



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS
MESTRADO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

GINA LEONOR LÓPEZ FLORES

**AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE MICROPLÁSTICOS EM MOLUSCOS
HETEROBRÂNQUIOS MARINHOS DA COSTA ATLÂNTICA NORDESTINA DO
BRASIL E DA COSTA DO PACIFICO CENTRAL DE EL SALVADOR.**

FORTALEZA

2021

Gina Leonor López Flores

AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE MICROPLÁSTICOS EM MOLUSCOS
HETEROBRÂNQUIOS MARINHOS DA COSTA ATLÂNTICA NORDESTINA DO
BRASIL E DA COSTA DO PACIFICO CENTRAL DE EL SALVADOR.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais do Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Ciências Marinhas Tropicais. Área de Concentração: MULTIDISCIPLINAR

Orientadora: Profa. Dra. Helena Matthews-Cascon

Coorientador: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L857a López, Gina Leonor.

Avaliação da ocorrência de microplásticos em moluscos heterobrânquios marinhos da Costa Atlântica Nordeste do Brasil e da Costa do Pacífico Central de El Salvador / Gina Leonor López. – 2021.

82 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2021.

Orientação: Profa. Dra. Helena Matthews-Cascon.

Coorientação: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.

1. Lesmas do mar. 2. Aplisídeos. 3. Microplásticos. 4. Caracterização morfológica. 5. Quantificação. I. Título.

Gina Leonor López Flores

AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DE MICROPLÁSTICOS EM MOLUSCOS
HETEROBRÂNQUIOS MARINHOS DA COSTA ATLÂNTICA NORDESTINA DO
BRASIL E DA COSTA DO PACIFICO CENTRAL DE EL SALVADOR.

Dissertação apresentada ao Curso de
Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais
do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de
Ciências do Mar da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial à
obtenção do título de mestre em Ciências
Marinhas Tropicais. Área de Concentração:
MULTIDISCIPLINAR

Aprovada em: 12 de novembro de 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Helena Matthews-Cascon (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Rivelino Cavalcante (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra Tatiane Martins Garcia
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Caroline Vieira Feitosa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ao bem-estar dos heterobrânquios marinhos e a fauna marinha.

AGRADECIMENTOS

A Deus, porque abriu caminhos onde as portas pareciam estarem fechando-se, ainda mais nesse período de pandemia.

Aos meus pais, por ser os meus impulsores tanto no pessoal como no profissional, por ser o meu motor, me aconselhar e incentivar durante no período de mestrado e a vida inteira.

Aos meus irmãos, Luis e Diego, por ser o meu apoio constante ao longo de tudo. Especialmente, estou duplamente grata com Diego por ter me ajudado nas coletas das lesmas do mar do Pacífico de El Salvador, junto com a minha grande amiga, Gilma Guerra.

Ao meu namorado, Eriston, que tem sido incondicional comigo na minha estadia no Brasil e tinha me ajudado até nas coletas das minhas amostras no momento crítico da pandemia, quase biólogo ele. Você foi incrível e muito indispensável para mim. Eu lhe agradeço profundamente por tudo.

A Crizangela e ao Pedro, os padrinhos que me 'adotaram' no Brasil através do programa do Apoio ao Intercambista (PAI). Sua ajuda de boa vontade foi muito vital desde antes da minha chegada até a finalização do mestrado, e fico feliz pela amizade formada.

Gostaria de agradecer a Carlos Meireles por me ajudar nas dúvidas sobre a anatomia e taxonomia dos heterobrânquios marinhos de Brasil. E pela sua disposição em me ajudar nas coletas de campo, que eu sei que se não fosse pela pandemia, houvesse dado certo. Muito obrigada, Carlos.

A Elena Nolasco, minha colega hondurenha, com a qual compartilhamos temáticas parecidas na dissertação e nós ajudamos no que pudemos.

Também, agradeço a minha orientadora, Dra. Helena Matthews-Cascon, por me aceitar como orientanda e me guiar neste caminho da dissertação, como também ao pessoal do Laboratório de Invertebrados Marinhos (LIMCE), principalmente a Cristiane, pelos incentivos e compartilhamentos de artigos úteis para minha dissertação. A Índira e Alisson, pela coleta de alguns espécimes deste trabalho e ajuda com a estatística, como pelo incentivo e apoio.

Ao professor Rivelino Cavalcante, meu coorientador, obrigada pela guia, paciência e pelo empréstimo do laboratório. E também ao pessoal do Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos pela disposição de ajuda, e principalmente a Viviane, técnica do laboratório, que esteve disponível sempre que era necessário.

A professora Cristina Rocha como ao pessoal do laboratório de Zoobentos, por ter me emprestado a lupa, e ao Dr. Wilson Franklin, por ter me ensinado a mexer no software para medições que foi indispensável na análise visual dos microplásticos. Também, sou muito grata pela ajuda de Matheus Fortaleza, por ter sido auxílio na coleta de uma espécie vital para esse trabalho, e em geral pela sua ajuda emprestada quando eu precisei.

Gostaria de agradecer ao Octavio, meu amigo filósofo costarricense que me deu a Universidade Federal do Ceará (UFC), nas correções e conselhos na escrita do documento, como o apoio constante e a sua amizade.

Agradeço à professora Tatiane Garcia e Caroline Feitosa, pelas suas contribuições a esse trabalho tanto no exame de qualificação como na defesa, fizeram um aporte muito valioso com os seus comentários.

E por fim, ao PAEC OEA-GCUB, por ter sido o intermediário na minha seleção para fazer o meu mestrado no Brasil. E ao CNPq, pelo financiamento da bolsa de pós-graduação. Sem essa ajuda financeira, não teria sido possível.

RESUMO

O registro de contaminação por microplásticos que existe no meio marinho é grande, e por causa disso é importante detectar a presença dessas partículas nas diferentes espécies que habitam o ecossistema marinho-costeiro, para posteriormente estudar quais são os possíveis efeitos que causam neles. Alguns efeitos negativos entre os animais marinhos já têm sido estudados, como problemas no sistema natatório onde ocorre desaceleração no processo de natação, obstrução do sistema digestivo e problemas reprodutivos. Dentre desses organismos, os moluscos foram estudados, porém nem todos os grupos de moluscos foram investigados. Portanto, este trabalho aborda pela primeira vez a presença e quantificação de microplásticos no trato digestivo de heterobrânquios marinhos, um grupo de moluscos com importância ecológica e socioeconômica. O estudo foi realizado em praias do Atlântico do Brasil e do Pacífico de El Salvador, com o objetivo principal de comparar a ingestão de microplástico por parte das lesmas do mar de ambos os sítios, sem ser relevante o local de coleta devido a que se conhece que existe registro de contaminação por microplástico nos dois oceanos. A presença de microplásticos foi confirmada pela primeira vez em heterobrânquios marinhos de ambos os oceanos, sendo um total de 2,577 partículas de microplástico no seu trato digestivo. Foi realizada a caracterização morfológica das partículas, estudando a sua distribuição por tipo, cor e tamanho. Foram registradas partículas de microplástico, porém também de macroplástico, com uma quantidade baixa, de 27 partículas, em contraste ao total de microplástico quantificado neste trabalho.

Palavras-chave: Lesmas do mar. Aplisídeos. Trato digestivo. Microplásticos. Caracterização morfológica. Quantificação.

ABSTRACT

The record of contamination by microplastics that exists in the marine environment is large, and because of that it is important to detect the presence of these particles in the different species that inhabit the marine-coastal ecosystem, to later study what are the possible effects they cause on them. Some of those negative effects already studied in some organisms are problems in the swimming system, slowing down the swimming process, obstruction of the digestive system and reproductive problems. Among these marine animals, mollusks have already been studied, but not all groups of mollusks have been investigated. Therefore, this work addresses for the first time the presence and quantification of microplastics in the digestive tract of marine heterobranchs, a group of mollusks with ecological and socioeconomic importance. This study was carried out on beaches in the Atlantic Ocean of Brazil and the Pacific coast of El Salvador, with the main objective of comparing the ingestion of microplastic by sea slugs from both sites, without being relevant the place of collection due to the fact that it is known that there is a record of microplastic contamination in both oceans. The presence of microplastics was confirmed for the first time in marine heterobranchs from both oceans, being a total of 2,577 microplastic particles in their digestive tract. The morphological characterization of the particles was carried out, studying their distribution by type, color and size. Microplastic particles were registered, but also macroplastic particles, with a low amount of 27 particles, in contrast to the total microplastic quantified in this work.

Keywords: Sea slugs. Aplisids. Digestive tract. Microplastics. Morphological characterization. Quantification.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Impacto econômico dos plásticos.....	16
1.2. Microplásticos	18
1.3. Impacto ambiental dos microplásticos.....	19
1.4. Microplásticos na região latinoamericana.....	20
1.5. Microplásticos nos moluscos marinhos.....	21
1.6. Importância dos moluscos heterobrânquios marinhos	22
2. OBJETIVOS	24
2.1. Objetivo Geral.....	24
2.2. Objetivos Específicos	24
2.3. Hipóteses científica.....	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
3.1. Área de estudo	25
3.2. Coleta de organismos.....	32
3.3. Variáveis dos parâmetros biométricos.....	34
3.4. Tratamento com peróxido de hidrogênio.....	35
3.5. Sobrenadante em solução salina PA (NaCl)	35
3.6. Teste de digestão do trato digestivo e filtração dos microplásticos.....	36
3.6.1. Teste de digestão do material biológico.	36
3.6.2. Teste de filtração dos microplásticos.	37
3.7. Eficácia da extração dos microplásticos	39
3.8. Análise visual e quantitativo dos microplásticos	39
3.9. Caracterização dos microplásticos.....	39
3.10. Análise de dados.....	40
4. RESULTADOS.....	41

4.1. Digestão dos tecidos do trato digestivo e filtração dos microplásticos nos heterobrânquios marinhos	41
4.1.1. Decomposição da matéria orgânica	41
4.1.2. Filtração dos microplásticos.....	42
4.2. Interação de microplásticos com heterobrânquios marinhos da Família Aplysiidae	44
4.3. Quantificação do microplástico x espécie	45
4.4. Porcentagem de microplástico nas lesmas dos Oceanos Atlântico vs Pacífico	46
4.5. Dados biométricos dos aplisídeos em relação à ingestão de microplásticos	48
4.6. Análise qualitativa e quantitativa dos microplásticos em relação à caracterização morfológica.....	52
4.6.1. Tipo de partículas de microplástico	52
4.6.2. Tamanho das partículas de microplástico	55
4.6.3. Cor das partículas de microplástico.....	56
4.7. Infiltração de partículas de microplástico vindo do ambiente de trabalho .	59
5. DISCUSSÃO	63
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
REFERÊNCIAS	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1– Bioacumulação na cadeia alimentar.....	20
Figura 2 - Praia do Pacheco (Latitude: 3° 41' 13.78" S e Longitude: 38° 38' 18.32" O), localizada no município de Caucaia, Ceará, Brasil. Fonte: Google Earth.	26
Figura 3 – Praia da Pedra Rachada (Latitude: 3° 23' 56.56" S e Longitude: 39° 0' 37.63" O), localizada no município de Paracuru, Ceará, Brasil. Fonte: Google Earth.	27
Figura 4 – Praia de Flecheiras (Latitude: 3° 13' 13.43" S e Longitude: 39° 16' 14.35" O), localizada no município de Trairi, Ceará, Brasil. Fonte: Google Earth.	28
Figura 5 - Estuário do Rio Piranhas-Açu (Latitude: 5° 8' 10.10" S e Longitude: 36° 40' 47.03" O), localizado no município Porto do Mangue, Rio Grande do Norte (RGN), Brasil. Fonte: Google Earth.....	29
Figura 6 - Praia Mizata (Latitude: 13° 30' 37.63" N e Longitude: 89° 35' 46.53" O), localizada no Departamento de La Libertad, El Salvador, América Central. Fonte: Google Earth.	31
Figura 7 – Coleta das lesmas do mar nos sítios de estudo. (A) Método de busca dos animais no mesolitoral inferior das praias. (B) Coleta da espécie <i>Aplysia dactylomela</i> entre macroalgas marinhas.....	33
Figura 8 – Espécimes preservados para a dissecação do trato digestivo no laboratório. A espécie na imagem pertence a <i>Bursatella leachii</i>	33
Figura 9 – Registro de medidas de peso dos espécimes com a balança de precisão no laboratório. A espécie já preservada na imagem é <i>Bursatella leachii</i>	34
Figura 10 – Morfologia dos órgãos papo, moela e estômago do trato digestivo dissecado do heterobrânquio marinho <i>Aplysia dactylomela</i>	35
Figura 11 – Funil de vidro com solução NaCl para filtrar os microplásticos devidamente tampado para evitar contaminação x partículas do ambiente de trabalho.	36
Figura 12 – Observação do tempo de digestão dos órgãos do trato digestivo das lesmas do mar no laboratório.	37
Figura 13 - Malha de 0.65 µm para filtração dos microplásticos.	38

Figura 14 – Malhas guardadas em potes, em sua maioria de vidro, após a filtragem e secagem das partículas do microplástico no laboratório.	38
Figura 15 – Amostras com digestão incompleta da matéria orgânica após vários dias de imersão em H ₂ O ₂ no laboratório. Encontra-se sinalizado com uma flecha um órgão em decomposição.	42
Figura 16 – Digestão da matéria orgânica do trato digestivo dos espécimes em placas quentes no laboratório.	42
Figura 17 - Amostra processada do trato digestivo de um espécime de <i>Aplysia dactylomela</i> , mostrando fibras de coloração transparente e azul escuro.	43
Figura 18 - Interferência de possíveis fibras transparentes longas provenientes do papel filtro Whatman.	43
Figura 19 – Análise visual dos microplásticos através da lupa, e registro de fotografias e medidas das diferentes partículas de microplástico no laboratório...	44
Figura 20 - Número total de partículas de microplástico por espécie.....	46
Figura 21 – Análise da porcentagem da quantidade de partículas de microplástico por espécie.....	47
Figura 22 - Comparação da porcentagem total de microplástico entre lesmas do mar coletadas no Oceano Pacífico e Atlântico.	47
Figura 23 - Relação da média do peso das lesmas do mar vs o conteúdo de partículas de microplástico no trato digestivo.....	50
Figura 24 - Relação da média do comprimento das lesmas do mar vs o conteúdo de partículas de microplástico no trato digestivo.....	50
Figura 25 – Distribuição de microplásticos em relação ao tipo de partícula observadas nas lesmas do mar.....	53
Figura 26 – Porcentagem de microplásticos x tipo de partículas observadas nas lesmas do mar.....	53
Figura 27 – Diferentes microplásticos segundo seu tipo de partícula observadas nas lesmas do mar. (A, B) Fibra sintética; (C, D) fragmento; (E, F) filme; (G) isopor; (H) resto orgânico.....	54
Figura 28 – Distribuição do microplástico observado nas lesmas do mar em relação à classificação x tamanho.	55

Figura 29 – Fotografias indicando a presença de macroplásticos observados nas lesmas do mar. (A) Partícula de 7,79 mm; (B) partícula de 5,51 mm.....	55
Figura 30 - Porcentagem de microplásticos x tamanho de partículas observadas nas lesmas do mar.....	56
Figura 31 – Diferentes microplásticos observados nas lesmas do mar segundo seu tipo de cor. (A) Partícula de microplástico azul; (B) Preto; (C) Vermelho; (D) laranja; (E) branco; (F) transparente.....	57
Figura 32 - Distribuição de microplásticos observados nas lesmas do mar em relação à cor da partícula.....	58
Figura 33 - Porcentagem de microplásticos observados nas lesmas do mar x cor das partículas.....	59
Figura 34 - Distribuição de microplástico em relação às amostras de controle do ambiente de trabalho.....	60
Figura 35 - Comparação da quantidade total de partículas de microplástico do ambiente de trabalho vs número total de microplásticos observados no trato digestivo das lesmas do mar.....	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies e total de espécimes coletados nas praias do Atlântico brasileiro e do Pacífico de El Salvador no ano 2020.....	32
Tabela 2 – Porcentagem de aplisídeos com microplástico no seu trato digestivo, tipo, média de tamanho e de partículas por indivíduo, e a sua localização de coleta, no primeiro e último trimestre do ano 2020.....	45
Tabela 3. Valores do teste de adequação do qui-cuadrado para a comparação da porcentagem de ingesta das lesmas do mar em relação ao sítio de coleta (oceano Atlântico e Pacífico).....	48
Tabela 4 - Média do peso das espécies de heterobrânquios marinhos.	49
Tabela 5 - Média do comprimento das espécies heterobrânquios marinhos.	49
Tabela 6 – Valores da Análise de Variância (ANOVA) para o comprimento das lesmas do mar.....	51
Tabela 7 - Valores da Análise de Variância (ANOVA) para o peso das lesmas do mar.	51
Tabela 8 – Valores da Análise de Covariância (ANCOVA) para o comprimento das lesmas do mar.....	52
Tabela 9 – Valores da Análise de Covariância (ANCOVA) para o peso das lesmas do mar.	52
Tabela 10 – Quantidade de partículas de microplástico x contaminação do ambiente de trabalho e descrição das características dos laboratórios.	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ad	<i>Aplysia dactylomela</i>
Bl	<i>Bursatella leachii</i>
Dn	<i>Dolabrifera nicaraguana</i>
LABOMAR	Instituto de Ciências do Mar
LIMCE	Laboratório de Invertebrados Marinhos do Ceará
MPs	Microplásticos
RN	Rio Grande do Norte
UFC	Universidade Federal do Ceará

1. INTRODUÇÃO

O aumento da produção mundial de plástico atingiu níveis alarmantes devido aos seus múltiplos usos e a sua maior atração que é a sua durabilidade (DERRAIK, 2002; PUJOL, 2016). Bilhões de toneladas de lixo são jogadas (intencionalmente ou não) nos oceanos todos os anos (UNEP, 2005; CHELSHIER *et al.*, 2009) e aproximadamente 80% destes resíduos são oriundos de fontes continentais (ANDRADY, 2011). Estes resíduos possuem grande capacidade de dispersão por ondas, correntes e ventos, podendo ser encontrados até mesmo no meio dos oceanos e em áreas remotas (e.g.) (MOORE, 2008; BARNES *et al.*, 2009). Ao final do seu ciclo de vida, os produtos ou embalagens plásticas são reciclados, incinerados, enterrados em aterros, despejados em locais não regulamentados ou descartados no meio ambiente (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017).

De acordo com estimativas recentes, 79% dos resíduos plásticos produzidos até agora encontram-se em aterros sanitários ou no meio ambiente, enquanto cerca do 12% foram incinerados e apenas 9% foram reciclados (JAMBECK *et al.*, 2015). Porém, tem alguns produtos como o isopor, por exemplo, que geralmente não pode ser reciclado localmente, mas deve ser transportado para uma usina de reciclagem centralizada (EUROPEAN COMMISSION, 2015). Além disso, 95% do isopor é ar, tornando-o inviável para armazenar, transportar ou reciclar (EUROPEAN COMMISSION, 2015). É estimado que se os padrões atuais de consumo e as práticas de gestão de resíduos não melhorarem, em 2050 haverá aproximadamente 12 milhões de toneladas de resíduos plásticos em aterros sanitários e no meio ambiente (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017).

1.1. Impacto econômico dos plásticos

Além dos prejuízos já conhecidos, os plásticos descartáveis abandonados também criam poluição visual e estão cada vez mais se tornando uma prioridade em relação aos efeitos nocivos e custos do impacto dos detritos marinhos, especialmente em países que dependem fortemente do turismo como principal fonte de seu PIB (MCILGORM; MCILGORM, 2009). Por exemplo, o Fórum de

Cooperação Econômica da Ásia-Pacífico (APEC) estimou um dano econômico de US\$ 1,3 bilhão, desde plásticos no mar até as indústrias de turismo, pesca e transporte somente naquela região (MCILGORM; MCILGORM, 2009).

A falta de decomposição natural do plástico no oceano significa que estruturas corretivas devam ser criadas para que esses problemas de resíduos sejam resolvidos (MCILGORM; MCILGORM, 2020). O setor privado e público, como consumidores e beneficiários do plástico criam resíduos, e são essenciais para o desenvolvimento e financiamento de soluções para este problema de resíduos, por meio de modelos que estendem a responsabilidade do produtor e do consumidor (MCILGORM; MCILGORM, 2020). Várias das maiores cidades do mundo não têm aterros sanitários adequados e estão ficando sem espaço para seus resíduos. Conforme o preço do aterro aumenta, o incentivo para reciclar o lixo aumenta (MCILGORM; MCILGORM, 2020). Os altos custos para a reciclagem não facilitam essa ação necessária, inclusive para economias per capita de alta renda (MCILGORM; MCILGORM, 2020).

Há evidências recentes de que os produtos químicos tóxicos adicionados durante o processo de fabricação são transferidos do plástico ingerido para os tecidos animais, eventualmente entrando também na cadeia alimentar humana (JAMBECK *et al.*, 2015). O problema é mais complexo quando o plástico se quebra em partículas de menores até tamanhos inferiores a 5 mm, é ainda mais difícil de detectar e extrair do mar aberto (JAMBECK *et al.*, 2015). Além do anterior, a produção de plástico é altamente dependente de hidrocarbonetos fósseis, que são recursos não renováveis (GEYER; JAMBECK; LAW, 2017). Se o crescimento da produção de plásticos continuar no ritmo atual, até 2050 a indústria de plásticos poderá ser responsável por 20% do consumo mundial total de petróleo (WORLD ECONOMIC FORUM, 2016).

A estratégia mais eficaz de mitigação é reduzir a entrada do plástico nos mares (JAMBECK *et al.*, 2015). Sendo que a Agenda 2030 das Nações Unidas para o Desenvolvimento Sustentável (UNSDG 2030) incluiu o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 14.1 para reduzir significativamente a poluição marinha no 2015 (ONU, 2021), tanto cientistas, formuladores de políticas,

financiadores, setor privado e a sociedade civil teriam que começar a dividir a responsabilidade desse problema e ser parte da abordagem dessa Agenda.

1.2. Microplásticos

Ao contrário dos metais, os plásticos não enferrujam nem corroem. A maioria dos plásticos não são biodegradáveis, em vez disso, eles se fotodegradam, o que significa que eles se decompõem lentamente em pequenos fragmentos conhecidos como microplásticos (CLAPP; SWANSTON, 2009). E para o propósito desse estudo, os microplásticos são qualquer partícula sólida sintética de matriz polimérica, com forma regular ou irregular e insolúvel em água (FRIAS; NASH, 2019), e referem-se a itens com tamanho de 1-5000 μm (0,001 – 5 mm) de diâmetro (FRIAS; NASH, 2019; LINDEQUE *et al.*, 2020).

A decomposição de grandes itens de plástico em microplásticos é comum tanto em terra quanto nas praias, devido à alta radiação UV e ao desgaste das ondas (GESAMP, 2015a). Enquanto o processo de degradação é muito mais lento no oceano devido às temperaturas mais frias e uma menor exposição aos raios ultravioleta (GESAMP, 2015a). Os microplásticos são fabricados para a produção de produtos cosméticos, farmacêuticos ou industriais, mas também são aqueles que virem da degradação ou fragmentação de plásticos grandes (ANDRADY, 2011; BIRNSTIEL *et al.*, 2019; PICÓ; BARCELÓ, 2019), sendo classificados como primários e secundários respectivamente (DERRAIK, 2002; THOMPSON *et al.* 2004).

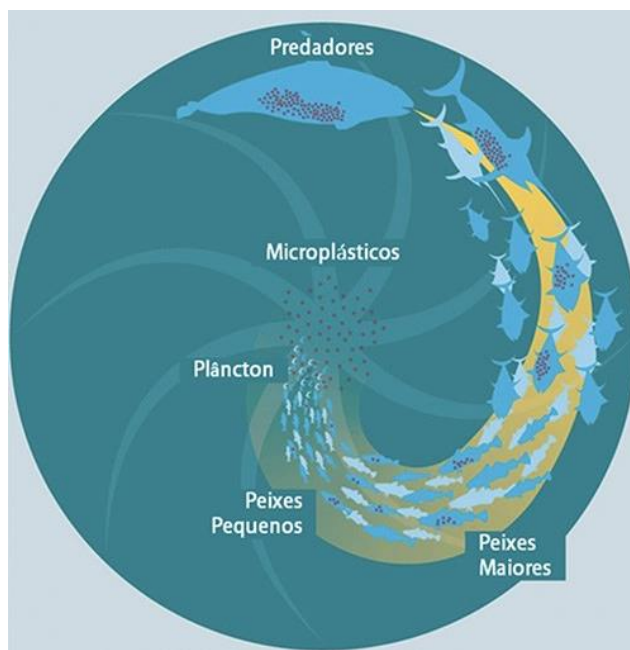
Nos últimos anos, tem havido uma crescente preocupação pela poluição por microplásticos no ambiente marinho que está aumentando exponencialmente (BRANDON *et al.*, 2019; LAVERS; BOND, 2017). A temática é tão importante que o número de publicações sobre o assunto aumentou substancialmente de apenas 63 no ano 2010, para 2,208 em 2021. No ambiente marinho, os MPs são investigados em relação a: 1) águas marinhas e continentais; 2) sedimentos, 3) vertebrados e invertebrados, e 4) interações químicas com outros poluentes (FARRELL; NELSON, 2013; IVAR DO SUL; COSTA, 2014; GAUCI *et al.*, 2019; BARBOSA *et al.*, 2020).

1.3. Impacto ambiental dos microplásticos

A abundância do plástico nos ecossistemas está causando grandes impactos ao meio ambiente. O que no início era considerado apenas como um problema de natureza estética, pouco a pouco está se tornando uma das principais causas de mortalidade de várias espécies, tanto marinhas quanto terrestres (DERRAIK, 2002; GESAMP, 2010; FERNÁNDEZ, 2016; BARRAZA, 2017). A poluição dos oceanos por estes fragmentos é extremamente preocupante devido à sua ubiquidade, persistência, e por serem um potencial vetor de exposição e transferência de compostos orgânicos persistentes de elevada toxicidade (BROWNE *et al.*, 2011; LAW; THOMPSON, 2014).

A ingestão de MPs foi registrada em uma ampla gama de organismos marinhos, incluindo anelídeos, moluscos bivalves, pepinos-do-mar, crustáceos, anfípodes, aves marinhas, peixes, tartarugas e mamíferos. Além desses, alguns estudos relataram a presença de MPs em diferentes grupos zooplanctônicos em águas marinhas costeiras, como no Canadá e na China (VASCONCELOS; GARCIA, 2021). A ingestão de microplásticos pode, portanto, introduzir toxinas na base da cadeia alimentar, de onde há potencial para bioacumulação (Figura 1) (TEUTEN *et al.*, 2009).

Figura 1– Bioacumulação na cadeia alimentar.



Fonte: Rochman, 2015.

1.4. Microplásticos na região latinoamericana

Sabe-se que os microplásticos estão presentes no ambiente marinho (KOEHLER, 2012; COLE *et al.*, 2014). No Pacífico leste Tropical, especificamente na costa do Pacífico de El Salvador (América Central), Christoph *et al.* (2015) identificaram a presença de MPs em águas costeiras ocidentais do país. Além, larvas planctônicas de diferentes grupos de invertebrados marinhos foram observadas envolvidas por esses MPs, sugerindo que as larvas ingeriram parte deles (CHRISTOPH *et al.*, 2015).

No Oceano Pacífico nordeste e na costa da Colúmbia Britânica tem inclusive estudos documentando a abundância, composição e distribuição dos MPs nas águas subsuperficiais. Nessa pesquisa, as concentrações elevadas de microplásticos perto de áreas urbanas foram consistentes com fontes terrestres, porém em sítios longe da urbanização, pareciam ser o resultado de condições oceanográficas que prendem e concentram detritos (DESFORGES *et al.*, 2014).

No Atlântico Equatorial Ocidental, tinha se avaliado a densidade e os tipos de microplásticos, sendo que a maior densidade de microplásticos foram de estações costeiras próximas a locais urbanizados, grandes estuários tropicais e áreas de pesca (GARCIA *et al.*, 2020). Pelo que tem estudos de Dantas *et al.* (2020) avaliando a ingesta de MPs em organismos, especificamente em peixes teleósteos marinhos, em uma praia urbana no Ceará, nordeste do Brasil, a fim de analisar a relação entre microplásticos e guildas tróficas, encontrando contaminação em todos os espécimes.

Além do anterior, já que os rios Cocó e Ceará, no Ceará, que cortam a região de Fortaleza, recebem de forma indireta esgotos domésticos e industriais e águas de drenagem pluvial que desaguam no oceano, Brito (2018) realizou uma pesquisa para conhecer se carregavam partículas plásticas. Brito (2018) encontrou presença de MPs e quantificou 187 MPs > 0,3 mm e 39 MPs < 0,3 mm na desembocadura do rio Cocó, e próximo ao estuário do rio Ceará, quantificou 167 MPs > 0,3 mm e 49 MPs < 0,3 mm.

1.5. Microplásticos nos moluscos marinhos

Quanto ao efeito dos MPs na biota marinha, e especificamente nos moluscos marinhos, vários estudos foram realizados para demonstrar a ingestão destas partículas por diferentes espécies (RODRÍGUEZ, 2019; CHAMERO; HERNÁNDEZ; LAGO, 2020) e também categorizados no formato de fios/fibras, fragmentos, filamentos e esferas (MACHADO *et al.*, 2021). MPs podem causar danos a nível individual e populacional, tais como obstrução do sistema digestivo, redução da capacidade reprodutiva ou um maior custo energético relacionado à digestão (GESAMP, 2010; WRIGHT *et al.* 2013), têm maior probabilidade de se aderir entre as gônadas e os músculos (DE-LA-TORRE; MENDOZA; PILAR, 2019).

Gandara *et al.* (2016) conduziram estudos com larvas dos mexilhões marrons (*Perna perna*) do Atlântico brasileiro, observando-se que as larvas expostas a pellets de plástico virgem, ou seja, que não tinha sido submetido a uso ou processado, exibiram uma alta taxa de mortalidade, e, em contrapartida, as larvas

colocadas junto aos pellets de plástico recolhidos das praias, não conseguiram sobreviver.

1.6. Importância dos moluscos heterobrânquios marinhos

Os heterobrânquios marinhos (lesmas do mar), pertencentes ao Filo Mollusca, desempenham um papel ecológico importante em ambientes marinhos e costeiros, interagindo com outras espécies bentônicas (ANGULO, 2003). Estes organismos são um dos principais consumidores, que em algumas circunstâncias, podem modificar a distribuição e abundância de macroalgas, briozoários, esponjas e até mesmo outras espécies de heterobrânquios (ANGULO, 2003). Os heterobrânquios marinhos participam de redes tróficas como predadores ativos de invertebrados, peixes pequenos ou algas marinhas, estabelecendo relações simbióticas com algas e protozoários para gerar fontes metabólicas alternativas (ZAMORA; ORTIGOSA, 2012).

Socioeconomicamente, o grupo é importante para as populações humanas, pois são fontes naturais de substâncias úteis na farmacologia (ZAMORA; ORTIGOSA, 2012). Além disso, a variedade de adaptações que eles possuem os tornam excelentes organismos modelo para diferentes investigações científicas, como evolução, neurobiologia, ecotoxicologia e pesquisa farmacêutica (GARCÍA, 2015).

A busca por substâncias químicas de interesse farmacológico nos heterobrânquios se tornou uma meta muito importante para a indústria farmacêutica e médica (FLAM, 1994). Muitos dos produtos químicos usados por estes organismos para sua própria defesa são investigados por oncologistas para possíveis usos farmacêuticos (FLAM, 1994). Por exemplo, um estudo realizado com o aplisídeo do gênero *Aplysia* mostrou o aglutinamento forte de algumas proteínas as células cancerígenas, bem como a e a sua ligação a antígenos que são superexpressos e contribuem para a progressão e invasão do tumor (GILBOA; GARBER; SUDAKEVITZ, 2001).

Embora a presença de MPs em certas espécies de moluscos prosobrânquios tenha sido detectada e sabendo que os MPs são vetores de poluentes prioritários capazes de provocar efeitos adversos à saúde (WRIGHT, 2015), ainda não existem pesquisas sobre se os MPs são ingeridos direta ou indiretamente pelos moluscos heterobrânquios.

Nesta pesquisa, buscou-se estudar a possível presença de MPs no trato digestivo das lesmas do mar. Sendo este estudo inédito pois é o primeiro a abordar a interação de MPs e moluscos heterobrânquios marinhos. Dada a sua importância ecológica e socioeconômica, o objetivo principal do projeto foi estudar as lesmas do mar de águas tropicais, particularmente os aplisídeos por ser o grupo com maior tamanho entre os heterobrânquios marinhos, e assim verificar a possibilidade de ingestão e quantidade de MPs encontrados nestes aplisídeos na Costa Atlântica do Brasil (estados do Ceará e do Rio Grande do Norte) e na Costa Central do Pacífico de El Salvador.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar a presença e quantidade de partículas de microplástico no trato digestivo dos heterobrânquios aplisídeos *Aplysia dactylomela* e *Bursatella leachii* na costa Atlântica do Brasil (estados do Ceará e Rio Grande do Norte), e *Dolabrifera nicaraguana* na costa central do Pacífico de El Salvador.

2.2. Objetivos Específicos

- Testar a metodologia de digestão biológica do trato digestivo dos heterobrânquios marinhos e a filtração dos microplásticos.
- Estudar a presença de partículas de microplástico encontradas no trato digestivo dos indivíduos de heterobrânquios aplisídeos *Aplysia dactylomela*, *Bursatella leachii* e *Dolabrifera nicaraguana*.
- Comparar a presença e acumulação de microplásticos nos heterobrânquios aplisídeos na costa Atlântica do Brasil (estados do Ceará e Rio Grande do Norte) e na costa central do Pacífico de El Salvador.
- Caracterizar morfológicamente as partículas de microplásticos no trato digestivo dos heterobrânquios aplisídeos.

2.3. Hipóteses científica

- Partículas de microplástico de diferentes tipos estão presentes no trato digestivo das três espécies de heterobrânquios marinhos aplisídeos nas áreas de estudo dos oceanos Atlântico e Pacífico, onde as espécies de maior tamanho terão as maiores quantidades ingeridas de partículas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

No Atlântico Brasileiro, os aplisídeos foram coletados nas praias do Pacheco, Praia da Pedra Rachada e Praia de Flecheiras, localizados no Estado do Ceará, e no estuário do Rio Piranhas-Açu, localizado no município de Porto do Mangue, Rio Grande do Norte. No Pacífico salvadorenho (América Central), os organismos foram coletados na praia Mizata, Departamento de La Libertad.

Os recifes de arenito estão presentes no Nordeste do Brasil e são conhecidos como “beach rocks”. Originam-se de um processo de calcificação de sedimentos *in situ*, na porção inferior das praias, podendo o sedimento ser calcário ou silicoso (SANTANA, 2005). A natureza do cimento é aragonítica acircular, ou calcita com forte teor em carbonato de magnésio (SANTANA, 2005). A rocha formada tem uma estratificação típica de sedimentos de praia e uma inclinação característica para o mar, sendo frequentemente localizada num contato entre a água marinha e uma massa de água salobra (SANTANA, 2005). Essas formações se apresentam sob forma de bandas paralelas correspondentes a uma variação do nível do mar ou a um deslocamento da linha de praia (SANTANA, 2005).

No Brasil, essas formações aparecem principalmente na região entre o Cabo de São Roque (Rio Grande do Norte) e a desembocadura do Rio São Francisco (Minas Gerais), tendo correspondência com a formação Barreiras. Algumas formações podem também ser vistas nos litorais da Bahia e do Espírito Santo. Progressivamente essas formações diminuem em direção sul-norte, sendo que o máximo coralino ocorre entre Maceió e Recife (SANTANA, 2005; PEREIRA; SOARES-GOMES, 2002).

A Praia do Pacheco (Figura 2) compõe a planície litorânea do nordeste brasileiro, está localizada no município de Caucaia, no Ceará, e integra a Região Metropolitana de Fortaleza (FERREIRA *et al.*, 2020). Entre a linha de praia e o mar, paralelamente, encontram-se os arenitos de praia cuja principal função natural é a proteção contra a erosão marinha (FERREIRA *et al.*, 2020). Tais estruturas são

definidas como um material rochoso alongado e estreito, formado por areias de praia cimentadas por carbonatos (FERREIRA *et al.*, 2020). A paisagem natural tinha sido transformada, principalmente na década de 1980 e 1990, e sofre processo de transição de uso, voltando-se para residências fixas a partir do ano 2000 (LIRA, 2015).

Figura 2 - Praia do Pacheco (Latitude: 3° 41' 13.78" S e Longitude: 38° 38' 18.32" O), localizada no município de Caucaia, Ceará, Brasil. Fonte: Google Earth.



A Praia da Pedra Rachada (Figura 3) localiza-se no município de Paracuru a, aproximadamente, 90 km da cidade de Fortaleza. Apresenta zona entremarés com faixa de descobrimento em torno de 80 m na maré baixa (MATTHEWS-CASCON *et al.*, 2006). Entre os recifes, há formação de poças de maré, presença de seixos e de diversas espécies de algas (VERAS, 2011). Rochedos elevados estão dispostos paralelamente à linha de costa na zona de infralitoral, sobre os quais são fixos bancos da alga parda *Sargassum* (VERAS, 2011).

O clima da região corresponde ao Tropical Quente Semiárido Brando (IPECE, 2009). A praia da Pedra Rachada está incluída na Área de Proteção Ambiental

(APA) das Dunas de Paracuru (VERAS, 2011). Trata-se de uma unidade de conservação de uso sustentável, que abrange uma área de cerca de 4.000 há, criada pelo Decreto nº 25.418, de 1999 (VERAS, 2011). Esta APA é atualmente gerida pela Superintendência Estadual do Meio Ambiente, SEMACE (VERAS, 2011). A região integra a principal bacia petrolífera do estado, resultando na construção de um píer da Petrobras, e gerando frequente tráfego de rebocadores e lanchas (VERAS, 2011). A praia é marcada pela presença de currais de pesca, distribuídos ao longo de sua extensão (VERAS, 2011).

Figura 3 – Praia da Pedra Rachada (Latitude: 3° 23' 56.56" S e Longitude: 39° 0' 37.63" O), localizada no município de Paracuru, Ceará, Brasil. Fonte: Google Earth.



A praia de Flecheiras (Figura 4) se localiza no município de Trairi, a 120 quilômetros de Fortaleza, capital do estado do Ceará, formadas por comunidades tradicionais de pescadores que mantêm intensa relação com os ambientes naturais (CARDOSO, 2018). A vila de Flecheiras, localizada numa enseada, entre coqueirais, lagoas e dunas brancas, compoendo a imagem de um local tranquilo e praticamente paradisíaco que na década de 1980 não passava de uma pequena

comunidade com duas fileiras de casas e a Igreja de São Pedro, onde a população se concentrava para os momentos de fé e de lazer (CARDOSO, 2018). Segundo relatos dos/as moradores/as mais antigos/as, a comunidade de Flecheiras originou-se em meados do século XVIII (CARDOSO, 2018).

A degradação ambiental do lugar é reproduzida no uso ilimitado dos recursos naturais, principalmente no que toca à ocupação dos campos de dunas, os quais apresentam limitações de uso específico, dada a sua grande vulnerabilidade (CARDOSO, 2018). Essa degradação, que vem ocorrendo em todo o litoral cearense, soma-se, em Flecheiras, assim como em outras comunidades, a outros agravantes: a pesca predatória da lagosta e a sobrepesca nos bancos naturais de algas têm provocado sérios desequilíbrios ambientais, ocasionando a diminuição das espécies supracitadas e agravando o quadro de degradação aqui mencionado (CARDOSO, 2018).

Figura 4 – Praia de Flecheiras (Latitude: 3° 13' 13.43" S e Longitude: 39° 16' 14.35" O), localizada no município de Trairi, Ceará, Brasil. Fonte: Google Earth.



A Bacia hidrográfica do rio Piranhas-Açu (Figura 5), inserida na região hidrográfica Atlântico Nordeste Oriental, Brasil, ocupa 15% da sua área total (ANA,

2014), possui uma área de 43.683 Km², com 60% da área no Estado da Paraíba e 40% no Estado do Rio Grande do Norte (BRASIL, 2015a). Encontram-se, nessa Bacia, dois grandes reservatórios que têm grande importância no desenvolvimento socioeconômico da região, o sistema de reservatório Curema-Mãe d'Água (capacidade de 1,360 bilhões de m³) e o reservatório Armando Ribeiro Gonçalves (capacidade de 2,400 bilhões de m³), localizados nos Estados da Paraíba e Rio Grande do Norte respectivamente (BRASIL, 2015a). Os principais usos de água são para irrigação (65,7%), aquicultura (23,6%), abastecimento humano (7,6%), industrial (1,6%), pecuária (1,5%) (BRASIL, 2015a).

O rio Piranhas-Açu em condições naturais, é um rio intermitente, sendo perenizado por meio dos reservatórios de regularização Curema-Mãe d'Água e Armando Ribeiro Gonçalves. A Bacia do Piranhas-Açu é estratégica para a região, pois possui as duas principais fontes hídricas que são responsáveis pelo atendimento de demandas de água interna e externa da bacia (AMORIM, 2016). Outra importância desse sistema é que, no futuro próximo, ele receberá as águas da transposição do rio São Francisco (AMORIM, 2016).

Figura 5 - Estuário do Rio Piranhas-Açu (Latitude: 5° 8' 10.10" S e Longitude: 36° 40' 47.03" O), localizado no município Porto do Mangue, Rio Grande do Norte (RGN), Brasil. Fonte: Google Earth.



A praia Mizata (Figura 6), encontra-se no Departamento de La Libertad, El Salvador, América Central. É caracterizada por uma combinação de substratos, especialmente areia e rocha (GIERLOFF-EMDEN, 1976). Dentro das zonas rochosas no entremarés, existem variações e combinações no país. Os principais são plataformas rochosas ou terraços e penhascos entremarés e subtidais, ambos de origem vulcânica (GIERLOFF-EMDEN, 1976). Acontecendo na praia de Mizata, falésias ou grandes rochas são encontradas nessas áreas. Em grande parte do litoral do país, esses ambientes estão expostos à intensa hidrodinâmica das ondas (GIERLOFF-EMDEN, 1976).

Entre as variações ou combinações que as praias rochosas de El Salvador apresentam está a ocorrência de rochedos sobre sedimentos arenosos, comuns em faixas próximas a rios que cruzam montanhas que banham o oceano; por exemplo, nas áreas de confluência do Oceano Pacífico, com os seguintes rios: Mizata, La Perla, El Sunzal, Grande (El Tunco), Chimalapa, entre outros (BARRAZA, 2017). A fauna que habita este tipo de habitat está particularmente adaptada aos sedimentos arenosos, e algumas espécies aproveitam as estruturas rochosas (BARRAZA, 2017). A disponibilidade de microhabitats como fendas, cavernas, cobertura de algas, bivalves (SATYAM; THIRUCHITRAMBALAM, 2018), entre outros, é utilizada por diferentes espécies de bivalves, crustáceos, equinodermos como refúgios ou áreas de alimentação ou reprodução (BARRAZA, 2021).

Figura 6 - Praia Mizata (Latitude: 13° 30' 37.63" N e Longitude: 89° 35' 46.53" O), localizada no Departamento de La Libertad, El Salvador, América Central. Fonte: Google Earth.



3.2. Coleta de organismos

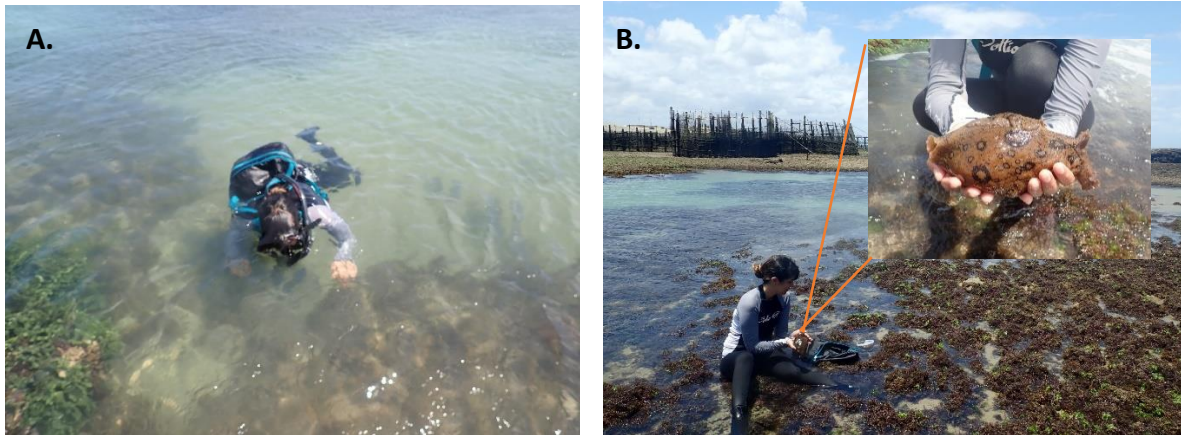
Para coletar os organismos, as áreas de estudo foram percorridas em zig-zag de forma aleatória, durante 4 horas x dia, sendo um total de 24 horas em 6 dias, por todas as áreas de estudo. Se percorreu uma área total de 70,000 m² por praia, enquanto ocorreu maré baixa (maré sizígia). A espécie *Dolabrifera nicaraguana* foi coletada na costa salvadorenha no primeiro trimestre do ano 2020, enquanto as espécies *Aplysia dactylomela* e *Bursatella leachii* foram coletas na costa brasileira no último trimestre do ano 2020. *B. leachii* possui uma etapa do seu ciclo nos estuários, porém é uma espécie oceânica (BAZZICALUPO 2018), e para esse estudo ela foi coletada no estuário por causa da temporalidade de coleta. O número total de indivíduos coletados foi de 48 (Tabela 1).

Os organismos foram procurados sob e debaixo das rochas, perto do sedimento e entre as algas (Figura 7), devido aos hábitos de vida e alimentação. Ao encontrá-los, os animais foram devidamente preservados em uma dissolução de Cloreto de Magnésio (MgCl₂), seguidamente por álcool (Figura 8), e levados ao laboratório para a tomada de medições e análise dos microplásticos.

Tabela 1 - Espécies e total de espécimes coletados nas praias do Atlântico brasileiro e do Pacífico de El Salvador no ano 2020.

Espécie	Oceano de coleta	Sítio de coleta	No de indivíduos
<i>Aplysia dactylomela</i>	Costa Atlântica do Brasil	Praia do Pacheco, praia da Pedra Rachada e praia de Flecheiras	16
<i>Bursatella leachii</i>	Costa Atlântica do Brasil	Estuário do Rio Piranhas-Açu	12
<i>Dolabrifera nicaraguana</i>	Costa do Pacífico de El Salvador	Praia Mizata	20
Total			48

Figura 7 – Coleta das lesmas do mar nos sítios de estudo. (A) Método de busca dos animais no mesolitoral inferior das praias. (B) Coleta da espécie *Aplysia dactylomela* entre macroalgas marinhas.



Fonte: autora.

Figura 8 – Espécimes preservados para a dissecação do trato digestivo no laboratório. A espécie na imagem pertence a *Bursatella leachii*.



Fonte: autora.

3.3. Variáveis dos parâmetros biométricos

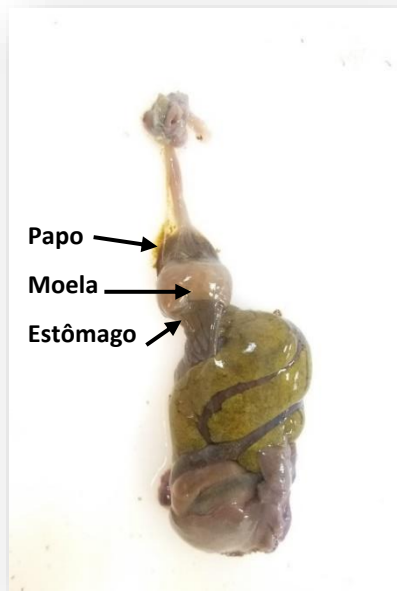
Cada indivíduo coletado teve seus parâmetros biométricos medidos, ou seja, comprimento e peso (Figura 9), medidos respectivamente com fita métrica e balança de precisão. Vale ressaltar que as medições foram do espécime completo, e não de cada órgão a trabalhar do trato digestivo, devido à dificuldade do vazamento do conteúdo estomacal ao dissecar os órgãos. Após as medições, o trato digestivo dos animais foi dissecado para análise das estruturas do papo, moela e estômago (Figura 10).

Figura 9 – Registro de medidas de peso dos espécimes com a balança de precisão no laboratório. A espécie já preservada na imagem é *Bursatella leachii*.



Fonte: autora.

Figura 10 – Morfologia dos órgãos papo, moela e estômago do trato digestivo dissecado do heterobrânquio marinho *Aplysia dactylomela*.



Fonte: autora.

3.4. Tratamento com peróxido de hidrogênio

A decomposição da matéria orgânica foi adaptada da metodologia de Van Cauwenberghe *et al.* (2015), onde diferentes quantidades de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 , 35%) foram misturados aos órgãos do trato digestivo, em uma capela. Os tratos digestivos dissecados foram tratados em diferentes béqueres, contendo de 200 a 400 mL de H_2O_2 .

3.5. Sobrenadante em solução salina PA (NaCl)

Uma solução salina concentrada (250 g de NaCl/L H_2O) foi utilizada como esquema de separação dos microplásticos da matéria orgânica por densidade. As amostras foram agitadas com um agitador magnético em alta intensidade, 500 rpm, por 4 minutos (THOMPSON *et al.*, 2004). Todas as amostras ficaram em repouso por 24 horas num funil de vidro tampado com uma lâmina de alumínio no topo. Além disto, foi colocada uma mangueira de silicone aderida à haste do funil (Figura 11),

sendo dobrada e presa com uma pinça mohr, com o objetivo de separar o microplástico (flutuando como sobrenadante) e os restantes orgânicos ou inorgânicos, desceram para o fundo da mangueira.

Figura 11 – Funil de vidro com solução NaCl para filtrar os microplásticos devidamente tampado para evitar contaminação x partículas do ambiente de trabalho.



Fonte: autora

3.6. Teste de digestão do trato digestivo e filtração dos microplásticos.

3.6.1. Teste de digestão do material biológico.

Para a verificação da técnica de digestão do sistema digestivo dos heterobrânquios marinhos, inicialmente foram analisados três espécimes da *A. dactylomela*. As amostras foram mantidas em refrigeração nos laboratórios de Laboratório de Invertebrados Marinhos do Ceará (LIMCE) e Laboratório de Zoobentos ambos laboratórios do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR) da Universidade Federal do Ceará (UFC), e posteriormente levadas para o teste ao Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos (LACOR) do LABOMAR.

Para a verificação do procedimento de digestão, foram realizados dois testes de experimentação. Na primeira tentativa de experimentação foi observado o tempo de decomposição da matéria orgânica de quatro órgãos do trato digestivo: massa bucal, papo, moela e estômago, adicionando o H_2O_2 em diferentes béqueres contendo os órgãos individualmente (Figura 12) com o primeiro espécime. E, como segunda tentativa de experimentação, se colocaram em placas quentes ($80^{\circ}C$ a $90^{\circ}C$) até que todo o H_2O_2 evaporou.

Figura 12 – Observação do tempo de digestão dos órgãos do trato digestivo das lesmas do mar no laboratório.



3.6.2. Teste de filtração dos microplásticos.

Na fase de filtração dos microplásticos, também foram realizados dois testes de experimentação para conhecer qual era o melhor método de filtração para esse trabalho. No primeiro, o sobrenadante foi retirado com um tubo de absorção da bomba a vácuo, e o líquido superficial se depositou num papel Whatman de 0,39 mm. O papel filtro foi secado a $150^{\circ}C$ na estufa por 30 min.

Se aplicou, também, uma segunda alternativa de metodologia de filtração dos MPs. O sobrenadante foi transferido e lavado em uma malha de abertura de $0,65\ \mu m$, técnica adaptada de Mukhanov (2019), sendo que a abertura era menor a do papel Whatman, para ter maior conhecimento do microplástico de menor tamanho no trato digestivo dos animais. A malha foi dividida em quadros (Figura 13), sendo

que cada um foi aderido ao tamanho de um tubo de metal posicionado verticalmente. O tubo tinha duas aberturas, na abertura do fundo ficou aderida a malha, e na abertura do topo uma lâmina de alumínio para tampar e assim evitar contaminação aerotransportada de MPs. A malha secou em ambiente fechado e esterilizado, em temperatura ambiente e por aproximadamente 24 horas. Após secagem, as malhas foram guardadas cuidadosamente (Figura 14) para serem transferidas às placas de Petri para realizar a análise visual das partículas de microplástico.

Figura 13 - Malha de 0.65 μm para filtração dos microplásticos.



Figura 14 – Malhas guardadas em potes, em sua maioria de vidro, após a filtração e secagem das partículas do microplástico no laboratório.



Fonte: autora.

3.7. Eficácia da extração dos microplásticos

Para testar a eficiência das extrações, cinco amostras de controle foram submetidas às mesmas condições das amostras, com o intuito de determinar se os microplásticos que circulam no ar do laboratório, eram uma possível fonte de contaminação.

3.8. Análise visual e quantitativo dos microplásticos

Para a análise dos MPs, as malhas foram analisadas visualmente com ajuda do Microscópio Estereoscópio Leica S8 APO, também conhecido como “lupa”. Foram registradas as métricas de tamanho, comprimento e largura, através de uma câmera digital de alta resolução Leica EC3. As partículas encontradas foram transferidas para uma fita dupla-face em placas de Petri, adaptando a metodologia de Brookson, 2019; sinalizando e etiquetando partícula por partícula devidamente, para uma possível caracterização química a futuro.

3.9. Caracterização dos microplásticos

Os microplásticos observados foram categorizados de acordo com o tipo morfológico do material, tamanho e cor de acordo com Fukomoto, 2000, Endo *et al.*, 2005 e Sutton *et al.*, 2016; os tipos de partícula, foram: fibra, fragmento, filme, isopor, restos orgânicos e no identificados. E, já que a definição de tamanho adaptado para este estudo segundo Lindeque *et al.*, 2020, sendo de 0,001 – 5 mm; se fizeram duas categorizações de tamanho para o microplástico para a análise qualitativa: 0,03 – 0,9 mm, 1 – 5 mm. E para possível macroplástico encontrado (> 5 mm), se fizeram duas categorizações de tamanho também: 5 – 9,9 mm, 10 – 13 mm. A classificação das cores foi a seguinte: amarelo, azul, branco, laranja, marrom, preto, transparente, verde e vermelho.

3.10. Análise de dados

Os resultados dos parâmetros biométricos foram expressos com as médias \pm desvio padrão obtidos para cada indivíduo, sendo agrupados por suas respectivas espécies.

Para verificar a possível ocorrência de diferenças significativas entre o conteúdo de MPs nas lesmas do mar e se a quantidade da sua ingesta tinha relação com o sítio de coleta (oceano Atlântico e Pacífico), foi utilizado o teste de adequação do X^2 (qui-quadrado) (LUDWIG; REYNOLDS, 1988).

Na comparação das médias entre o comprimento, peso e o conteúdo de microplásticos no trato digestivo das lesmas do mar, se testou a normalidade e homogeneidade, e se aplicou uma Análise de Variância (ANOVA) unifatorial. Como também, se analisou o comprimento e o peso dos aplisídeos mediante uma Análise de Covariância (ANCOVA), que considerou o conteúdo dos microplásticos como covariável. As análises estatísticas foram realizadas usando R.

4. RESULTADOS

4.1. Digestão dos tecidos do trato digestivo e filtração dos microplásticos nos heterobrânquios marinhos

4.1.1. Decomposição da matéria orgânica

Foi observado que era mais simples trabalhar com a decomposição do papo, moela e estômago, órgãos selecionados para avaliar a ocorrência de microplásticos no trato digestivo, ao invés de considerar a massa bucal. Isto porque é um órgão muito musculoso e o processo de decomposição é lento. Além disso, esse órgão tem a função de engolir/transportar o externo até o estomago, e não necessariamente salvar o alimento ou outro tipo de partículas.

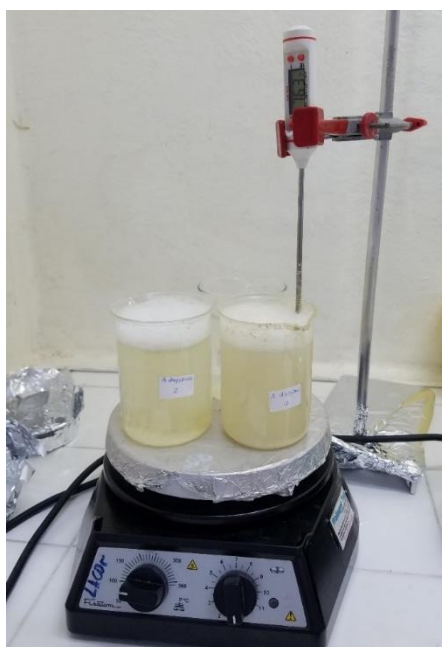
Também foi observado que não era correto separar cada órgão de interesse em diferentes béqueres para adicionar o H_2O_2 e conhecer a quantidade exata de MPs que cada órgão continha, como pensado no início. Ao dissecar os órgãos individualmente, verificou-se derramamento do conteúdo alimentício do trato digestivo, pelo que teria uma possível perda de microplásticos.

O tempo de digestão da matéria orgânica foi rápido apenas quando os béqueres contendo os órgãos em H_2O_2 , foram colocados em placas quentes, havendo uma decomposição de todos os órgãos de 7-16 horas. O tempo variou quando não foram colocados nas placas, sendo de 5 dias a decomposição apenas do papo, enquanto a moela e o estômago, ainda não estavam completamente decompostos no quinto dia (Figura 15). Pelo que a metodologia usando as placas quentes (Figura 16) foi a aplicada para esse trabalho para a aceleração da decomposição.

Figura 15 – Amostras com digestão incompleta da matéria orgânica após vários dias de imersão em H₂O₂ no laboratório. Encontra-se sinalizado com uma flecha um órgão em decomposição.



Figura 16 – Digestão da matéria orgânica do trato digestivo dos espécimes em placas quentes no laboratório.



4.1.2. Filtração dos microplásticos

Na análise visual (na lupa) da primeira tentativa do método de filtração por meio do papel Whatman 0,39 mm, foram observadas algumas partículas de microplástico de cor azul e transparente (Figura 17). Porém, foram observadas também muitas fibras transparentes longas (Figura 18), provavelmente oriundas do

próprio papel filtro. Isto interferiu na observação da amostra, confundindo com os MPs do trato digestivo ou do mesmo papel quando observado na lupa.

Figura 17 - Amostra processada do trato digestivo de um espécime de *Aplysia dactylomela*, mostrando fibras de coloração transparente e azul escuro.

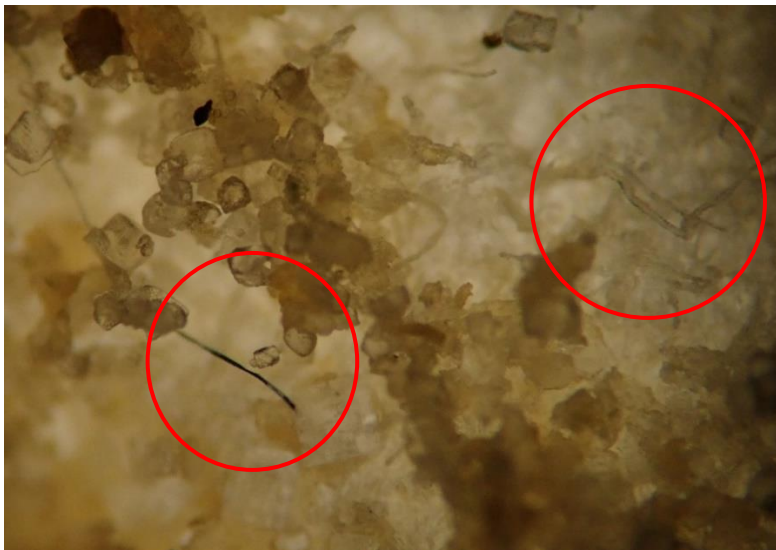


Figura 18 - Interferência de possíveis fibras transparentes longas provenientes do papel filtro Whatman.



Portanto, após a correção do método (filtração com malha de abertura de 0,65 μm), as amostras foram observadas com mais clareza e sem interferências, mostrando-se extremamente eficiente, aprovando essa metodologia de filtração de MPs para esse trabalho.

4.2. Interação de microplásticos com heterobrânquios marinhos da Família Aplysiidae

A presença de microplásticos no trato digestivo de heterobrânquios marinhos da família Aplysiidae foi confirmada pela primeira vez nas espécies *A. dactylomela*, *Bursatella leachii* e *Dolabrifera nicaraguana*. O software LEICA auxiliou na captura de imagens para maiores detalhes no reconhecimento e observação das partículas, como na toma de medida delas (Figura 19). Na tabela 2, descreve-se a porcentagem dos espécimes de cada espécie com microplásticos observado nos seus órgãos, o sítio de coleta delas, a média de MPs calculada por indivíduo, assim como o tipo de MPs e o tamanho médio ingerido.

Figura 19 – Análise visual dos microplásticos através da lupa, e registro de fotografias e medidas das diferentes partículas de microplástico no laboratório.



Fonte: autora.

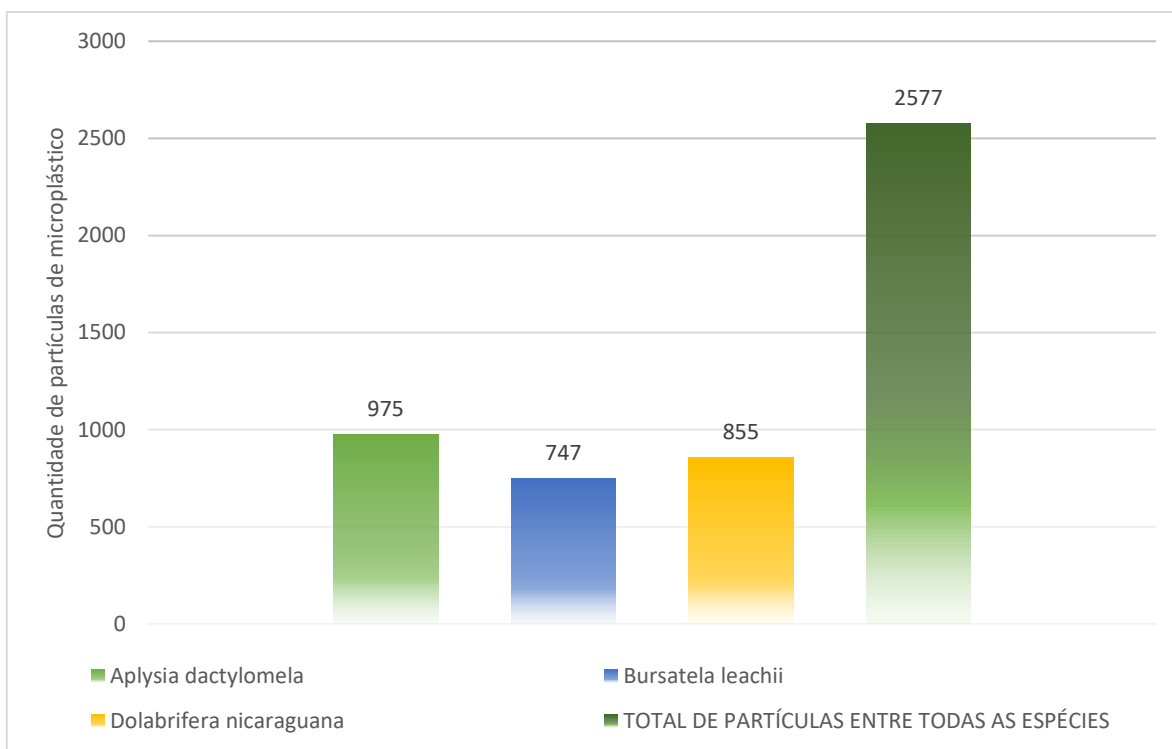
Tabela 2 – Porcentagem de aplisídeos com microplástico no seu trato digestivo, tipo, média de tamanho e de partículas por indivíduo, e a sua localização de coleta, no primeiro e último trimestre do ano 2020.

Espécie	Número de espécimes	Porcentagem com microplástico (%)	Média de microplástico por indivíduo	Tipo de microplástico	Média de tamanho de Mps (mm)	Localização
Familia Aplysiidae						
<i>A. dactylomela</i>	16	100	61.68	Fibra	0,85 mm	Atlântico do Nordeste do Brasil
<i>B. leachii</i>	12	100	68.09	Fibra	0,7 mm	Atlântico do Nordeste do Brasil
<i>D. nicaraguanensis</i>	20	100	48.22	Fibra	0,53 mm	Pacífico central de El Salvador

4.3. Quantificação do microplástico x espécie

O número total de microplásticos identificados nesse estudo foi de 2,577 entre as três espécies. Na Figura 20, temos o total de MPs de cada espécie comparado entre cada uma delas, podendo-se observar que a espécie apresentando a maior quantidade (975 partículas), foi *A. dactylomela*, e com a menor quantidade (747 partículas), *B. leachii*.

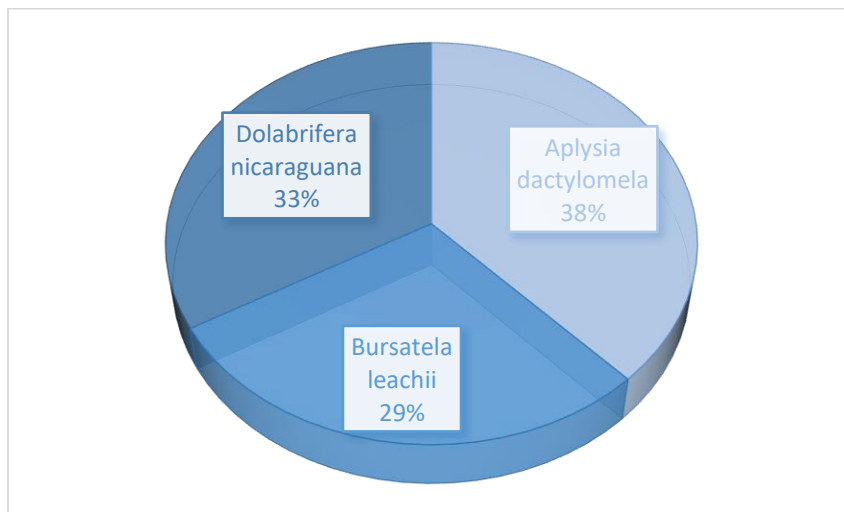
Figura 20 - Número total de partículas de microplástico por espécie.



4.4. Porcentagem de microplástico nas lesmas dos Oceanos Atlântico vs Pacífico

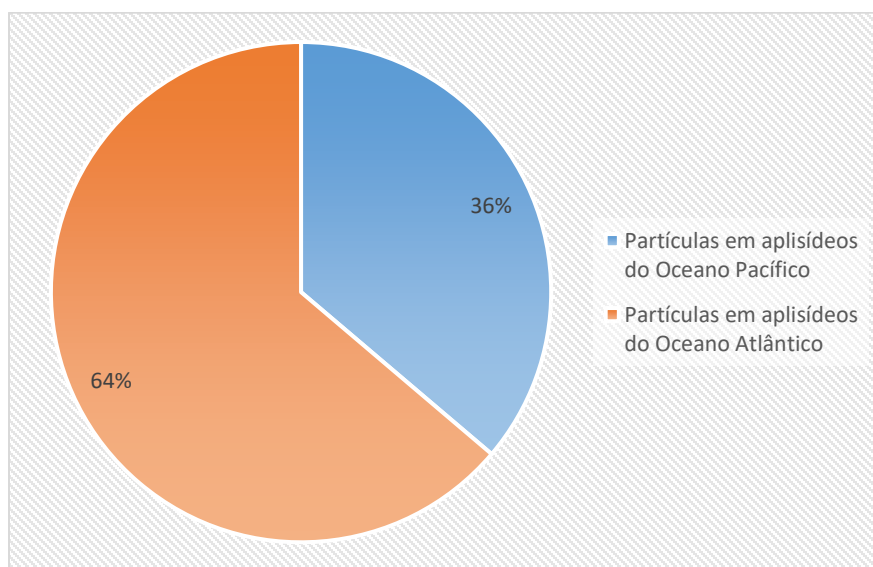
A Figura 21 demonstra que a porcentagem do conteúdo de partículas entre as três espécies, é parecida. Sendo que *A. dactylomela* (oceano Atlântico), é a espécie de maior porcentagem, com 38%, seguido por *D. nicaraguana* (Oceano Pacífico), com 33%, e por ultimo *B. leachii* (Atlântico), com 29%.

Figura 21 – Análise da porcentagem da quantidade de partículas de microplástico por espécie.



Na Figura 22, o gráfico compara a porcentagem total de microplásticos encontrados no trato digestivo das lesmas do mar, e a sua proporção total em relação ao Oceano onde foram coletadas (Atlântico e Pacífico), registrando que os aplisídeos coletados no Atlântico brasileiro, apresentaram a maior porcentagem de MPs para este estudo; sendo que a quantidade de indivíduos por espécie coletados variou, por diferentes circunstâncias da pandemia 2020.

Figura 22 - Comparação da porcentagem total de microplástico entre lesmas do mar coletadas no Oceano Pacífico e Atlântico.



Para poder entender se tinha significância estatística a diferença de porcentagem da ingesta de MPs por parte das lesmas do mar segundo o oceano (Atlântico ou Pacífico) onde foram coletadas as três espécies, se aplicou um teste de adequação do qui-cuadrado (X^2). No teste se obteve que o valor p (0,97) > 0,05, pelo que esse resultado demonstrou que estatisticamente não existe relevância entre os dois sítios de coleta desse estudo (oceano Atlântico e o oceano Pacífico) e a porcentagem de ingesta de MPs nos aplisídeos.

Tabela 3. Valores do teste de adequação do qui-cuadrado para a comparação da porcentagem de ingesta das lesmas do mar em relação ao sítio de coleta (oceano Atlântico e Pacífico).

	1	2	3	TOTAL
Preferência observada	975	747	855	2577
Preferência esperada	979,26	747,33	850,41	
Proporções	38%	29%	33%	
χ^2	0,01853195	0,00014572	0,02477405	0,04345172
valor p				0,97850845

4.5. Dados biométricos dos aplisídeos em relação à ingestão de microplásticos

Para compreender se o peso e tamanho das lesmas do mar, tinham relação com o conteúdo de microplástico no trato digestivo dos indivíduos das espécies, se realizou a análise de medições dos dados biométricos. A espécie *A. dactylomela* apresentou uma média de peso de 138,62 gr. e média de tamanho de 10,64 cm. (comprimento). Em comparação com as outras duas espécies, *A. dactylomela* ultrapassou o peso e tamanho. *D. nicaraguana* foi a espécie de menor média de peso, com 3,46 gr., e média de comprimento, com 3,12 cm. (Tabelas 3 e 4).

A análise do desvio padrão das lesmas do mar, indica uma variabilidade ou dispersão, para o peso entre os indivíduos da *A. dactylomela*, e o peso mais perto da uniformidade entre os indivíduos da *D. nicaraguana*. E, para o comprimento, *A. dactylomela* apresenta mais variabilidade em comparação com a *B. leachii* e *D. nicaraguana*.

Fazendo a análise de comparação entre os dados biométricos dos aplisídeos em relação a ingestão de partículas de MPs, pode-se inferir um possível motivo pelo qual *A. dactylomela* apresentou uma maior quantidade de MPs, podendo ser atribuído ao peso e tamanho. Em contraste com *B. leachii* e *D. nicaraguana*, *A. dactylomela* apresenta uma média de peso e tamanho superior, como demonstrado nas medições dos dados biométricos. Por outro lado, mesmo sendo que para *D. nicaraguana* se obtiveram mais indivíduos coletados (20 espécimes) do que para *A. dactylomela*, porém sendo a de menor tamanho e peso em média, apresentou uma quantidade de MPs menor, porém similar.

Tabela 4 - Média do peso das espécies de heterobrânquios marinhos.

Espécie	Peso Maior (gr)	Peso menor (gr)	Média (gr)	Desvio padrão
<i>A. dactylomela</i>	252,02	34,43	138,32	66,56
<i>B. leachii</i>	24,7	10,12	19,31	5,03
<i>D. nicaraguana</i>	4,8	1,35	3,46	0,90

Tabela 5 - Média do comprimento das espécies heterobrânquios marinhos.

Espécie	Comprimento maior (cm)	Comprimento menor (cm)	Média	Desvio padrão
<i>A. dactylomela</i>	18	5,3	10,48	3,28
<i>B. leachii</i>	7,4	5	6,41	0,83
<i>D. nicaraguana</i>	4,4	2	3,12	0,62

Por outro lado, para conhecer se existia uma relação significativa entre o peso, comprimento e conteúdo de partículas de MPs no trato digestivo dos animais, se analisou mediante um gráfico de dispersão no programa estatístico R. As medidas biométricas consideradas neste estudo não mostraram uma relação entre comprimento total, peso total e o conteúdo de MPs. Nas Figuras 23 e 24 pode-se

observar que os indivíduos maiores apresentam em ocasiões, similar conteúdo de partículas que os indivíduos de menor tamanho.

Figura 23 - Relação da média do peso das lesmas do mar vs o conteúdo de partículas de microplástico no trato digestivo.

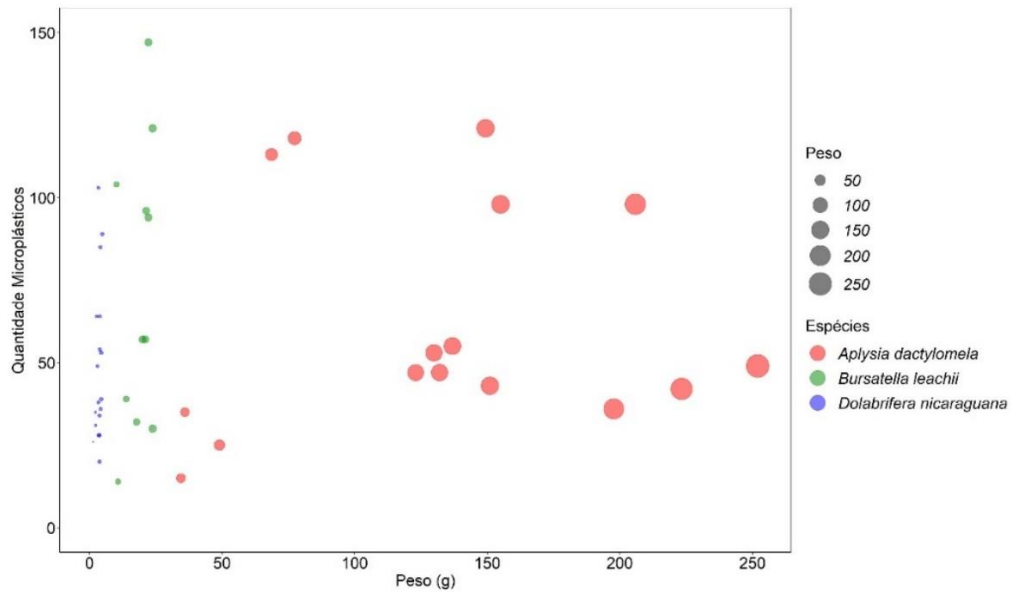
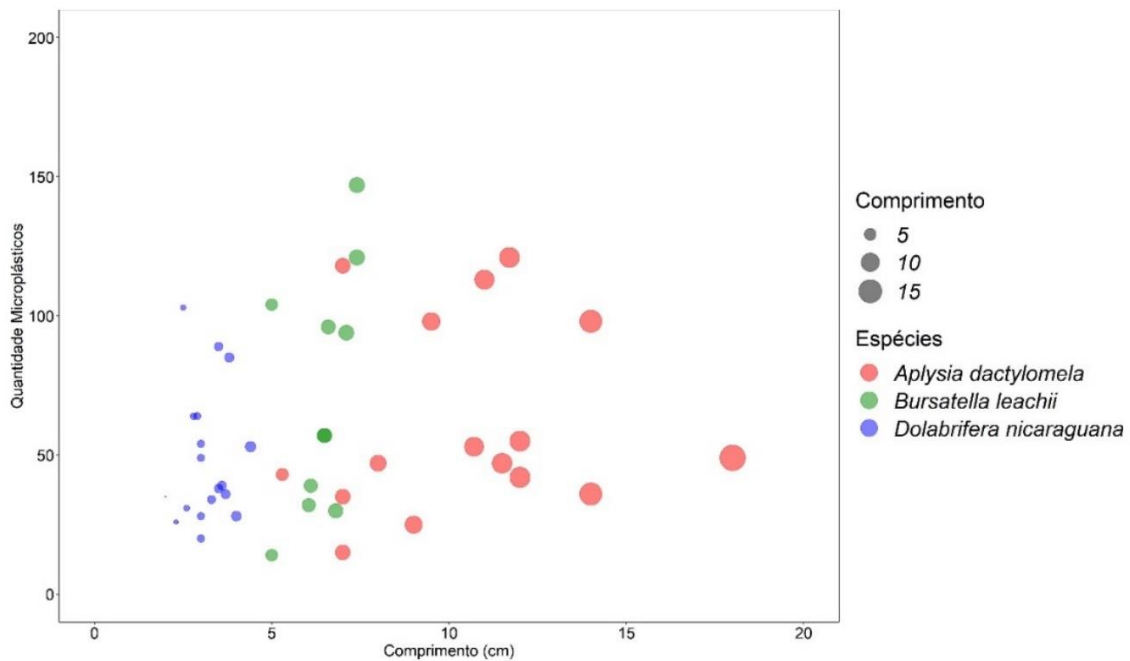


Figura 24 - Relação da média do comprimento das lesmas do mar vs o conteúdo de partículas de microplástico no trato digestivo.



Para comparar as médias entre comprimento, peso e o conteúdo de microplásticos entre as espécies e conhecer se estatisticamente eram significativas, foi testada a normalidade e homogeneidade, atendendo aos pressupostos, pelo que se aplicou uma Análise de Variância (ANOVA) unifatorial. Na ANOVA aplicada tanto para o comprimento e o peso dos animais, resultou que o valor F é que o $p < 0,05$, revelando que o comprimento e peso das lesmas do mar, e a quantidade de conteúdo de MPs no seu trato digestivo são significativamente diferentes (Tabela 6 e 7).

Tabela 6 – Valores da Análise de Variância (ANOVA) para o comprimento das lesmas do mar.

COMPRIMENTO					
	Df	Sum	Mean	F	Pr(>F)
Especie	2	454.2	227.12	54.62	2.06E-12
Residuals	42	174.6	4.16		

Tabela 7 - Valores da Análise de Variância (ANOVA) para o peso das lesmas do mar.

PESO					
	Df	Sum	Mean	F	Pr(>F)
Especie	2	158349	79174	49.84	8.14E-12
Residuals	42	66719	1589		

Se analisou o comprimento e o peso dos aplisídeos, também, aplicando uma Análise de Covariância (ANCOVA) que considerou o conteúdo dos microplásticos como covariável (Tabela 8 e 9). As interações entre fatores e covariáveis normalmente representam os efeitos de consideráveis interesses biológicos (CAYUELA, 2014). Nessa análise estatística não houve nível de significância para p , sendo $p > 0,05$.

As análises anteriores, tanto ANOVA como ANCOVA, indicam que a maior comprimento e peso dos aplisídeos, não há necessariamente uma maior ingesta das partículas de MPs, como era esperado nesse estudo; e pelo contrário, a menor comprimento e peso, não há estritamente uma menor ingesta.

Tabela 8 – Valores da Análise de Covariância (ANCOVA) para o comprimento das lesmas do mar.

	Df	Sum sq	Mean	F value	Pr(>F)
Comprimento	1	2311	2311	2,084	0,156
Especie	2	2503	1251	1,128	0,333
Residuals	41	45470	1109		

Tabela 9 – Valores da Análise de Covariância (ANCOVA) para o peso das lesmas do mar.

	Df	Sum sq	Mean	F value	Pr(>F)
Peso	1	687	687,4	0,611	0,439
Especie	2	3472	1735,9	1,543	0,226
Residuals	41	46125	1125		

4.6. Análise qualitativa e quantitativa dos microplásticos em relação à caracterização morfológica

4.6.1. Tipo de partículas de microplástico

A maior quantidade de partículas de microplástico encontradas foi de fibras sintéticas (Figura 25). Pode-se observar, também, no gráfico da Figura 26 que a porcentagem das fibras foi consideravelmente maior que todos os materiais de plástico observados nos tratamentos digestivos das três espécies, com 98,38 %. Só o 1,62% pertenceu às partículas restantes, sendo esses fragmentos, isopor, restos orgânicos, filme e partículas não identificadas, mostrando algumas partículas observadas nesse estudo na Figura 27.

Figura 25 – Distribuição de microplásticos em relação ao tipo de partícula observadas nas lesmas do mar.

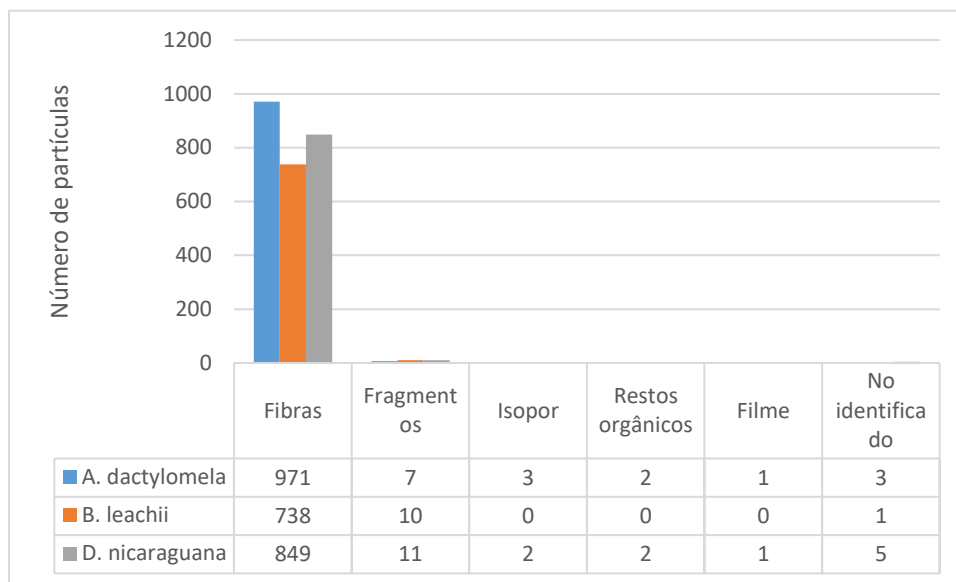


Figura 26 – Porcentagem de microplásticos x tipo de partículas observadas nas lesmas do mar.

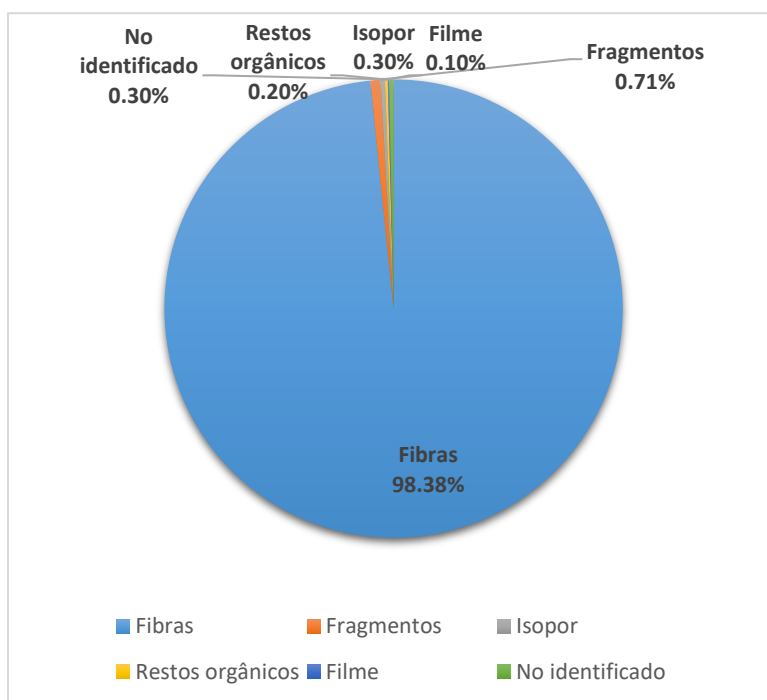
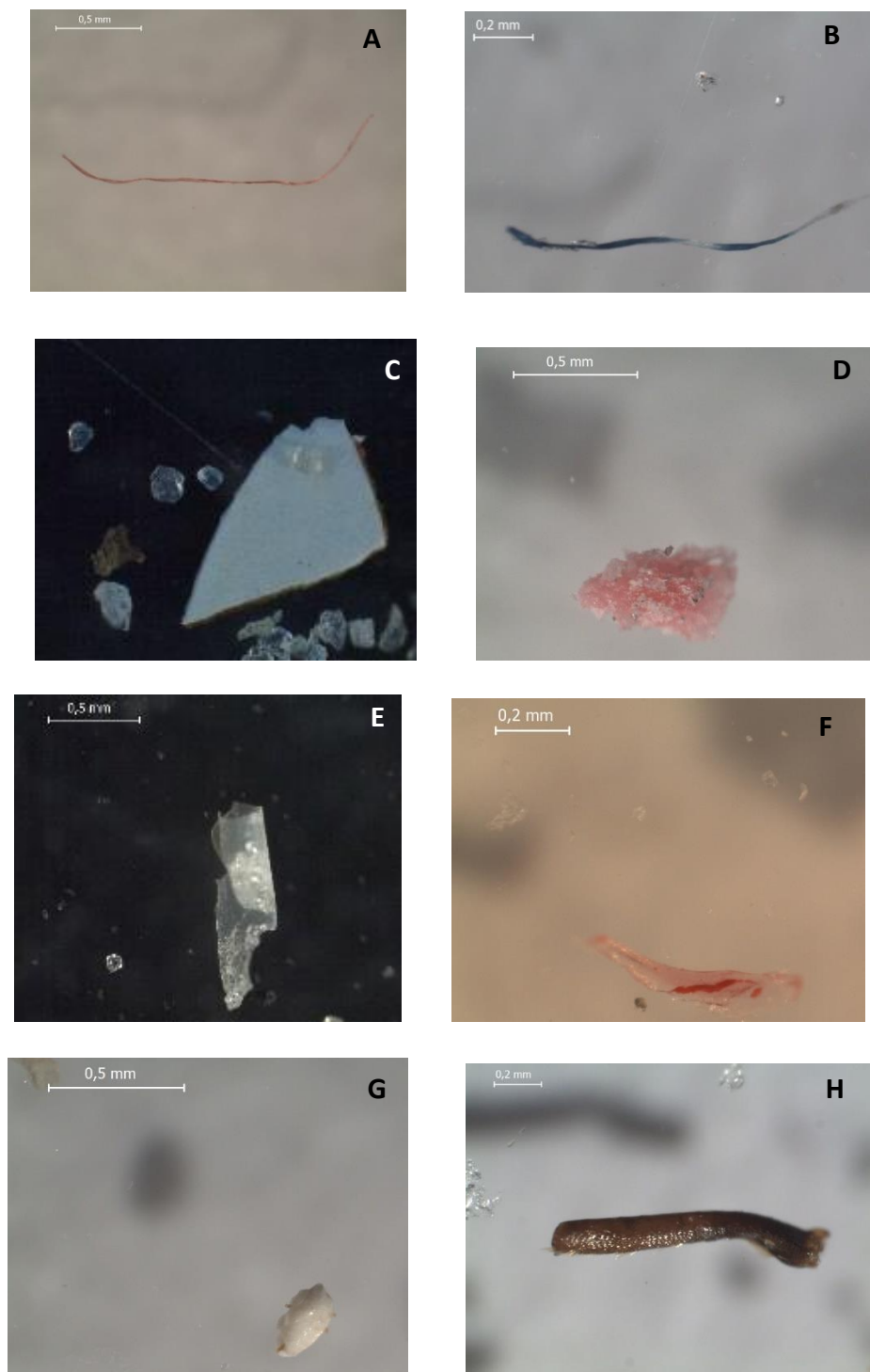


Figura 27 – Diferentes microplásticos segundo seu tipo de partícula observadas nas lesmas do mar. (A, B) Fibra sintética; (C, D) fragmento; (E, F) filme; (G) isopor; (H) resto orgânico.



4.6.2. Tamanho das partículas de microplástico

Foram registradas partículas de diferentes tamanhos na categoria microplástico, com um total de 2,577 partículas (Figura 28). Vale destacar que além dos microplásticos, foram registradas partículas maiores, ou seja, maiores a 5 mm. Isso indicou a presença de macroplásticos no trato digestivo de alguns espécimes de aplísideos das três espécies, com um total de 27 partículas (Figura 29 e 30).

Figura 28 – Distribuição do microplástico observado nas lesmas do mar em relação à classificação x tamanho.

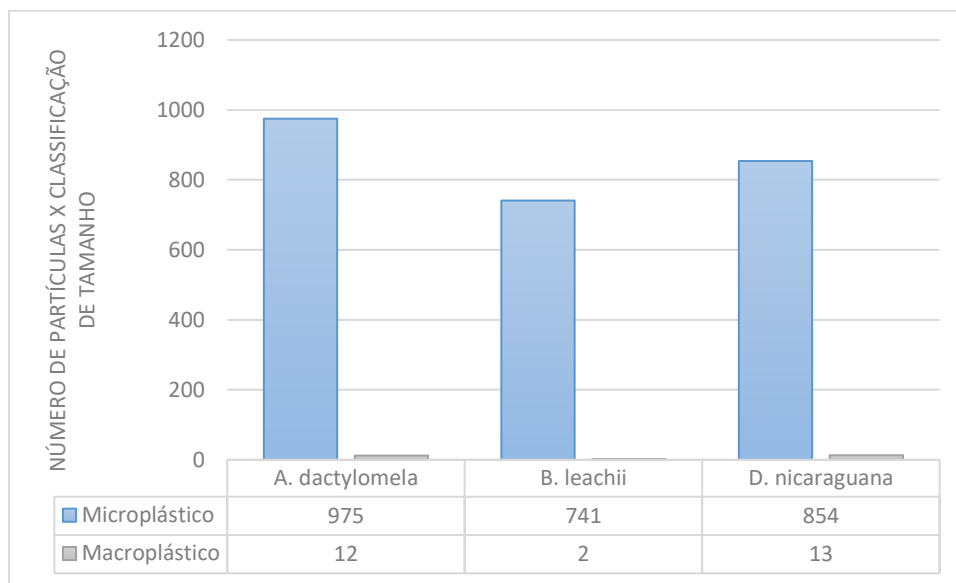
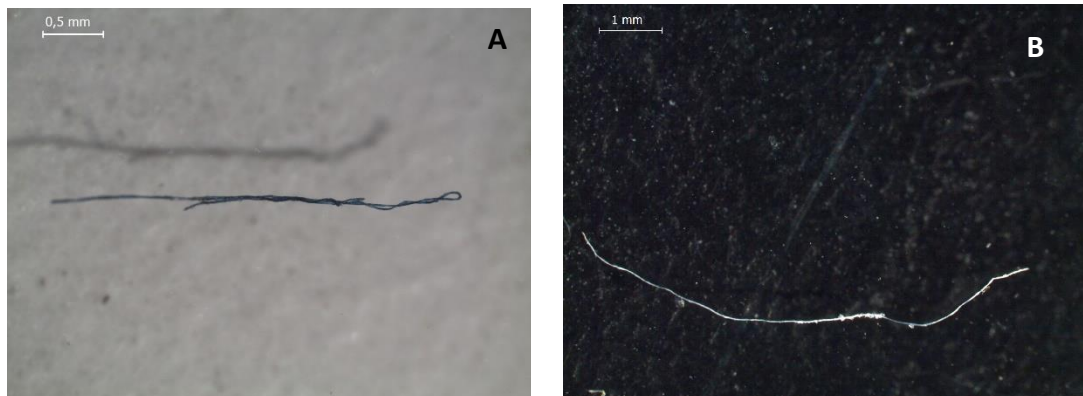
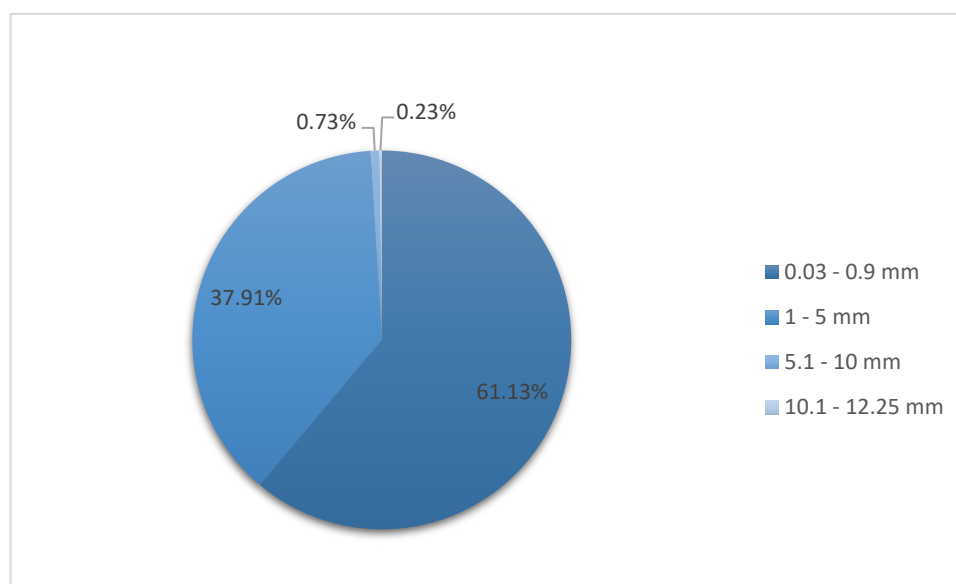


Figura 29 – Fotografias indicando a presença de macroplásticos observados nas lesmas do mar. (A) Partícula de 7,79 mm; (B) partícula de 5,51 mm.



Como mencionado anteriormente, as duas categorizações para os MPs foram de 0,03 – 0,9 mm e de 1 – 5 mm; e as duas categorizações para os macroplásticos foram de 5,1 – 10 mm e 10,1 – 12,25. Observando-se a Figura 30, pode-se afirmar que o macroplástico teve baixa representatividade entre ambas as categorias, com menos de 1%, podendo inferir que o tamanho dos aplisídeos não é o suficientemente grande para aceitar a ingestão de tamanho dos macroplásticos. Por outro lado, os microplásticos observados tiveram a sua maior representatividade, com 99,04%, e os MPs do tamanho de 0,03 – 0,9 mm foram os mais abundantes encontrados nas espécies *A. dactylomela* e *D. nicaraguana*, destacando que *B. leachii* não apresentou nenhuma partícula nessa categoria, ou seja, de tamanho menor a 1 mm.

Figura 30 - Porcentagem de microplásticos x tamanho de partículas observadas nas lesmas do mar.



4.6.3. Cor das partículas de microplástico

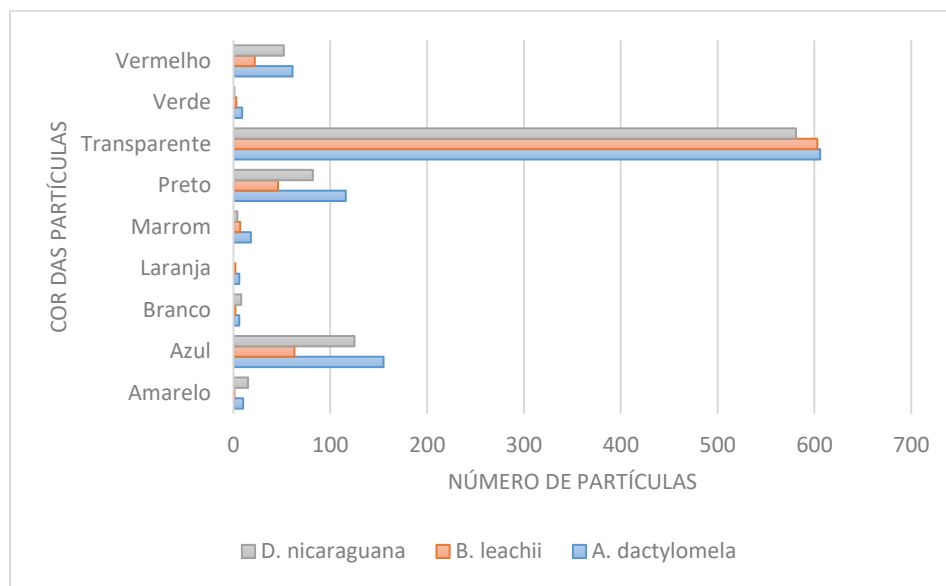
A categorização das cores dos microplásticos encontrados foram de nove cores. Sendo estes, em ordem alfabético, os seguintes: amarelo, azul, branco, laranja, marrom, preto, transparente, verde e vermelho (Figura 31). Sendo que quase todos os aplisídeos compartilharam uma quantidade similar de partículas

para cada cor. A cor transparente, por exemplo, obteve a maior quantidade entre as outras cores (Figura 32) para as três espécies.

Figura 31 – Diferentes microplásticos observados nas lesmas do mar segundo seu tipo de cor. (A) Partícula de microplástico azul; (B) Preto; (C) Vermelho; (D) laranja; (E) branco; (F) transparente.

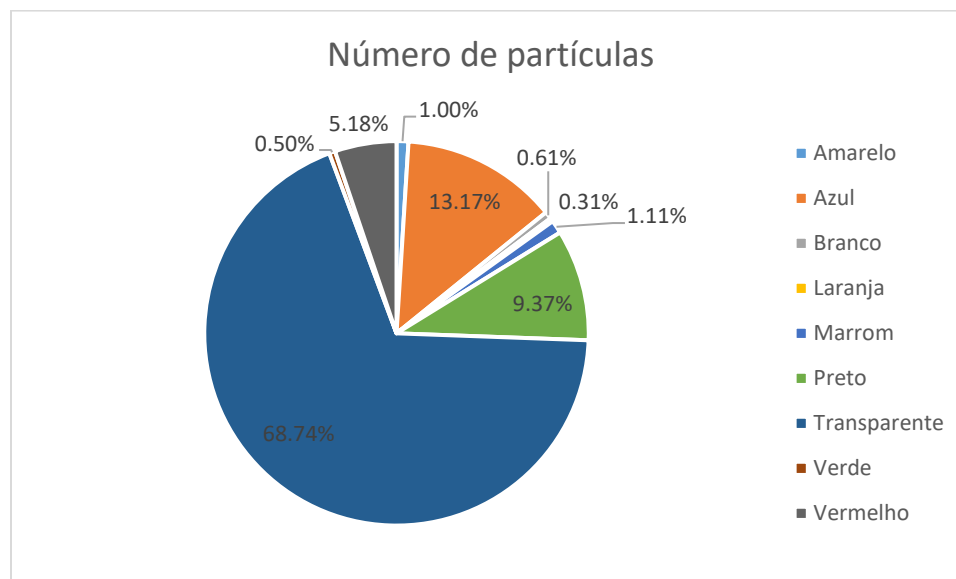


Figura 32 - Distribuição de microplásticos observados nas lesmas do mar em relação à cor da partícula.



A maior porcentagem da classificação dos microplásticos quanto às cores foi das partículas transparentes, com uma representatividade de 68,74% (Figura 33), seguido pelas azuis (13,17%), preto (9,37%) e vermelho (5,18%). O restante de partículas dos outros cores tiveram uma representatividade ainda mais baixa, sendo as partículas de cor marrom com 1,11%, amarelo (1%), branco (0,61%), verde (0,50%) e, as partículas com mais baixa representatividade foram de cor laranja, com 0,31%.

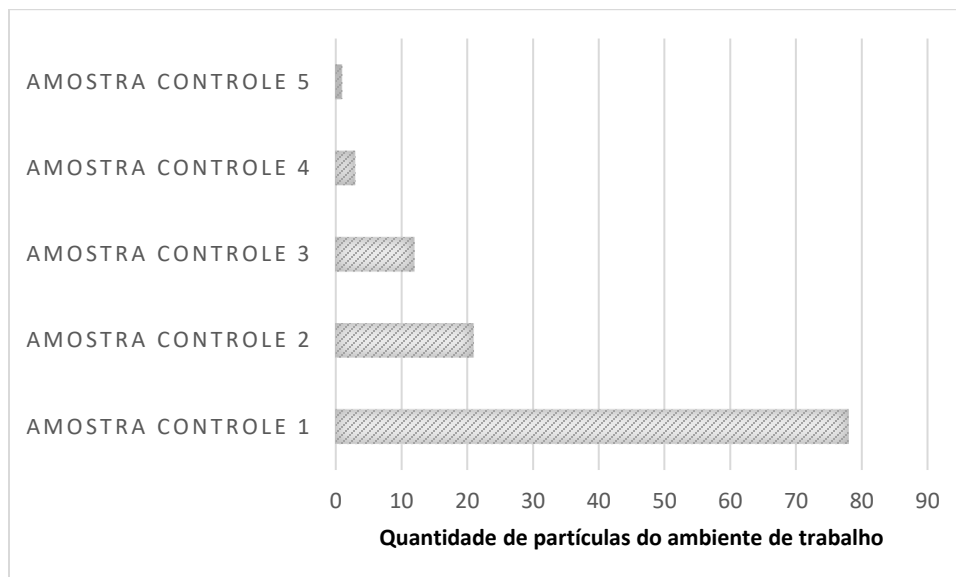
Figura 33 - Porcentagem de microplásticos observados nas lesmas do mar x cor das partículas.



4.7. Infiltração de partículas de microplástico vindo do ambiente de trabalho

Foram encontradas partículas de microplástico em todas as amostras de controle (5) que acompanharam tanto o procedimento de digestão da matéria orgânica como da análise visual dos MPs nos aplisídeos, se colocando caixas de petri previamente esterilizadas, onde estavam expostas à transmissão aerotransportada de MPs no ambiente de trabalho. O número total de MPs nessas amostras de controle foi de 115 partículas. Sendo de 78 MPs a maior quantidade, para a amostra de controle 1, e uma partícula para a amostra de controle 5 (Figura 34).

Figura 34 - Distribuição de microplástico em relação às amostras de controle do ambiente de trabalho.



Na Tabela 10 se mostram as características do ambiente de trabalho onde as diferentes amostras de controle foram expostas. As características foram adicionadas, para poder realizar uma possível relação entre a quantidade de partículas e essas características, sendo: o tipo de procedimento realizado no laboratório nesse momento, o tamanho do ambiente de trabalho e o fluxo de pessoal presente.

A amostra de controle 1, que teve a maior quantidade de MPs, foi colocada num ambiente de trabalho (laboratório) relativamente pequeno e sem ventilação externa e fluxo de pessoas de seis em total, no momento do procedimento. E já que o 100% de todos os MPs eram fibras, poderia se inferir que os tecidos da roupa ou manejo de instrumentação no laboratório, poderiam ter gerado algum tipo de contaminação. Com isso último, e poucas pessoas (1) no ambiente de trabalho da amostra de controle 5, com só 1 partícula de microplástico observada, pode se relacionar que essas partículas circulam mais no laboratório à medida que tem mais fluxo de pessoas. Como mencionado por Torre *et al.* (2016), no ambiente de trabalho e vida humana diária, as microfibras aerotransportadas podem ser facilmente transportadas (pelo ar).

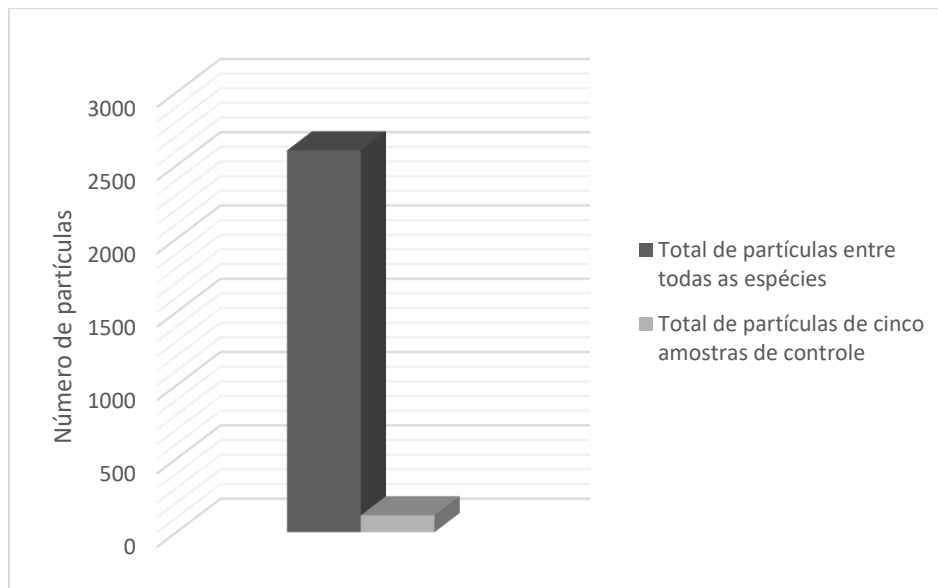
Tabela 10 – Quantidade de partículas de microplástico x contaminação do ambiente de trabalho e descrição das características dos laboratórios.

Etiqueta de amostra de controle	Quantidade de partículas	Tipo e porcentagem de microplástico	Características do ambiente de trabalho		
			Tipo de procedimento no laboratório ao momento da análise	Tamanho do ambiente de trabalho	Fluxo de pessoas no ambiente de trabalho
Amostra de controle 1	78	Fibra 100%	Digestão da matéria orgânica dos heterobrânquios marinhos	Ambiente pequeno	Porcentagem baixo de pessoas (~6)
Amostra de controle 2	21	Fibra 100 %	Digestão da matéria orgânica dos heterobrânquios marinhos	Ambiente pequeno	Porcentagem baixo de pessoas (~6)
Amostra de controle 3	12	Fibra 100 %	Análise visual dos microplásticos na lupa	Ambiente mediano	Porcentagem baixo de pessoas (~4)
Amostra de controle 4	3	Fibra 100 %	Análise visual dos microplásticos na lupa	Ambiente mediano	1 pessoa (autora) devido ao lockdown
Amostra de controle 5	1	Fibra 100 %	Análise visual dos microplásticos na lupa	Ambiente mediano	1 pessoa (autora) devido ao lockdown

Fonte: autora.

Mesmo assim, analisando a Figura 35, onde se compara a porcentagem total de partículas de MPs entre todas as espécies e das cinco amostras controle, pode-se observar uma quantidade de contaminação relativamente baixa em comparação ao total de partículas no trato digestivo dos organismos. Sendo que o total de partículas de macro e microplástico nos aplisídeos foi de 2,604, e o total de macro e microplásticos nas amostras de controle, foi de 115.

Figura 35 - Comparação da quantidade total de partículas de microplástico do ambiente de trabalho vs número total de microplásticos observados no trato digestivo das lesmas do mar.



5. DISCUSSÃO

A presença de microplásticos registrada nos heterobrânquios marinhos era esperada. De acordo com BROWNE *et al.* (2010) e MCCORMICK (2016), organismos que habitam áreas costeiras frequentemente urbanizadas, como é o caso das espécies deste estudo, são mais suscetíveis à transferência trófica de microplásticos nestas áreas do que em outros habitats (ARRUDA, 2018). E, mesmo que seja a primeira evidência de registro de MPs para os heterobrânquios marinhos, os MPs haviam sido registrados em outros moluscos como mexilhões e ostras (VAN CAUWENBERGHE, 2014).

A presença de partículas de MPs em ambos os Oceanos e estuário, como a sua bioacumulação nos diversos organismos no hábitat, também já tinha sido confirmada, pelo que poderia ser esse o motivo de porquê as lesmas do mar que habitam ambos os oceanos apresentam certa porcentagem similar de ingesta de MPs. Eriksen *et al.* (2014), Song *et al.* (2014) e Cózar *et al.* (2015) mencionam sobre os mais altos níveis de contaminação de microplásticos do mundo no Oceano Pacífico Norte e seus mares marginais. No Pacífico Oriental Tropical, especificamente em El Salvador, Barraza *et al.* (2021) determinaram e compararam densidades de MPs em águas superficiais marinho-costeiras do país, ocorrendo presença de partículas de MPs.

No Oceano Atlântico Equatorial Ocidental (Brasil), Garcia *et al.* (2020), encontraram grandes densidades de microplásticos em estações próximas a locais altamente urbanizados, como a região metropolitana de Fortaleza e grandes estuários e áreas de pesca. Fato este relacionado à alta quantidade e porcentagem de MPs nas espécies coletadas entre essas áreas de estudo.

Nos estuários também tinham sido identificados organismos que apresentaram MPs nas suas estruturas gastrointestinais. Num estuário de Rio Grande do Norte, no rio Tramandaí, foram identificaram MPs em conteúdo de peixes que habitam o sítio, sendo que apenas um indivíduo não apresentou contaminação por microplásticos (ARRUDA, 2018). Coincidindo com a *B. leachii*, espécie que foi coletada para este trabalho, em um estuário situado no Rio Grande do Norte (no rio

Piranhas-Açu), oceano Atlântico, apresentou uma porcentagem significativa de MPs no seu trato digestivo.

Por outro lado, a grande quantidade de partículas de MPs que se encontrou nos 16 espécimes da *A. dactylomela*, também pode ser devido a sua alimentação, uma vez que esta pasta macroalgas e tem preferência por as algas. Em estudos de laboratório com esta espécie, foi demonstrado uma preferência por algas verdes dos gêneros *Enteromorpha*, *Ulva* e *Cladophora* (CAREFOOT, 1967).

Num estudo feito por Peller *et al.* (2021), foram analisadas amostras da alga *Cladophora*, resultando, no geral, altas cargas de microfibras sintéticas, sugerindo sequestro e concentração de micropoluentes do ambiente aquático. Feng *et al.* (2020b), demonstraram a capacidade das algas de coletar e concentrar microfibras. Portanto, pode haver uma correlação entre a grande quantidade de MPs no trato digestivo das *A. dactylomela* e aos seus hábitos alimentícios, tendo uma grande voracidade, conseguindo ingerir quantidades diárias iguais ao seu próprio peso (BASAGUREN-ANSOLEAGA, 2008).

A quantidade de microplástico no sistema digestório de *D. nicaraguana* pode estar relacionada aos hábitos alimentares. Estudos sugerem que seus hábitos alimentícios se baseiam em pastar a alga verde turf (Chlorophyta) (MARSHALL; WILLAN, 1999; RUDMAN, 2010). O turf é representado por camadas espessas e escassas de algas diminutas e jovens com menos de 2 cm de altura (LITTLER; LITTLER, 2011). E Saley *et al.* (2019), pesquisaram as concentrações de microplásticos associados com à alga turf, onde quantificaram a presença de MPs nesse tipo de alga. Pelo que o tipo de alimentação poderia ter uma ligação do porquê partículas de microplástico foram registradas nessa espécie.

Tem pesquisas que demonstram a preferência alimentícia de *B. leachii* em relação às cianobactérias, porém também pelas algas verdes (CLARKE, 2006). E como já foi mencionado anteriormente, foi registrada a presença e até acumulação dos MPs nesse grupo de macroalgas. Registrando, para este estudo, 749 partículas de microplástico em 12 espécies da *B. leachii*. Sendo interessante ressaltar que mesmo a média no peso e tamanho desta espécie supera à *D. nicaraguana*. E de outro ponto de vista, como mencionado, esta espécie também se alimenta de

cianobactérias, sendo que existem estudos no laboratório como de Silva *et al.* (2020), que estudaram a interação de cianobactérias marinhas e agregados de plástico como o nano poliestireno, sendo observada a interação no Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM).

Enquanto aos tipos de partículas de MPs encontrados neste trabalho, se coincidindo com o estudo de Garcia *et al.* (2020), onde a quantidades de fibras e densidades de plástico rígido, como os fragmentos, também eram altas para a região do Atlântico, concordando também com o sítio onde foram coletados alguns espécimes deste trabalho. No seu estudo, sugere-se que a presença de grandes quantidades de fibras pode ter origem na fragmentação das artes de pesca, visto que a pesca é uma atividade importante na região, como menciona Soares (2017). No Pacífico de El Salvador, onde também existem áreas de pesca importantes, similarmente houve uma maior concentração de partículas de microplástico, onde 85% correspondiam a fibras e os 15% restantes para fragmentos (BARRAZA *et al.*, 2021).

É muito comum entre as diferentes pesquisas sobre MPs com água marinha e fauna marinha, que as fibras sejam o tipo predominante, seguidas dos fragmentos, enquanto as outras partículas estão presentes em menor porcentagem. Nos moluscos, por exemplo, três espécies entremarés do Pacífico de Perú, apresentaram resultados similares com predominância de fibras sintéticas em 84.87% para uma das espécies (*Chiton granosus*), e 15.13% de fragmentos (DE-LATORRE *et al.*, 2020). Arruda (2018), também contabilizou em peixes estuarinos mais fibras plásticas do que outro tipo de plástico.

Também, alguns estudos descobriram que as partículas menores são mais acumulativas do que as partículas maiores nos organismos (WRIGHT *et al.*, 2013; DENG *et al.*, 2017). E Dawson *et al.* (2018) ilustrou que os microplásticos podem sofrer fragmentação adicional durante os processos digestivos. Pelo que o anterior poderia se relacionar e ser um motivo do porquê os aplisídeos apresentaram maior quantidade de MPs de menor tamanho. Como Liu *et al.* (2021) menciona no seu estudo com diferentes tipos de moluscos, a abundância de microplásticos tendeu a diminuir quando a partícula era de um tamanho maior. Para o estudo de Liu, a faixa

de tamanho de 0,3–0,4 mm foi a mais abundante entre os microplásticos menores que 0,5 mm nos moluscos, seguida pela faixa de tamanho de 0,1–0,2 mm. Em contraste de microplásticos de maior tamanho (1,5 - 5 mm) foram de menor porcentagem; parecido com os moluscos aplisídeos neste estudo.

Enquanto às cores das partículas, o resultado da presença de maior proporção das partículas transparentes para este estudo, é similar para estudos com outros moluscos. Amêijoas da Ásia foram estudadas por Su *et al.* (2018), resultando ser que as fibras mais dominantes eram compostas de cores azuis e transparentes, com mais do 30% de todas as partículas de MPs nesses organismos, sendo significativamente mais abundantes do que outras cores.

Em contraste com o estudo de Wang *et al.* (2017), Shaw e Day, (1994), Su *et al.* (2016), Peters *et al.*, (2017) e Zhang *et al.* (2018), as cores mais detectadas em diferentes peixes marinhos incluem branco, verde, amarelo, laranja, vermelho, azul, cinza e preto; e não partículas transparentes como para os aplisídeos. Também, Arruda (2018), encontrou 52% fibras pretas, 17% azuis e 12% brancas em peixes estuarinos; sendo um contraste com este estudo inclusive com a *B. leachii* que foi coletada num estuário, sendo que também apresentou maior presença de fibras transparentes, porém porcentagem parecido com as partículas azuis nos peixes. Chen, Li e Li (2020) relatam que os MPs coloridos são os mais dominantes entre as amostras de plástico coletadas em água, respondendo por 50,4-86,9% do total de MPs.

A maior presença de partículas transparentes nas três espécies deste estudo, poderia ter a sua resposta no que Croce e Van Amerongen (2014) e Karpestam *et al.* (2014) mencionam, isso é que no ambiente natural, a cor é uma das características evolutivas mais essenciais para os organismos, seja para evitar a predação por seus predadores ou para capturar recursos de luz adequados (CHEN; LI; LI, 2020). Outros estudos indicam que os predadores são propensos a ingerir MPs com cores semelhantes às de suas presas, seja por meio de seleção preferencial ou ingestão incorreta (BOERGER *et al.*, 2010).

E com o anterior, é interessante destacar que mesmo no estudo de Su *et al.* (2018), com as amêijoas, os padrões de cores dos microplásticos em mariscos

asiáticos sugerem que eram semelhantes aos da água, porém mais semelhantes aos dos sedimentos, com maior presença de partículas transparentes e azuis. Porém, essa seleção ou ingestão indireta de partículas de diferentes cores por parte organismos, ainda é mal compreendida (CHEN; LI; LI, 2020), e neste caso, ainda falta conhecer mais sobre essa temática nos heterobrânquios marinhos.

Em relação à confirmação de contaminação aerotransportada de MPs pelo ambiente de trabalho nas amostras de aplisídeos, Torre *et al.* (2016) confirmou, também, no seu estudo, a alta probabilidade de contaminação por microfibras transmitidas pelo ar durante o processamento do conteúdo gastrointestinal dos peixes. E Roux *et al.*, 2001; Fries *et al.*, 2013, Woodall *et al.*, 2015 e Duis e Coors, 2016a, documentaram a alta probabilidade de contaminação de fundo por microfibras transportadas pelo ar durante a coleta de amostras e análise de laboratório.

Sabe-se que quando possível, o mais recomendado para evitar contaminação de MPs por transmissão no ambiente de trabalho, é trabalhar as amostras em ambientes fechados e esterilizados (tanto o ambiente como os instrumentos), e a roupa adequada. Van Cauwenberghe (2014), devido a esses rigorosos cuidados adotados durante o manuseio e processamento das amostras no seu estudo com bivalves, evitou a contaminação por microplásticos (do ar) com sucesso. Pelo que é recomendável adotar essas medidas para futuros trabalhos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Macro e microplástico foram registrados pela primeira vez no sistema digestivo das lesmas do mar, sendo este o primeiro estudo comparativo de caso realizado entre o oceano Atlântico e Pacífico, que englobou quatro praias e um estuário.

Para o desenvolvimento da dissertação, foram aplicados dois testes de digestão e filtração de microplásticos, com o objetivo de avaliar o tempo de digestão nos órgãos estudados, bem como o melhor método de filtração dos MPs, visto que este estudo constitui a primeira abordagem da presença de MPs em heterobrânquios marinhos a nível regional e global, e tendo em vista que o segundo método aplicado se tornou extremamente eficaz na digestão de tecidos, é importante considerá-lo em estudos a futuro com heterobrânquios marinhos.

Dos 48 espécimes coletados entre os sítios de coleta, todos os indivíduos apresentaram presença de microplásticos. Uma vez que a presença dos microplástico foi constatada nos heterobrânquios marinhos coletados, são necessárias novas pesquisas com outros indivíduos e espécies presentes nas duas regiões para conhecer se as outras espécies de lesmas do mar estão contaminadas por microplástico.

Na comparação da porcentagem do conteúdo de MPs nas lesmas do mar do oceano Pacífico e Atlântico, o teste de adequação do qui-quadrado mostrou que estatisticamente não há diferença na ingestão de MPs entre as espécies em relação ao oceano onde foram coletadas, ou seja, que o sítio ou hábitat não foi relevante enquanto a porcentagem de ingestão de MPs nas espécies. Podendo ser devido a que, segundo confirmação de outros estudos, vários pontos de ambos os oceanos encontram-se contaminados de MPs. Além, os estatísticos aplicados, ANOVA e ANCOVA, junto ao gráfico de dispersão, em relação aos dados biométricos (peso e tamanho) e a quantidade de ingestão de MPs, demonstraram que estatisticamente o peso e tamanho dos aplisídeos não é significativo em relação à quantidade de partículas de microplástico que podem ingerir os indivíduos das espécies.

A porcentagem de distribuição de MPs em relação à sua cor, é de 68.74% de partículas transparentes, 13.17% azuis, 9.37% preto, 5.18%, vermelho, 1.11% marrom, 1% amarelo, 0.61% branco, 0.50% verde e 0.31% laranja. E identificado também macroplásticos, com uma porcentagem de 0.96 %, sendo que o microplástico teve a sua maior representatividade com 99.04%; e o microplástico de menor tamanho classificado em 0,03 – 0,9 mm, foram as partículas mais abundantes.

Entre o macro e microplástico observado, foram contabilizadas 2,556 partículas de fibras, 28 de fragmentos, 5 de isopor, 4 de restos orgânicos, 2 de filme e 9 partículas no identificados. Da análise dos resultados obtidos quanto ao tipo de partícula, faz-se uma observação que requer maior detalhamento na sua análise: a presença de uma maior quantidade de fibras em todas as espécies. E, sendo a atividade pesqueira fortemente desenvolvida na região costeira tanto brasileira como salvadorenha, poderia ser das possíveis fontes de contaminação por fibras/nylon como os mais abundantes nos animais.

Se fez um levantamento de informação da quantidade de contaminação de microplásticos através do ambiente de trabalho através de amostras de controle, aplicando-se o mesmo procedimento e análise visual nas partículas das amostras do trato digestivo dos aplisídeos, podendo-se observar contaminação por presença de MPs aerotransportados do lugar de trabalho com 115 partículas de MPs nas amostras de controle, e 2 partículas em total de macroplástico.

A presença de macro e microplástico comprovada nos aplisídeos, traz outras preocupações e consequências para estes organismos, como possível incrustação das partículas nas células, como já tem sido abordado em outros invertebrados. Desta forma, recomendam-se o estudo dessas partículas para todos os grupos de lesmas marinhas, como, posteriormente, pesquisa sobre como estão lhes afetando no seu desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

AMORIM, A. **Mecanismos de resolução de conflitos em bacias hidrográficas compartilhadas: o caso das bacias dos Rio Piranhas- Açú (Brasil) e Tejo (Península Ibérica)**. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Campina Grande, 2016.

ANA. **Plano de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio Piranhas-Açú**. Brasília, DF, Brasil: [s.n.], 2014.

ANDRADY, A. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, 62:1596-1605, 2011.

ANGULO, O. (2003). **Variación espacio-temporal de las poblaciones de opistobranquios (Mollusca: Opisthobranchia) en tres localidades de B.C.S., México**. Tese (Mestrado) - Instituto Politécnico Nacional, 2003.

ARRUDA, J. (2018). **Caracterização de microplásticos em conteúdo de tratos gastrointestinais de peixes do estuário do Rio Tramandaí - Litoral Norte do Rio Grande do Sul através de digestão de tecidos biológicos**. Tese (Bacharelado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2018.

BARBOSA, F.; ADEYEMI, J.; BOCATO, M.; COMAS, A.; CAMPLIGIA, A. A critical viewpoint on current issues, limitations, and future research needs on micro- and nanoplastics studies: from the detection to the toxicological assessment. **Environmental Research**, 182. 109089. 10.1016/j.envres.2019.109089, 2020.

BARNES, D.; GALGANI, F.; THOMPSON, R.; BARLAZ, M. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philosophical transactions of the Royal Society of London**, Series B, Biological sciences, v. 364, n. 1526, p. 1985–98, 2009.

BARRAZA, E.; MELARA, V.; CHRISTOPH, R. (†); HERNÁNDEZ, A.; MUÑOZ, R.; BÜSCHER, W.; VENTURA, J.; HUMBERSTONE, J.; SANZ, A. Microplásticos en agua superficial de la costa de El Salvador. **Realidad y Reflexión**, N.º 54, San Salvador, El Salvador, Centroamérica, 2021.

BARRAZA SANDOVAL, E.; MELARA, V.; PICARDO, A. Poliquetos y otra fauna macrobentónica asociada de la franja intermareal rocosa de Mizata, La Libertad, El Salvador. **Realidad y Reflexión**, 54(54), 252–265, 2021.

BARRAZA, E. Medición de la cantidad de residuos plásticos pequeños en algunas playas de El Salvador. **Realidad y Reflexión**. 45. 45-54. 10.5377/ryr.v0i45.4421, 2017.

BARRAZA, E. **La sensibilidad ambiental de los ecosistemas costeros de el salvador ante derrame de hidrocarburos**. Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación (ICTI), Universidad Francisco Gavidia. ISBN 978-99923-47-62-1, 2017.

BASAGUREN-ANSOLEAGA, A. Alimentación selectiva de la liebre de mar (*Aplysia dactylomela* Rang, 1828) en una dieta multiespecífica de macroalgas. **Anales Universitarios de Etología**, 2:7-12, 2008.

BAZZICALUPO, E.; CROCETTA, F.; ESTORES-PACHECO, K.; GOLESTANI, H.; BAZAIRI, H.; GIACOBBE, S.; JAKLIN, A.; POURSANIDIS, D.; SNEHA, B.; LUCAS, J.; VALDÉS, A. Population genetics of *Bursatella leachii* (De Blainville, 1817) and implications for the origin of the Mediterranean population. **Helgol Mar Res** 72, 19, 2018.

BIRNSTIEL, S.; SOARES-GOMES, A.; DA GAMA, B. Depuration reduces microplastic content in wild and farmed mussels. **Marine Pollution Bulletin**, 140: 241-247, 2019.

BOERGER, C.; LATTIN, G.; MOORE, S.; MOORE, C. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. **Mar. Pollut. Bull.**, 60, pp. 2275-2278, 2010.

BRANDON, J.; JONES, W.; OHMAN, M. Multidecadal increase in plastic particles in coastal ocean sediments. **Sci. Adv.**, 5, Article eaax0587, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Águas. **Plano de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do rio Piranhas-Açu: relatório técnico**. Brasília: MMA/ANA, 2015a.

BRITO, C. **Microplásticos na plataforma continental do Ceará: Desembocaduras dos rios Cocó e Ceará**. Tese (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, 2018.

BROOKSON, C.; DE SOLLA, S.; FERNIE, K.; CEPEDA, M.; ROCHMAN, C. Microplastics in the diet of nestling double-crested cormorants (*Phalacrocorax auratus*), an obligate piscivore in a freshwater ecosystem. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 2019.

BROWNE, M.; CRUMP, P.; NIVEN, S.; TEUTEN, E.; TONKIN, A.; GALLOWAY, T.; THOMPSON, R. Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: 406 Sources and Sinks. **Env. Sci Technol**, 45, 9175–9179, 2011.

BROWNE, M.; GALLOWAY, T.; THOMPSON, R. Spatial Patterns of Plastic Debris along Estuarine Shorelines. **Environmental Science & Technology**. 44. 3404-9, 2010.

CARDOSO, D. **As redes sociais virtuais na formação da imagem turística da Praia de Flecheiras/CE**. Tese (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, 2018.

CAREFOOT, T. Growth and nutrition of *Aplysia punctata* feeding on a variety of marine algae. **Journal of The Marine and Biological Association of U.K.**, 47:565–589, 1967.

CAYUELA, L. **Modelos lineales: Regresión, ANOVA y ANCOVA**. Área de Biodiversidad y Conservación, Universidad Rey Juan Carlos, Departamental 1 – D1. 231, c/ Tulipán s/n. E-28933 Móstoles (Madrid), España, 2014.

CROCE, R.; VAN AMERONGEN, H. Natural strategies for photosynthetic light harvesting. **Nat. Chem. Biol.**, 10, p. 492, 2014.

CHELSHIER, A.; ADLER, E.; BARBIERE, J. **UNEP / IOC Guidelines on Survey and Monitoring of Marine Litter**. Nairobi, 2009.

CHEN, Q.; LI, Y.; LI, B. Is color a matter of concern during microplastic exposure to *Scenedesmus obliquus* and *Daphnia magna*? **Journal of Hazardous Materials**, Volume 383, 2020, 121224, ISSN 0304-3894, 2020.

CLAPP, J.; SWANSTON, L. Doing away with plastic shopping bags: International patterns of norm emergence and policy implementation. **Environmental Politics**, Vol. 18(3), 2009.

CLARKE, C. The population dynamics and feeding preferences of *Bursatella leachii* (Opisthobranchia: Anaspidea) in northeast Queensland, Australia. **Records of the Western Australian Museum: supplements**, 69. pp. 11-21, 2006.

COLE, M.; WEBB, H.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND C.; GALLOWAY, T. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. **Scientific Reports**, 2014.

CAMACHO-GARCÍA, Y. (2009). Benthic opisthobranchs. En I. S. Wehrtmann & J. Cortés (eds.), *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America* (pp. 371–386). Nueva York: **Springer Science**, 2009.

CHRISTOPH, C.; HERNÁNDEZ, A.; MUÑOZ, R.; PICARDO, A.; PICARDO, O. **Microplásticos en El Salvador. Nanotecnía, Publicación periódica (febrero) de Laboratorio de Nanotecnología.** Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación, Universidad Francisco Gavidia, San Salvador, El Salvador, 2015.

CÓZAR A; SANZ-MARTÍN M; MARTÍ E.; GONZÁLEZ-GORDILLO J.; UBEDA B; GÁLVEZ J; IRIGOIEN, X; DUARTE. C. Plastic accumulation in the Mediterranean Sea. **PLoS One** 10:e0121762, 2015.

DANTAS, N.; DUARTE, O.; FERREIRA, W.; AYALA, A.; REZENDE, C.; FEITOSA, C. Plastic intake does not depend on fish eating habits: Identification of microplastics in the stomach contents of fish on an urban beach in Brazil. **Mar. Pollut. Bull.**, 153:110959, 2020.

DE-LA-TORRE, G.; APAZA-VARGAS, D.; SANTILLÁN, L. Microplastic ingestion and feeding ecology in three intertidal mollusk species from Lima, Peru. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, 55 (2), 167-171, 2020.

DE-LA-TORRE, G.; MENDOZA, L.; PILAR, R. Microplastic contamination in market bivalve *Argopecten purpuratus* from Lima, Peru. **Manglar** 16(2): 85-89, 2019.

DERRAIK, J. The pollution of the marine environment by plastic debris: A review. **Mar. Pollut. Bull.** 44(9), 842–852, 2002.

DESFORGES, J.; GALBRAITH, M.; DANGERFIELD, N.; ROSS, P. Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. **Marine Pollution Bulletin**, Vol 79, 1–2, pags 94-99, 2014.

DESFORGES, J.; GALBRAITH, M.; ROSS, P. Ingestion of Microplastics by Zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. **Arch Environ Contam Toxicol.** 69, 320–330, 2015.

DUIS K., COORS A. Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. **Environ. Sci. Eur.**, 28, 2016.

ERIKSEN M.; LEBRETON L.; CARSON H.; THIEL M.; MOORE C.; BORERRO J.; GALGANI F.; RYAN P.; REISSER J. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastics pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PLoS One**, 9:e111913, 2014.

FARRELL, P.; NELSON, K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). **Environmental Pollution**, 177:1-13, 2013.

FENG, FENG, Z.; ZHANG, T.; SHI H.; GAO, K.; HUANG, W; XU, J.; WANG, J.; WANG, R; LI, J.; GAO, G. Microplastics in bloom-forming macroalgae: distribution, characteristics and impacts J. **Hazard Mater**, 397, p. 12, 2020.

FLAM, F. Chemical prospectors scour the seas for promising drugs. **Science**, 266(5189): 1324-1325, 1994.

FRIES E.; DEKIFF J.; WILLMEYER, J.; NUELLE, M.; EBERT, M.; REMY D. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. **Environ. Sci.: Processes Impacts**, 15, p. 1949, 2013.

FRIAS, JP.; NASH, R. Microplastics: Finding a consensus on the definition. **Marine Pollution Bulletin**, 138: 145-147, 2019.

GANDARA, P.; NOBRE, C.; RESAFFE, P.; PEREIRA, C.; GUSMÃO, F. Leachate from microplastics impairs larval development in brown mussels. **Water Research**, 2016.

GARCÍA, A.; ALONSO, C.; CHAMERO, D. Primera evidencia de microplásticos en la bahía de Cienfuegos. Cuba. **Ecosistemas**, 29(3), 2085, 2020.

GARCÍA, K. **Asociaciones entre moluscos Heterobranquios (Mollusca: Gastropoda) y macroalgas en el Pacífico de Costa Rica**. Tese (Mestrado) - Universidad de Costa Rica, 2015.

GARCIA, T.; CAMPOS, C; MOTA, E.; SANTOS, N.; CAMPELO, RENATA P.; PRADO, L.; MELO J.; SOARES, M. Microplastics in subsurface waters of the western equatorial Atlantic (Brazil). **Marine Pollution Bulletin**, v. 150, p. 110705, 2020.

GAUCI, A.; DEIDUN, A.; MONTEBELLO, J.; ABELA, J.; GALGANI, F. Automating the characterization of beach microplastics through the Application of mages analyses. **Ocean and Coastal Management**, 182, 104950, 2019.

GESAMP. **Microplastics in the ocean: a global assessment**. United Nations Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Pollution (GESAMP), Working Group 40, 2015a.

GEYER, R.; JAMBECK J.; LAVENDER, K. Production, use, and fate of all plastics ever made. **Science Advances** 3, e1700782, 2017.

GIERLOFF-EMDEN, H. (Ed.) **La costa de El Salvador: monografía-oceanográfica**. San Salvador, El Salvador: Dirección de Publicaciones, Ministerio de Educación, 1976.

GILBOA-GARBER, N.; SUDAKEVITZ, D. Usage of *Aplysia* lectin interactions with T antigen and poly-*N*-acetylactosamine for screening of *E. coli* strains which bear glycoforms cross-reacting with cancer-associated antigens. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, Vol. 30, Issue 3, 235–240, 2001.

GOES, E.; JUNIOR, A. Caracterização morfossedimentar da plataforma continental Brasileira. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.10, n.5, p. 1595- 1613, 2017.

IVAR DO SUL, J.; COSTA, M. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. **Environmental Pollution**, 185:352-364, 2014.

INSTITUTO DE PESQUISA E ESTRATÉGIA ECONÔMICA DO CEARÁ – IPECE. **Perfil Básico Municipal: Paracuru**. Fortaleza. 17 p., 2009.

FERREIRA, G.; BRITO, P.; ADERALDO, F.; CARNEIRO, P.; ROCHA, A.; GONDIM, F. Algas arribadas da Praia do Pacheco, Ceará. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. 15. 208-214. 10.18378/rvads.v15i2.6472, 2020.

JAMBECK, J.; ANDRADY, A., GEYER, R., NARAYAN, R., PERRYMAN, M., SIEGLER, T., WILCOX, C., LAVENDER LAW, K. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**. February 13, Vol. 347(6223), 2015.

KARPESTAM, E.; MERILAITA, S.; FORSMAN, A. Natural levels of colour polymorphism reduce performance of visual predators searching for camouflaged prey. **Biol. J. Linn. Soc. Lond.**, 112, pp. 546-555, 2014.

KOEHLER, A. Uptake and Effects of Microplastics on Cells and Tissue of the Blue Mussel *Mytilus edulis* L. after an Experimental Exposure. **Environ. Sci. Technol.**, vol. 46, p. 11327–11335, 2012.

LAVERS, J.; BOND, A. Exceptional and rapid accumulation of anthropogenic debris on one of the world's most remote and pristine islands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 114, pp. 6052-6055, 2017.

LAW, K.; THOMPSON, R. Microplastics in the seas. **Science**. 345, 144–145, 2014.

LIRA, C. **O Desenvolvimento socioambiental das praias do município de Caucaia-Ceará: diagnóstico integrado e projeção de cenários.** Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, 2015.

LINDEQUE, P.; COLE, M.; COPPOCK R.; LEWIS C.; MILLER R.; WATTS A.; WILSON-MCNEAL, A.; WRIGHT S.; GALLOWAY, T. Are we underestimating microplastic abundance in the marine environment? A comparison of microplastic capture with nets of different mesh-size. **Environmental Pollution**, Vol. 265, Part A, 2020.

LITTER, M.; LITTER, D. **Algae, Turf.** In: Hopley D. (eds) Encyclopedia of Moderns Coral Reefs. Encyclopedia of Earth Sciences Series. Springer, Dordrecht, 2011.

LUDWIG, J.; REYNOLDS, J. Statistical ecology: a primer on methods and computing. **John Wiley & Sons, Inc.** 338 p, 1988.

MACHADO J.; DE OLIVEIRA S.; NAZÁRIO, M.; FERNANDES, H.; KRELLING, A. Análise da presença de microplástico em bivalves (perna perna): um estudo de caso em matinhos, litoral do paraná. **Guaju** 7 (1), 156-179, 2021.

MARSHALL, J.; WILLAN, R. Nudibranchs of Heron Island, Great Barrier Reef: A Survey of the Opisthobranchia (Sea Slugs) of Heron and Wistari Reefs. **Backhuys**, 1999.

MATTHEWS-CASCON, H. *et al.* Introdução. In: MATTHEWS-CASCON, H.; LOTUFO, T. (Org.). **Biota Marinha da Costa Oeste do Ceará - Relatório Final.** Brasília: Ministério do Meio Ambiente, v. 24, p. 8-70, 2006.

MCCORMICK, A.; HOELLEIN, T.; LONDON, M.; HITTIE, J.; SCOTT, J.; KELLY, J. Microplastic in surface waters of urban rivers: Concentration, sources, and associated bacterial assemblages. **Ecosphere**. 7.e01556. 10.1002/ecs2.1556, 2016.

MCILGORM, A.; RAUBENHEIMER, K.; MCILGORM, D. **Update of 2009 APEC report on Economic Costs of Marine Debris to APEC Economies. A report to the APEC Ocean and Fisheries Working Group by the Australian National Centre for Ocean Resources and Security (ANCORS)**, University of Wollongong, Australia, December, 2020.

MCILGORM, A.; CAMPBELL, H.; RULE, M. **Understanding the economic benefits and costs of controlling marine debris in the APEC region (MRC 02/2007).** 10.13140/2.1.4323.9042, 2009.

MOORE, C. Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. **Environ. Res.** 131-139, 2008.

MUKHANOV, V.; DARIA, L.; SAKHON, Y.; BAGAEV, A.; VEERASINGAM, S.; VENKATACHALAPATHY, R. (2019). A new method for analyzing microplastic particle size distribution in marine environmental samples. **Ecologica Montenegrina**, 23, 77-86, 2019.

ONU (Organización de las Naciones Unidas). Marco de cooperación de las naciones unidas para el desarrollo sostenible | 2022 - 2026. San Salvador, El Salvador, 2021.

DE OLIVEIRA, T.; ANDREU, I.; MACHADO, M.; VIMBELA, G.; TRIPATHI, A.; BOSE, A. Interaction of cyanobacteria with nanometer and micron sized polystyrene particles in marine and fresh water. **Langmuir**, 36 (14), 3963-3969, 2020.

ORTIGOSA, J.; SIMÕES, N.; CALADO, G. **GASTERÓPODOS OPISTOBRANQUIOS. EN: D. GARCÍA, RAFAEL Y M. MÉNDEZ GONZÁLEZ** (Eds.), Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán (p. 216). Mérida, Yuc.: CICY, PPD-FMAM, Conabio, Seduma, 2010.

PELLER J.; NEVERS, M.; BYAPPANAHALLI, M.; NELSON, C.; BABU, B.; EVANS, M.; KOSTELNIK, E.; KELLER, M.; JOHNSTON, J.; SHIDLER, S. Sequestration of microfibers and other microplastics by green algae, *Cladophora*, in the US Great Lakes. **Environmental Pollution**, Vol. 276, 116695, ISSN 0269-7491, 2021.

PEREIRA, R.; SOARES, A. **Biologia Marinha**. Interciência, 363 p., 2002.

PETERS C.; THOMAS, P.; RIEPER, K.; BRATTON, S. Foraging preferences influence microplastic ingestion by six marine fish species from the Texas Gulf Coast. **Mar. Pollut. Bull.**, 124, pp. 82-88, 2017.

PICÓ, Y.; BARCELÓ, D. Analysis and prevention of microplastics pollution in water: Current perspectives and future directions. **ACS Omega**, 4: 6709-6719, 2019.

ROCHMAN, C. The complex mixture, fate and toxicity of chemicals associated with plastic debris in the marine environment. **Marine Anthropogenic Litter**, Springer, Cham, 2015.

RODRÍGUEZ, G. **Detección de microplásticos en mejillón (*Mytilus edulis*) de la costa Atlántica uruguaya**. (Tese de graduação). Universidad de la República, 2019.

ROUX, C.; HUTTUNEN, J.; RAMPLING, K.; ROBERTSON, J. Factors affecting the potential for fibre contamination in purpose-designed forensic search rooms. **Science & Justice**, 41, pp. 135-144, 2001.

RUDMAN, W. 2010. Sea Slug Forum. Available online at <http://www.seaslugforum.net/>

SALEY, A.; SMART, A.; BEZERRA, M.; BURNHAM, T.; CAPECE, L.; LIMA, L.; CARSH, A.; S.L. WILLIAMS, S.; MORGAN, S. Microplastic accumulation and biomagnification in a coastal marine reserve situated in a sparsely populated area. **Marine pollution bulletin**, 146, 54-59, 2019.

SANTANA, G. **Comportamento predatório do caranguejo Menippe nodifrons Stimpson, 1859 (Decapoda: Brachyura: Menippidae) sobre moluscos gastrópodes em laboratório**. Tese (Mestrado)- Instituto de Ciencias do Mar - LABOMAR, Universidade Federal do Ceará, 2005.

SATYAM, K.; THRIRUCHITRAMBALAM, G. **Habitat ecology and diversity of rocky shore fauna**. In Sivaperuman, C., Velmurgan, A., Singh, A.K. y Jaisankar, I. (Eds) Biodiversity and climate change adaptation in tropical islands (pp. 187-215). Estados Unidos: Academic Press, 2018.

SHAW, D.; DAY, R. Colour-and form-dependent loss of plastic micro-debris from the North Pacific Ocean. **Mar. Pollut. Bull.**, 28, pp. 39-43, 1994.

SONG Y.; HONG, S. JANG, M.; KANG, J.; KWON, O.; HAN, G.; SHIM, W. Large accumulation of micro-sized synthetic polymer particles in the sea surface microlayer. **Environ Sci Technol** 48:9014–9021, 2014.

SU, L.; CAI, H.; KOLANDHASAMY, P.; WU, C.; ROCHMAN, C.; SHI, H. Using the Asian clam as an indicator of microplastic pollution in freshwater ecosystems. **Environmental pollution**, 234, 347-355, 2018.

SU, L.; XUE, Y.; LI, L.; YANG, D.; KOLANDHASAMY, P.; LI, D.; SHI, H. Microplastics in Taihu Lake, China. **Environmental pollution**, 216, 711-719, 2016.

TEUTEN, E.; SAQUING, J.; KNAPPE, D.; BARLAZ, M.; JONSSON, S.; BJÄRN, A.; ROWLAND, S.; THOMPSON, R.; GALLOWAY, T.; YAMASHITA, R.; OCHI, D.; WATANUKI, Y.; MOORE, C.; VIET, P.; TANA, T.; PRUDENTE, M.; BOONYATUMANOND, R.; ZAKARIA, M.; AKKHAVONG, K.; OGATA, Y.; HIRAI, H.; IWASA, S.; MIZUKAWA, K.; HAGINO, Y.; IMAMURA, A.; SAHA, M.; TAKADA, H. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife.

Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 364, 2027–2045, 2009.

TORRE, M.; DIGKA, N.; ANASTASOPOULOU, A.; TSANGARIS, C.; MYTILINEOU, C. Anthropogenic microfibres pollution in marine biota. A new and simple methodology to minimize airborne contamination. **Marine Pollution Bulletin**, Vol. 113, Issues 1–2, 55-61, 2016.

THOMPSON, R.; OLSEN, Y.; MITCHELL, R.; DAVIS, A.; ROWLAND, S.; JOHN, A.; MCGONIGLE, D.; RUSSELL, A. Lost at sea: where is all the plastic? **Science**, 304, 838-838, 2004.

UNEP. **Marine Litter: An Analytical Overview**. Nairobi, 2005.

VAN CAUWENBERGHE L.; DEVRIESE L.; GALGANI F.; ROBBENS J.; JANSSEN C. Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. **Mar Environ Res**, 111:5-17, 2015.

VAN CAUWENBERGHE, L.; JANSSEN, C. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. **Environmental Pollution**, Vol. 193, 65-70, 2014.

VASCONCELOS, A.; GARCIA, T. **Microplásticos (MPs) ingeridos pelo zooplâncton na Enseada do Mucuripe**. In: XXXIX Encontro de Iniciação Científica, 2021, Fortaleza. XXXIX Encontro de Iniciação Científica, 2021.

VERAS, D. **Moluscos associados à macroalga Pterocliadiella Caerulescens (Rhodophyta, Pterocliadiacea) na zona entremarés da Praia de Pedra Rachada, Paracuru, Ceará**. Tese (Mestrado) - Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, 2011.

WANG, W.; NDUNGU, A.; LI, Z.; WANG, J. Microplastics pollution in inland freshwaters of China: a case study in urban surface waters of Wuhan, China. **Sci. Total Environ.**, 575, pp. 1369-1374, 2017.

WOODALL L.; GWINNETT C.; PACKER M.; THOMPSON R.; ROBINSON L.; PATERSON G. Using a forensic science approach to minimize environmental contamination and to identify microfibres in marine sediments. **Mar. Pollut. Bull.**, 95, pp. 40-46, 2015.

WORLD ECONOMIC FORUM. **The New Plastics Economy. Rethinking the future of plastics**, 2016.

WRIGHT, S. **The potential for microplastics to cause harm in the marine environment.** Tese (Doutorado) - University of Exeter, United Kingdom, 2015.

ZAMORA, A.; ORTIGOSA, D. Nuevos registros de opistobranquios en el Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano, México. **Revista mexicana de biodiversidad**, 83 (2): 359-369, 2012.

ZHANG, K.; SHI, H.; PENG, J.; WANG, Y.; XIONG, X.; WU, C.; P. LAM. Microplastic pollution in China's inland water systems: a review of findings, methods, characteristics, effects, and management. **Sci. Total Environ.**, 630, pp. 1641-1653, 2018.

ANEXOS

Anexo I. Dados biométricos e quantidade de microplásticos ingeridos por cada indivíduo coletado.

Comprimento (cm)	Peso (gr)	Conteúdo (MPs)	Especie/indivíduo
7	77.4	118	*Ad 1
8	123	47	Ad 2
5.3	151	43	Ad 3
9	49	25	Ad 4
11	68.7	113	Ad 5
9.5	155	98	Ad 6
12	136.89	55	Ad 7
14	205.89	98	Ad 8
18	252.02	49	Ad 9
12	223.35	42	Ad 10
14	197.77	36	Ad 11
11.5	132	47	Ad 12
7	34.43	15	Ad 13
10.7	129.87	53	Ad 14
11.7	149.33	121	Ad 15
7	35.95	35	Ad 16
6.5	19.99	57	**BI 1
7.4	22.22	147	BI 2
6.8	23.84	30	BI 3
7.1	22.2	94	BI 4
6.6	21.39	96	BI 5
5	10.12	104	BI 6
7.4	23.84	121	BI 7
6.48	21.08	57	BI 8-9
6.04	17.79	32	BI 10
6.1	13.89	39	BI 11
5	10.71	14	BI 12
3.7	4.2	36	***Dn 1
4	3.4	28	Dn 2
3	3.07	49	Dn 3
2.8	2.6	64	Dn 4
3	3.9	54	Dn 5

2	2.2	35	Dn 6
3.5	4.8	89	Dn 7
3	3.8	20	Dn 8
3.5	3.34	38	Dn 10
2.6	2.31	31	Dn 11
3	3.82	28	Dn 12
2.5	3.35	103	Dn 13
3.6	4.47	39	Dn 14
4.4	4.46	53	Dn 15
3.3	3.74	34	Dn 16
2.3	1.35	26	Dn 17
2.9	3.9	64	Dn 19
3.8	4.1	85	Dn 20

*Ad = *Aplysia dactylomela*.

*Bl = *Bursatella leachii*.

*Dn = *Dolabrifera nicaraguana*.