE-TELLEZ, J. A. 2021. Microplastic distribution in urban vs pristine mangroves: Using marine sponges as bioindicators of environmental pollution. **Environmental Pollution**. 284, 117391.

CUNNINGHAM, E. M.; CUTHBERT, R. N.; COUGHLAN, N. E., KREGTING, L., CAIRNDUFF, V.; DICK, J. T.A. 2021. Microplastics do not affect the feeding rates of a marine predator. **Science of the Total Environment**. 779, 146487.

DA COSTA A. J. S. T. e LIMA C. S. 2019. Recicla ilha: uma proposta de gestão para os resíduos sólidos urbanos em Ilha Grande/RJ. XIII ENANOPEGE.

https://www.enanpege2019.anpege.ggf.br/resources/anais/8/1560558070_ARQUIVO_trabalhocompletocongresso.pdf. Acessado em 14 Abril de 2020.

DE SÁ, L. C.; OLIVEIRA, M.; RIBEIRO, F.; ROCHA, L.; FUTTER, M. N. 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future? **Science of the Total Environment**. 645, 1029–1039.

DIAS, G. T. M. e KJERFVE B. 2009 Chapter 7 Barrier and Beach Ridge Systems of the Rio de Janeiro Coast. *In: Geology and geomorphology of Holocene coastal barriers of Brazil*. Springer, Berlin, pp 380.

ECCARD, L. R.; DA SILVA, A. L. C.; SILVESTRE, C. P. 2017. Variações morfológicas nas praias oceânicas de Niterói (RJ, Brasil) em resposta à incidência de ondas de tempestades. **Revista Brasileira de Geografia Física**. 10 (01), 206–218.

FALLON, B. F. e FREEMAN, C. J. 2021. Plastics in Porifera: The occurrence of potential microplastics in marine sponges and seawater from Bocas del Toro, Panamá. **PeerJ**. 9, e11638 DOI 10.7717/peerj.11638.

FENG, Z.; ZHANG, T.; SHI, H.; GAO, K.; HUANG, W.; XU, J.; WANG, J.; WANG, R.; LI, J.; GAO, G. 2020. Microplastics in bloom-forming macroalgae: Distribution, characteristics and impacts. **Journal Hazardous Material**. 397, 122752.

FISTAROL, G. O.; COUTINHO, F. H; MOREIRA, A. P. B.; VENAS, T.; CÁNOVAS, A.; DE PAULA S. E. M. JR.; COUTINHO, R.; DE MOURA, R. L.; VALENTIN, J. L.; TENENBAUM, D. R.; PARANHOS, R.; DO VALLE, R. A. B.; VICENTE, A. C. P.; AMADO FILHO, G. M.; PEREIRA, R. C.; KRUGER, R.; REZENDE, C. E.; THOMPSON, C. C.; SALOMON, P. S.; THOMPSON, F. L. 2015. Environmental and sanitary conditions of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. **Frontiers in Microbiology**. 6: 1232.

GIRARD, E. B.; FUCHS, A.; KALIWODA, M.; LASUT, M.; PLOETZ, E.; SCHMAHL, W. W.; WORHEIDE, G. 2020. Sponges as bioindicators for microparticulate pollutants?. **Environmental Pollution**, 268, 115851.

GEYER, R.; JAMBECK, J.R.; LAW, K.L. 2017. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances**. 3(7): e1700782. doi:10.1126/sciadv.1700782.PMID:28776036.

GODOI, V. A.; CALADO, L.; WATANABE, W. B.; YAGINUMA, L. E.; Bastos, M. 2011. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, Campos dos Goytacazes/RJ. 5(2), 27–44.

GÓMEZ GESTEIRA, J. L e DAUVIN, J. C. 2000. Amphipods are Good Bioindicators of the Impact of Oil Spills on Soft-Bottom Macrobenthic Communities. **Marine Pollution Bulletin**. 40(11), 1017–1027,

GOSS, H.; JASKIEL, J.; ROTJAN, R. 2018. *Thalassia testudinum* as a potential vector for

incorporating microplastics into benthic marine food webs. **Marine Pollution Bulletin**. 135, 1085–1089.

GUTOW, L.; ECKERLEBE, A.; GIMÉNEZ, L.; SABOROWSKI, R. 2016. Experimental Evaluation of Seaweeds as a Vector for Microplastics into Marine Food Webs. **Environmental Science Technology**. 50(2), 915–923.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rj/armacao-dos-buzios/panorama> Visitado em 28 de Abril de 2021.

JONES, K. L.; HARTL, M. G. J.; BELL, M. C.; CAPPER, A. 2020. Microplastic accumulation in a *Zostera marina* L. bed at Deerness Sound, Orkney, Scotland. **Marine Pollution Bulletin**. 152, 110883.

JONES-WILLIAMS, K.; GALLOWAY, T.; COLE, M.; STOWASSER, G.; WALUDA, C.; MANNO, C. 2020. Close Encounters - Microplastic availability to pelagic amphipods in sub-Antarctic and Antarctic surface waters. **Environment International**. 140, 105792.

KJERFVE, B.; RIBEIRO, C. H. A.; DIAS, G. T. M.; FILIPPO, A. M.; QUARESMA, V. S. 1997. Oceano-graphic characteristics of an impacted coastal bay: Baía de Guanabara, Rio de Janeiro, Brazil. **Continental Shelf Research**. 17, 609–1643.

LEYS, S. P. e EERKES-MEDRANO, D. I. 2006. Feeding in a calcareous sponge: particle uptake by pseudopodia. **Biology Bulletin**. 211, 2. 157–171 DOI 10.2307/4134590.

LI, Q.; FENG, Z.; ZHANG, T.; MA, C. SHI, H. 2020. Microplastics in the commercial seaweed nori. **Journal of Hazardous Materials**. 388, 122060.

LIU, S.; SHI, J.; WANG, J.; DAI, Y.; LI, H.; LI, J.; LIU, X.; CHEN, X.; WANG, Z.; ZHANG, P. 2021. Interactions Between Microplastics and Heavy Metals in Aquatic Environments: A Review. **Frontiers in Microbiology**. 12, 652520. doi: 10.3389/fmicb.2021.652520.

MACEDO, A. V.; SILVA, A. L. C.; MADUREIRA, E. A. L.; SILVESTRE, C. P. 2017. Poluição por lixo nas praias de abraão e preta na borda setentrional-oriental da Ilha Grande (Angra dos Reis, RJ) e o impacto socio-ambiental. *In*: Perez Filho A, Amorin RR. **Os desafios da geografia física na fronteira do conhecimento**. Campinas, pp 3009-3014.

MACEDO, A. V.; SILVA, A. L. C.; MADUREIRA, E. A. L. 2019. Ocorrência e distribuição de microplásticos no litoral da Ilha Grande (Angra dos Reis, RJ). *In*: **Geografia Física e as**

Mudanças Globais Edition: UFC.

MACHADO, W.; SANTELLI, R. E.; LOUREIRO, D. D.; OLIVEIRA, E. P.; BORGES, A. C.; MA, V. K.; LACERDA, L.D. 2008. Mercury accumulation in sediments along an eutrophication gradient in Guanabara Bay, Southeast Brazil. **Journal of Brazilian Chemical Society**. 19, 569–575.

MADUREIRA, E. A. L.; DA SILVA, A. L. C.; MACEDO, A. V.; GRALATO, J. C. A. 2017. Análise da composição, distribuição e origem do lixo nas praias oceânicas de Dois Rios e Lopes Mendes na Ilha Grande (Angra dos Reis, RJ). In: Perez Filho A, Amorin RR. **Os desafios da geografia física na fronteira do conhecimento**. Campinas, pp 3015-3020.

MATEOS-CÁRDENAS, A.; O'HALLORAN, J.; VAN PELT, F. N. A. M.; JANSEN, M. A.K. 2021. Beyond plastic microbeads – Short-term feeding of cellulose and polyester microfibers to the freshwater amphipod *Gammarus duebeni*. **Science of Total Environment**. 753, 141859. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141859>.

MESSINETTI, S., MERCURIO, S., PAROLINI, M., SUGNI, M., PENNATI, R. 2018. Effects of polystyrene microplastics on early stages of two marine invertebrates with different feeding strategies. **Environmental Pollution**. 237, 1080–1087.

MESSINETTI, S.; MERCURIO, S.; SCARÌ, G.; PENNATI, A.; PENNATI, R. 2019. Ingested microscopic plastics translocate from the gut cavity of juveniles of the ascidian *Ciona intestinalis*. **The European Zoological Journal**. 86, 1, 189–195. DOI: 10.1080/24750263.2019.1616837.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). 2004. **Biodiversidade marinha da Baía da Ilha Grande, RJ**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/publicacoes/biodiversidade/category/142-serie-biodiversidade.html?download=914:serie-biodiversidade-biodiversidade-23&start=20>.

MODICA, L.; LANUZA, P.; GARCÍA-CASTRILLO, G. 2020. Surrounded by microplastic, since when? Testing the feasibility of exploring past levels of plastic microfibre pollution using natural history museum collections. **Marine Pollution Bulletin**. 151, 5996, 110846. DOI 10.1016/j.marpolbul.2019.110846.

- MORAES, F. M.; BERTONCINI, Á.; AGUIAR, A. 2013 História, pesquisa e biodiversidade do Monumento Natural das Ilhas Cagarras. *In*: Fernando Moraes, Áthila Bertoncini, Aline Aguiar. – Rio de Janeiro: Museu Nacional, 2013. 299 p.: il. color.; 28 cm. – (Série Livros; 48).
- MUEHE, D. e LINS DE BARROS F. M. 2016. The Beaches of Rio de Janeiro. *In*: Andrew D. Short; Antonio Henrique da F. Klein. (Org.). **Brazilian beach systems**. 1st ed. Springer International Publishing, Switzerland, 231–229.
- MUEHE, D. e VALENTINI, E. 1998. O Litoral do Rio de Janeiro: uma caracterização físico-ambiental. *In*: Dieter M. e Valentini, E. – Rio de Janeiro: FEMAR, 1998. 123p.; il. ISBN 85-85966-09-2 Cooperação Técnica Brasil-Alemanha, Projeto PLANAGUA-SEMAGTZ.
- NOAA-MDP (National Oceanic and Atmospheric Administration Marine Debris Program). 2014. Report on the Entanglement of Marine Species in Marine Debris With an Emphasis on Species in the United States. Silver Spring, MD 28 pp.
- OIGMAN-PSZCZOL, S. e CREED, J. C. 2007. Quantification and classification of marine litter on Beaches along Armação dos Búzios, Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Coastal Research**. 232, 421–428.
- OLIVATTO, G.P., MARTINS, M.C.T., MONTAGNER, C.C., HENRY, T.B., CARREIRA, R. 2019. Microplastic contamination in surface waters in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**. 139, 157–162.
- PIARULLI, S.; VANHOVE, B.; COMANDINI, P.; SCAPINELLO, S.; MOENS, T.; VRIELINCK, H.; SCIUTTO, G.; PRATI, S.; MAZZEO, R.; BOOTH, A.M.; VAN COLEN, C.; AIROLDI, L. 2020. Do different habits affect microplastics contents in organisms? A trait-based analysis on salt marsh species. **Marine Pollution Bulletin**. 153, 110983.
- PLASTICEUROPE. 2017. Plastics. The Facts 2017: an Analysis of European Plastics Production, **Demand and Waste Data**. pp. 1–44.
- RODRÍGUEZ, E. M.; MEDESANI, D. A.; FINGERMAN, M. 2007. Endocrine disruption in crustaceans due to pollutants: A review. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A** 146, 661–671.
- SENG, N., LAI, S., FONG, J., FAIQ, M., CHENG, C., CHEOK, Z.Y., TODD, P. 2020. Early Evidence of Microplastics on Seagrass and Macroalgae. **Marine and Freshwater Research**. 71, 8, 922–928 <https://doi.org/10.1071/MF19177>.

SILVA, P.C.A.; SORRENTINO, R.; RAMOS, B.S.; SENNA, A.R.; SKINNER, L.F. 2021. Ingestion of microplastics by benthic marine organisms in the Ilha Grande Bay Heritage site, Southeastern Brazil. **Journal Humanity and Environment of Tropical Bays**. 2, 1–13. DOI:10.12957/jheotb.2021.60332.

SUNDBAEK, K. B.; DUE, I.; KOCH, W.; GREVE VILLARO, C.; RASMUSSEN, N. S.; HOLDT, S.L.; HARTMANN, N. B. 2018. Sorption of fluorescent polystyrene microplastic particles to edible seaweed *Fucus vesiculosus*. **Journal of Applied Phycology**. 30, 2923–2927.

SOARES-GOMES, A.; GAMA, B.; NETO, J.; FREIRE, D.; CORDEIRO, R.; MACHADO, W.; BERNARDES, M.; COUTINHO, R. THOMPSON, F.; PEREIRA, R. 2016. An environmental overview of Guanabara Bay, Rio de Janeiro. **Regional Studies in Marine Science**. 8 (2), 319-330.

STAP (Scientific and Technical Advisory Panel). 2011. Marine debris as a global environmental problem introducing a solutions-based framework focused on plastic. A Scientific and Technical Advisory Panel Information Document. 40 pp.

QUINN, B.; MURPHY, F.; EWINS, C. 2017. Validation of density separation for the rapid recovery of microplastics from sediment. **Analytical Methods**, [S. l.], 9 (9), 1491–1498.

THIEL, M. 1999. Host-use and population demographics of the ascidian dwelling amphipod *Leucothoe spinicarpa* : indication for extended parental care and advanced social behaviour, **Journal of Natural History**, 33, 2. 193–206, DOI: 10.1080/002229399300371.

TURON, X.; GALERA, J.; URIZ, M.J. 1997. Clearance rates and aquiferous systems in two sponges with contrasting life-history strategies. **Journal of Experimental Zoology**. 278, 22–36. DOI 10.1002/(SICI)1097-010X(19970501)278:1<22:AID-JEZ3>3.0.CO;2-8.

UGOLINI, A.; BORGHINI, F., CALOSI, P.; BAZZICALUPO, M.; CHELAZZI, G.; FOCARDI, S. 2004. Mediterranean *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda) as a biomonitor of heavy metals contamination. **Marine Pollution Bulletin**, 48, 526–532.

UGOLINI, A.; PASQUALI, V.; BARONI, D.; UNGHERESE, G. 2012. Behavioural responses of the supralittoral amphipod *Talitrus saltator* (Montagu) to trace metals contamination. **Ecotoxicology**. 21, 139–147.

VERED, G.; KAPLAN, A.; AVISAR, D.; SHENKAR, N. 2019. Using solitary ascidians to assess microplastic and phthalate plasticizers pollution among marine biota: A case study of

the Eastern Mediterranean and Red Sea. **Marine Pollution Bulletin**. 138, 618–625. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.013>.

WANG, J.; TAN, Z.; PENG, J.; QIU, Q.; LI, M. 2016. The behaviors of microplastics in the marine environment. **Marine Environmental Research**. 113, 7–17.

WEBER, A.; SCHERER, C.; BRENNHOLT, N.; REIFFERSCHIED, G.; WAGNER, M. 2018. PET microplastics do not negatively affect the survival, development, metabolism and feeding activity of the freshwater invertebrate *Gammarus pulex*. **Environment Pollution**. 234, 181–189.

WOODALL, L. C.; SANCHEZ-VIDAL, A.; CANALS, M.; PATERSON, G. L. J.; COPPOCK, R.; SLEIGHT, V.; CALAFAT, A.; ROGERS, A. D.; NARAYANASWAMY, B. E.; THOMPSON, R. C. 2014. The deep sea is a major sink for microplastic debris. **Royal Society Open Science**. 1: 140317.

WRIGHT S. L e KELLY, F. J. 2017. Plastic and human health: a micro issue? **Environmental Science Technology**. 51 (12), 6634–6647.

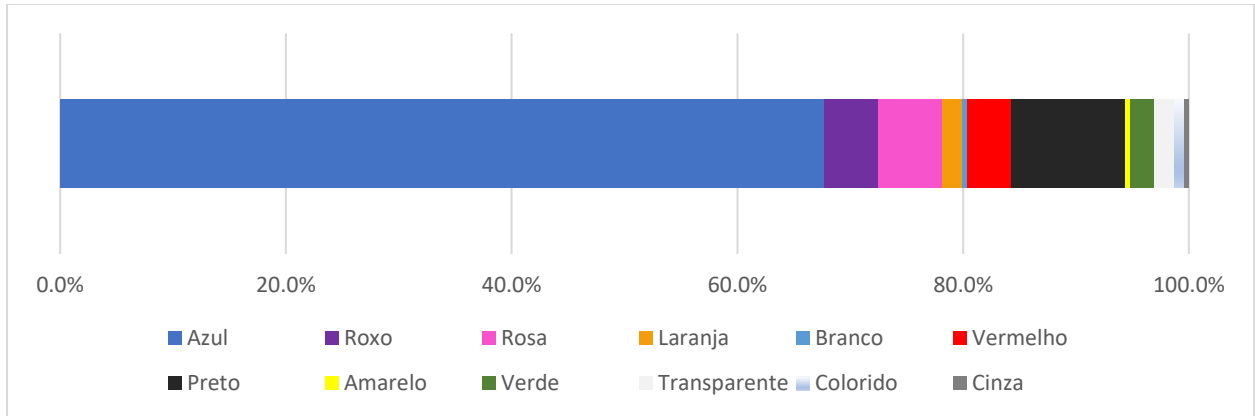
WU, M.; JIANG, Y.; KWONG, R. W. M.; BRAR, S. K.; ZHONG, H.; JI, R. 2021. How do humans recognize and face challenges of microplastic pollution in marine environments? A bibliometric analysis. **Environment Pollution**. 280, 116959. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116959>.

WYPYCH, J. 1979. Mechanism of Action of PVC Thermal Stabilizers. **Journal of Applied Polymer Science**. 23, 39 –54.

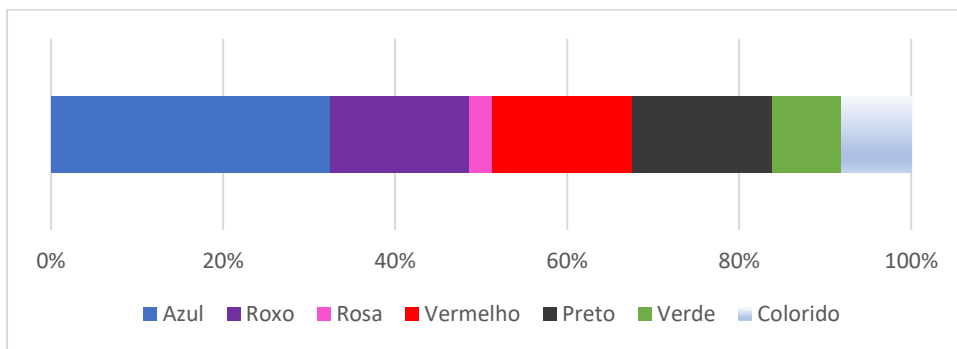
YARDY, L.; CALLAGHAN, A. 2020. What the fluff is this? - *Gammarus pulex* prefer food sources without plastic microfibers. **Science of Total Environment**. 715, 136815.

7. ANEXOS

Anexo III 1: Predominância em porcentagem das cores dos microplásticos encontrados nos substratos alga, ascídia e esponja.



Anexo III 2: Porcentagem de cores dos microplásticos encontrados nos anfípodos.



Anexo III 3: Resultados do Rstudio dos testes de correlação de Kendall.

kendall's rank correlation tau

```
data: algae$mpsubs and algae$mpind
z = 1.7816, p-value = 0.07481
alternative hypothesis: true tau is not equal to 0
sample estimates:
      tau
0.3974131
```

kendall's rank correlation tau

```
data: porifera$mpsubs and porifera$mpind
z = 1.6543, p-value = 0.09806
alternative hypothesis: true tau is not equal to 0
sample estimates:
      tau
0.3690264
```

kendall's rank correlation tau

```
data: ascidia$mpsubs and ascidia$mpind
z = 1.6543, p-value = 0.09806
alternative hypothesis: true tau is not equal to 0
sample estimates:
      tau
0.3690264
```


8. CONCLUSÃO GERAL

A ciência dos micro e macro resíduos, tanto apresentada nesse trabalho como em um âmbito geral, tem mudado de perfil. Os primeiros artigos sobre resíduos constituíam-se da caracterização, abundância e distribuição desses contaminantes nos ambientes. Posteriormente (2010), o foque principal foi sobre a associação desses materiais com compostos químicos, como poluentes orgânicos persistentes e metais pesados, seguido do estudo de efeitos toxicológicos nos organismos (2013). A respeito de macro resíduos, sabe-se de sua ocorrência nos mais diversos ambientes marinhos, seu transporte por rios, canais de drenagem, chuvas, ventos, no rafting de organismos incrustantes. Porém, muitos desses trabalhos informam dados sobrepostos e são provenientes de amostragens imprecisas. Os microplásticos foram definidos em 2004 e desde então são intensamente estudados, porém, percebe-se uma lacuna de conhecimento no que diz respeito na associação com organismos marinhos. Abre-se aqui uma recomendação a formulação de trabalhos com metodologias e métricas padronizadas, com delineamentos mais bem estruturados (com réplicas, o entendimento de fatores que possam influenciar nas análises e resultados, experimentos com concentrações que representem ambientes naturais). Adicionalmente, recomenda-se estudos que possam explorar a influência do hábito alimentar dos animais bentônicos na ingestão ativa de MPs, principalmente os processos filtradores de esponjas e ascídias, como mencionados no capítulo III.

O objetivo geral desse trabalho foi compreender alguns aspectos da contaminação por macro resíduos, microplásticos e químicos poluentes no ambiente marinho. Ao longo desse projeto houve a avaliação crítica das metodologias aplicadas ao estudo de resíduos, além da análise dessa contaminação localmente e nos organismos. Originado na ideia de apenas induzir a ingestão de microplásticos pelos anfípodes, esse trabalho elaborou críticas metodológicas e análises de contaminação de MPs em grupos ecológicos pouco explorados pela ciência (substratos naturais e epibiontes). Práticas de conscientização ou gerenciamento de resíduos não foram elaboradas nesse trabalho pois não era o foco. Entretanto, este estudo quantifica e informa sobre a contaminação de macro resíduos e microplásticos em Sydney e no Rio de Janeiro, auxilia na elaboração de metodologias mais precisas de estudos científicos e gera informações relevantes para a elaboração de práticas sustentáveis e políticas públicas voltadas a conservação ambiental.

9. PRODUÇÃO E ATIVIDADES REALIZADAS AO LONGO DO DOUTORADO (2017 – 2021)

9.1 2017 - Docência: 30 horas de docência da disciplina Zoologia I no Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO).

9.2 Artigos publicados:

- SILVA, P. C. A.; **SORRENTINO, R.**; RAMOS, B. S.; SENNA, ANDRÉ R.; SKINNER, L. F. Ingestion Of Microplastics By Benthic Marine Organisms In The Ilha Grande Bay Heritage Site, Southeastern Brazil. **JOURNAL OF HUMAN AND ENVIRONMENT OF TROPICAL BAYS**, v. 2, p. 1-13, 2021.
- **SORRENTINO, RAYANE**; SENNA, ANDRÉ R. A review of current approaches for the study of microplastic contamination in crustaceans. **ENVIRONMENTAL REVIEWS**, 29: 64–74, 2021. *Periódico A2 (Qualis)*
- **SORRENTINO, RAYANE**; MORAES, ELIENAI E.B.; SENNA, ANDRÉ R. Four new species of Lysianassidae Dana, 1849 (Crustacea: Amphipoda) From Northeastern Brazilian coast. **ZOOTAXA (ONLINE)**, v. 4585, p. 1, 2019. *Periódico A4 (Qualis)*
- **SORRENTINO, R.**; SOUZA-FILHO, J.; SENNA, ANDRÉ R. A new species of *Stephonyx* (Amphipoda, Amphilochida, Lysianassoidea) from Brazil. **ZOOTAXA (ONLINE)**, v. 4388, p. 537-546, 2018.

9.3 Artigos aceitos e submetidos para publicação:

- CUMMINGS, V. et al. Lista de espécies de Amphipoda (Crustacea) coletados em três sítios na costa do estado do Rio De Janeiro, Brasil. **Spatium Scientiarum Journal**
- ANDRADE, J. et al. A solid-liquid extraction procedure combined with a microscale dispersive solid-phase extraction cleanup to determine 3-Nitrobenzanthrone and its metabolites, and other carcinogenic polycyclic aromatic compounds in ascidians (*Phallusia nigra*). **Talanta**

9.4 Artigos em elaboração:

- MARTINEZ, S. et al. When the detail of organism makes the difference in the seascape: Different tissues of *Phallusia nigra* have distinct Hg concentrations and show differences resolution in spatial pollution.
- PÓVOA, A. et al. Marine invertebrates as indicators of different anthropic impacts along the Brazilian coastal area: Current state of knowledge.

9.5 Resumos publicados em anais de congressos:

- **SORRENTINO, R.;** SENNA, A. R. RETENÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROPLÁSTICA EM AMPHIPODA (CRUSTACEA:PERACARIDA). In: X Congresso Brasileiro sobre Crustáceos, 2018, Recife. Livro de Resumos do X Congresso Brasileiro sobre Crustáceos, 2018. p. 012.

9.6 Apresentações de trabalho:

- SORRENTINO, RAYANE. Contaminação orgânica e microplástica em ambiente marinho. 2018. (palestra).
- SORRENTINO, RAYANE. Filogeografia. 2018. (Aula).
- SORRENTINO, RAYANE. Microplásticos no oceano e nos organismos. 2017. (palestra).

9.7 Participações em eventos:

- II Jornada Internacional de Biologia. Microplásticos nos organismos marinhos. 2021. (Outra).
- Encontro em comemoração ao Dia Internacional das Mulheres e Meninas na Ciência. Youtube Bentos UERJ. 2021. (Encontro).
- Objetivos do Desenvolvimento Sustentável. Reunião Magna 2019. Academia Brasileira de Ciências. 2019. (Outra).
- Desbravando as Ciências do Mar -10 anos do PPG-OCN da UERJ. Nova espécie e primeiro registro do gênero *Parschisturella* Andres, 1983 (Amphipoda: Lysianassoidea: Uristidae) para a Argentina. 2018. (Outra).
- I Encontro Sul Fluminense de Ensino de Ciências e Biologia. 2018. (Encontro).
- X Congresso Brasileiro sobre Crustáceos. RETENÇÃO DE CONTAMINAÇÃO MICROPLÁSTICA EM AMPHIPODA (CRUSTACEA:PERACARIDA). 2018. (Congresso).
- XI Jornada de Ciência e Tecnologia. Minicurso de Sistemática de Crustacea. 2018. (Outra).

9.8 Revisão de periódico:

2018 – Atual Periódico: CAHIERS DE BIOLOGIE MARINE

2020 – Atual Periódico: IHERINGIA SERIE ZOOLOGIA

9.9 Colaborações:

Novembro 2019 - Atual: Colaboração com o laboratório de Química Analítica do Centro Interdisciplinar de Energia e Ambiente (Cienam), Universidade Federal da Bahia (UFBA).

2019 – Atual: Colaboração com o laboratório de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

Fevereiro 2019 - Projeto RENOVA: Auxiliar convidada do Projeto Renova - Recifes do Sul da Bahia (Campanha Cassurubá e Parcel das Paredes). Embarque de duas campanhas (10 dias), incluindo mergulhos scuba para coleta de material biológico, algas e esponjas. Com objetivo de estudo taxonômico de espécies de Amphipoda associada a substrato.

9.10 Bolsa Doutorado Sanduíche (PDSE – CAPES)

Participação de trabalhos de campo e experimentos em projetos que envolveram a coleta de resíduos antropogênicos de rodovias próximas a praias que possuíam, ou não, o sistema de drenagem de chuva (mesmos pontos de coleta do meu projeto). Assim como, trabalho de campo envolvendo a exposição de microfibras sintéticas e naturais no ambiente para analisar a degradação, e na análise espectroscópica (Infravermelho por transformada de Fourier – FTIR) de microfibras provenientes de amostras de água de dreno, esta em colaboração com a Universidade de Sydney. Além da participação ativa de um dos maiores projetos da equipe que envolve a eliminação de microfibras por diferentes tecidos sintéticos e naturais através da lavagem. Este projeto está sendo financiado por empresas privadas e possui colaboração com o Water Research Laboratory (WLR).

9.11 Inicialização do Pós-doutorado Projeto MONITOMAR - FAPERJ (UERJ)

EDITAL 06/2020 – PROGRAMA DE APOIO A “REDES DE MONITORAMENTO DE DERRAMAMENTO DE ÓLEOS EM AMBIENTES.

Projeto: Susceptibilidade ambiental, social e econômica da Baía da Ilha Grande ao derramamento e à presença de óleo no mar - Rede Monitomar

Funções: Coordenação e organização das atividades gerais do projeto e auxílio nas análises químicas de hidrocarbonetos policíclicos em organismos marinhos da Baía da Ilha Grande.