

Projeto de pesquisa: Microplásticos em bivalves comerciais de cultivo e de bancos naturais no Complexo Estuarino de Paranaguá: uma análise na ocorrência e localização geográfica de micropoluentes.

Responsável: Alexander Turra

Participantes: Suzane de Oliveira e Allan Paul Krelling

INTRODUÇÃO

O aumento da população, espalhamento e adensamento humano ao longo dos continentes, principalmente na região costeira, e a baixa condição sanitária de coleta de lixo e esgotamento sanitário (Suplicy, 2018) tem influenciado a liberação de detritos no meio ambiente e sua entrada nos oceanos ocasionando degradação ambiental, perda de biodiversidade e comprometimento da saúde dos ecossistemas.

Os plásticos são atualmente um dos principais detritos marinhos encontrados no mundo (Gesamp, 2015), que representam uma grande família de diferentes materiais, que permitem ampla versatilidade e inovação (Europe Plastic, 2012; Europe Plastic, 2018), possuindo extensiva aplicação na área comercial, industrial, medicinal (Wright et al., 2013; Abiplast, 2017), chegando à marca total de 348 milhões de toneladas produzidas em 2017 (Europe Plastic, 2018).

A partir do descarte irregular no meio ambiente, e sua subsequente fragmentação e degradação, estima-se que existam cerca de 5,25 trilhões de partículas plásticas flutuando pelo mundo (Eriksen et al., 2014). Os plásticos no mar são classificados de acordo com os seus tamanhos, sendo os plásticos entre 0,1 μm - 5 mm classificados como Microplásticos (MP) (Gesamp, 2019; Zhang, 2017).

Os MP podem ser de origem primária, fabricados propositalmente de tamanho microscópico a exemplo dos pellets (matéria prima) e microesferas utilizadas na indústria de produtos de higiene pessoal, ou de origem secundária, através da fragmentação influenciados por intemperismo (Gesamp, 2019) como quebra mecânica, fotodegradação, e possivelmente degradação microbiana (Zhang, 2017). Além disso, resíduos derivados de estradas, e pneus de automóveis a base de borracha de polibutadieno estireno (SBR) também tem sido observados no ambiente marinho em escalas micrométricas (Bråte et al., 2018)

Presentes de forma cada vez mais expressiva no meio ambiente, estima-se que somente em águas superficiais marinhas haja aproximadamente 36 mil toneladas de MP (Eriksen et al., 2014), que ficam à deriva junto a superfície do mar (Shen et al., 2019). A presença dos MP ao longo do ambiente marinho vai depender de suas características físicas (densidade, tamanho e forma) e condições da dinâmica dos oceanos (ventos, ondas, gradientes termohalinos e sedimentos bentônicos) que influenciam a distribuição e a velocidade de deslocamento dos MP (Zhang, 2017). Os MP podem encalhar em ambiente costeiros e praias, ficar à deriva na superfície e na coluna de água em diferentes profundidades, inclusive na mistura vertical, viajando na subsuperfície por meio da circulação Langmuir impulsionada pelo vento e ciclo de calor, ou ainda sofrer bioincrustação, sedimentação e bioturbulação (Pabortsava & Lampitt, 2020; Wright et al., 2013; Zhang, 2017). Além disso, os MP podem ser transportados para as zonas de convergência subtropical (zonas de acumulação) ou se manter nas margens oceânicas em áreas de transporte (Eriksen et al., 2014).

Outro importante destino e possível sumidouro dos MP é a biota marinha (Clark et al., 2016) que pode ingerir e permanecer por diferentes períodos de tempo com o MP em seu sistema digestivo ou sofrer translocação para outros órgãos de acordo com o tipo de MP e tamanho (Santana et al., 2017). Além disso, MP podem ser degradados por espécies marinhas ao longo do sistema digestivo (Mateos-Cárdenas et al., 2020) e ser fonte de menores MP através de pelotas fecais.

Os MP e seus congêneres, as microesferas, os microfilamentos, fibras sintéticas e os pellets (EFSA, 2016) são produtos perigosos para o meio ambiente e ecossistema devido a sua composição que contém diferentes aditivos como retardantes de chama, corantes e plastificantes (lixiviado) que podem comprometer o desenvolvimento, comportamento e reprodução das espécies (da Costa Araújo et al., 2020; Gandara e Silva et al., 2016), mas também, por que adsorvem uma ampla gama de contaminantes químicos (Rochman et al., 2015; Miranda & de Carvalho-Souza, 2016; Endo et al., 2005; Gorman et al., 2019; Mato & Isobe, 2001) podendo concentrar, bioacumular e biomagnificar vários tipos de toxinas ao longo da cadeia trófica, através da adsorção e vetorização de PCB (Bifenilas Policloradas) e HAS (Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos) (Endo et al., 2005; Gorman et al., 2019; Mato & Isobe, 2001; Gesamp, 2019; Wright et al., 2013). Assim, MP têm o potencial de amplificar os efeitos adversos desses produtos, podendo desencadear efeitos como câncer, alteração na atividade reprodutiva, diminuição da resposta imune e malformação em animais e seres humanos (Auta et al., 2017). A

exemplo de outros vetores plásticos (PE, PP e PET) capazes de produzir biofilme microbiano (*plastisphere*) e possuir potencial de dispersão de patógenos como *Vibrio* e *Escherichia coli* (Silva et al., 2019), os MP são capazes de fornecer substrato de fixação de microorganismos. Esses MP irão influenciar a dispersão de microorganismos a longo prazo através da deriva de superfície, transportando espécies exóticas para várias localidades, principalmente bactérias tóxicas e patogênicas. Essa dispersão permite troca e transferência gênica dos microorganismos podendo causar surtos patogênicos e de resistência antibiótica em larga escala no meio ambiente (Shen et al., 2019).

Em função da alta densidade e onipresença os MP, esses micropoluentes tem estado biodisponíveis para interação e alimentação para diferentes espécies marinhas como fitoplâncton, zooplâncton, bivalves, peixes, aves e animais de topo de cadeia, como tubarões e mamíferos marinhos, influenciada pela densidade do MP, área de forrageamento e a localização das espécies na cadeia trófica (de Sá et al., 2018; Miranda & de Carvalho-Souza, 2016; Nelms et al., 2018).

O aumento dos microdetritos plásticos nos mares tem contribuído para a interação desses detritos com a biota marinha em ambientes estuarinos, áreas costeiras e em alto mar, podendo chegar a valores de MP equivalentes a ictiofauna dependendo do local e da estação do ano avaliado (Lima et al., 2014). Uma maior abundância de MP no meio ambiente principalmente na superfície da água pode alterar a alimentação de espécies de mega fauna como baleias e tubarões filtradores (Fossi et al., 2014), mas também influenciar importantes características necessárias para a produção primária nos oceanos, inclusive a transmissão de luz, influenciando a eficiência da fotossíntese (Shen et al., 2020). Sjollem et al. (2016) não observou diminuição da clorofila em estudo ecotoxicológico com MP, porém houve uma redução de 45% na taxa de crescimento de microalgas. Em outro estudo realizado por Prata et al., (2019), os autores observaram que mesmo baixas concentrações de microplástico em microalgas desencadeiam efeitos deletérios no crescimento, redução de clorofila, fotossíntese, induzindo o estresse oxidativo e causando alterações morfológicas e heteroagregados. Em grande escala no futuro, esse fenômeno poderia influenciar a bomba biológica e o sequestro de carbono (Shen et al., 2020; Wiczorek et al., 2019) e o aumento do aquecimento global.

Áreas costeira são ambientes de grande produtividade biológica, porém também fontes de detritos plásticos e local de potencial ocorrência de interações com a vida marinha, ao contrário do que acontece nos Giros subtropicais que possuem baixos níveis de atividade biológica (Clark et al., 2016). Dessa forma, uma maior presença de MP junto

a comunidade planctônica e sua maior possibilidade de agregação entre plânctons, biofilme e MP, expõem a cadeia trófica a ingestão direta e indireta de MP.

Zooplâncton como a *Artemia franciscana* demonstrou em estudo de laboratório, se alimentar, e bioacumular Micropartículas Esféricas de 1 – 5 µm de diâmetro, sendo que a concentração aumentava de acordo com a exposição. Os autores ainda observaram que exposição a MP pode afetar o sucesso reprodutivo e aptidão de organismos zooplanctônicos (Peixoto et al., 2019). Setälä et al. (2014) observou que mesozooplâncton e macrozooplâncton se alimentam de forma direta de MP, sendo observado camarões misídeos, ciliados e larvas de poliqueta os táxons que mais consomem esses microdetritos. A ingestão de MP depende de fatores como tamanho e abundância de partículas e presença de presas naturais no meio ambiente circundante. Os autores ainda observaram haver transferência trófica de MP aos *Mysid sp* ao se alimentar de mesozooplâncton contaminado. Apesar disso, Figueiredo & Vianna (2018) observaram que a abundância e tipo de MP presentes no meio ambiente, assim como tamanho preferencial de presas, são variáveis importantes para a ingestão de MP, e que na Baía de Guanabara apesar da grande densidade de MP (>100 µm) no local do estudo, esses eram tinham densidade menor em 14.400 vezes que os copépodes locais, além de serem muito grandes para serem ingeridos, não sendo boas presas para essas espécies. Vale destacar que a quantidade de MP no meio ambiente tende a aumentar no futuro, pois além da contínua e progressiva entrada de plástico no meio ambiente, esses continuam a se degradar e fragmentar em tamanhos cada vez menores (Mateos-Cárdenas et al., 2020; Shen et al., 2020; Wieczorek et al., 2019), e as metodologias de campo ainda não permitem uma avaliação abrangente o suficiente para entender a complexidade do problema, principalmente limitada aos menores tamanhos em escala micro e nano .

Ambientes intertidais e costeiros tem sido local de presença de MP, podendo ser um possível sumidouro (de Barros et al., 2020; Gusmão et al., 2016). Caranguejos *Ocypode quadrata* (Costa et al., 2019) e *Pachygrapsus transversus* (Matheus et al., 2020), meiofauna *Saccocirrus sp* (Gusmão et al., 2016), e anêmonas *Bunodosoma cangicum* (Morais et al., 2020) tem apresentado diferentes tipos de MP em seus sistemas digestivos. Aves marinhas encalhadas também apresentam MP em suas carcaças. A *Haematopus palliatus*, conhecida como “American Oystercatcher”, demonstrou haver consumido MP nas praias (Rossi et al., 2019), assim como aves *Great shearwater* que se alimentam na superfície do mar também continham MP em seus estômagos provavelmente confundidos por presas ou no estomago delas (Colabuono et al., 2009). A

incapacidade de algumas espécies como Procellariiformes regurgitarem o alimento, aumenta sua propensão de ingestão de plástico (Tourinho et al., 2010), e podem impactar de forma mais severa em seu acúmulo. Além disso Colabuono et al (2010) e Gorman et al (2019) observaram que MP presentes nas praias e no conteúdo estomacal de aves no sul do Brasil continham contaminantes orgânicos persistentes que podem sorver tanto na areia da praia como nos organismos dos animais quando consumidos, aumentando seu impacto na condição de saúde da espécie.

A análise de impacto de Micro e Nanoplásticos em Bento, tem ocorrido em estudos laboratoriais principalmente em artrópodes e moluscos, devido a suas funções-chave nos ecossistemas aquáticos e dificuldades de avaliar o seu efeito em campo (Haegerbaeumer et al., 2019), havendo uma importante lacuna em relação a organismos de micro e meiofauna. Esses estudos permitem observar a ingestão direta e indireta e o efeito do consumo de MP (Peixoto et al., 2019). Santana et al (2017) observou haver transferência trófica de MP de PVC de mexilhões *Perna perna* expostos e depurados por 12 dias à *Callinectes ornatos* e *Spheoeroides greeleyi*, havendo biotransferência de MP via cadeia trófica. O tempo de persistência do MP e o impacto trófico depende da quantidade de MP na presa e a capacidade de eliminação pela espécie (Birnstiel et al., 2019). Apesar de muitas espécies eliminarem os MP presentes no seu TGI, a exposição frequente a esses contaminantes faz com que sempre haja presença desses MP nas espécies marinhas, e esses estejam sendo expostas frequentemente a aditivos e contaminantes persistentes via alimentação (Fossi et al., 2016).

Diferentes tipos de peixes e fases ontogênicas tem consumido de forma intencional ou acidental MP independentemente do tamanho, grupo funcional e grupo alimentar que pertençam. *O aumento do consumo de espécies bentônicas tem sido associadas ao aumento de ingestão de MP (Silva et al., 2018). Peixes como a Cynoscion acoupa adulta tem ingerido MP associada ao consumo de peixes demersais, pelágicos e macrocrustáceos, demonstrando que o maior nível trófico de adultos, assim como mudança de guilda e o aumento do forrageamento, faz com que algumas espécies passem a ingerir mais MP (Ferreira et al., 2016) ao dependerem de maior biomassa.*

Espécies da megafauna marinha também tem ingerido MP. Estudo realizado por Tourinho et al (2010) constatou ingestão de MP por aves, e presença de detritos plástico no conteúdo digestivo de tartarugas *C. mydas*, assim como Hudak & Sette (2019) também observaram MP nas fezes *Phoca vitulina vitulina* e *Halichoerus grypus atlantica*. No Mar Mediterrâneo espécies filtradoras como o tubarão-frade e baleia-comum tem sido

cronicamente expostos a contaminantes persistentes, tanto pela lixiviação da ingestão e degradação de microplásticos, como a ingestão indireta via cadeia alimentar (Fossi et al., 2016).

A literatura tem demonstrado além da onipresença de MP em diversos locais e espécies marinhas, que esses microdetritos bioacumulam e podem biomagnificar MP e outros contaminantes ao longo da cadeia trófica (Birnstiel et al., 2019; Santana et al., 2017; Silva et al., 2018), chegando inclusive na alimentação dos seres humana através da ingestão de espécies filtradoras como ostras e mexilhões (Bråte et al., 2018a; Qu et al., 2018; Renzi et al., 2018; Van Cauwenberghe & Janssen, 2014), mesmo após processo de depuração (Birnstiel et al., 2019).

Dentre as diferentes espécies marinhas de consumo humano com presença de MP (Ferreira et al., 2016; Fossi et al., 2016; Hudak & Sette, 2019; Setälä et al., 2014), os bivalves tem sido amplamente investigados ao redor mundo (Ding et al., 2018; Li et al., 2019; Rochman et al., 2015; Van Cauwenberghe et al., 2015), com valores estimados de 0,77 a 8,22 itens ind⁻¹ em mexilhões *M. edulis* e *Perna Viridis* na China (Qu et al., 2018), valor médio de $0,97 \pm 0,74$ itens ind⁻¹ em 4 diferentes espécies (Manila, Ostras, Vieiras e Mexilhões) próximo a cidades densamente povoadas na Korea do Sul, sendo as Vieiras com maiores quantidades de MP por indivíduo ($1,21 \pm 0,71$ itens ind⁻¹) e os mexilhões com os menores valores ($0,68 \pm 0,64$ itens ind⁻¹), porém ao analisar o peso, as ostras apresentando a menor quantidade de MP ($0,07 \pm 0,06$ n g⁻¹) (Cho et al., 2019). No litoral da Itália foi verificada a presença de MP em *Mytilus galloprovincialis*, (Renzi et al., 2018) principalmente microfilamentos nos mexilhões (tamanhos entre 750 – 6000 µm) com itens por grama de tecido cru variando entre 6,2 – 7,2 MP. Esse mesmo estudo quantificou os MP em bivalves cozidos e crus, observando que parte dos MP no processo de cozimento foi transferido para a água, e que esses MP podem ter fragmentado durante o aumento de temperatura, uma vez que somado a quantidade de MP no mexilhão cozido e a água do cozimento, os valores totais foram superiores aos valores dos bivalves cru. Rochman et al (2015) encontrou uma grande concentração de microdetritos marinhos em peixes e bivalves destinados a consumo humano adquiridos na Indonésia e na Califórnia. Os resultados demonstraram uma ampla quantidade de fragmentos plásticos (60%) e de espuma (37%) na Indonésia, e de fibras (80%) nos Estados Unidos, demonstrando variedade na quantidade e nos tipos de MP de acordo com a localização geográfica. No Estuário de Santos, 75% da amostra do mexilhão *Perna perna* coletada em ambiente

natural apresentaram MP, demonstrando ser um ambiente altamente poluído por estes microdetritos (Santana et al., 2016)

Em ostras (*Crassostrea Gigas*) e mexilhões (*Mytilus edulis*) comprados em supermercado, ambos os bivalves tinham presença de microplásticos (Van Cauwenberghe et al., 2015). Ding et al (2018) identificou MP no sistema digestivo dos bivalves *Clamys farreri* e *Mytilus galloprovincialis*, observando que as amostras comerciais cultivadas apresentaram uma maior quantidade de MP do que as selvagens, e que esses MP eram predominantemente fibras (84,11%). De forma complementar, Li et al., (2015) observou que os MP presentes em bivalves comerciais na China eram o Polietileno (PE), Tereftalato de Polietileno (PET) e Poliamida (PA), representados mais frequente por fibras, como observado em outros estudos (Ding et al., 2018; Renzi et al., 2018; Rochman et al., 2015). Corami et al., (2020) observou que as guelras e hepatopâncreas de *Crassostrea gigas* coletadas na Itália continham em média de $4.8 \mu\text{g g}^{-1}$ and $1.8 \mu\text{g g}^{-1}$ de Microplásticos Pequenos (MPP) ($<100\mu\text{m}$) respectivamente, formados por fragmentos em forma de elipse e fibras com tamanho médio $<50\mu\text{m}$ e largura média $<25\mu\text{m}$, além disso 86% dos MPP das guelras eram Poliamida (PA) enquanto 72% dos MPP do hepatopâncreas. A PA é muito utilizada na confecção de roupas, tapetes, redes de pesca, sendo amplamente encontrada no artigo associada pelos autores a metodologia de digestão utilizada que não ultrapassou 45°C .

Diante desses fatos, a presença de MPs em diferentes espécies filtradoras, sobretudo as fibras sintéticas, que podem ficar presas nas guelras e hepatopâncreas (Renzi et al, 208), podem estar relacionados a forma de alimentação dos bivalves que consomem seston composto por organismos e matérias não vivas (Christo et al., 2016; Corami et al., 2020), e a uma ampla disponibilidade do micropoluinte no ambiente. A proximidade de possíveis fontes de MP como despejo de Estações de Tratamento de Esgoto (ETEs) e descargas de efluentes (Belzagui et al., 2019; Cesa et al., 2017), além de atividades náutica, pesca, aquicultura (Castro et al., 2016; de Barros et al., 2020) e uso da costa podem aumentar a concentração de MP no meio ambiente e a ingestão por bivalves. As ostras por exemplo, podem ser influenciadas no processo de filtração comparando amostras selvagens (fixadas em substratos de mangue, costão ou lodo), e amostras de cultivos (em mesas ou lanternas), pois a densidade populacional, a espacialidade vertical e o tempo de exposição, influenciam a ingestão dos alimentos por filtração (Lima, 2015), além disso, Christo et al., (2016) observou no Estuário de Paranaguá que microalgas ingeridas por *Crassostrea sp.* variam de tamanho entre 5 a $260 \mu\text{m}$,

preferencialmente de 10 a 98 μm , e com menor predomínio de colônias de microalgas em relação a células isoladas, tamanho médio observado por Pabortsava & Lampitt, (2020) em MP no Oceano Atlântico.

Birnstiel et al., (2019) observou que 100% da amostra de mexilhões coletados no litoral do Rio de Janeiro, em ambiente de cultivo e selvagem continham MP, sendo média de $31,2 \pm 17,8 \text{ MP ind}^{-1}$ para os selvagens e $16,6 \pm 6,6 \text{ MP ind}^{-1}$ para os de cultivo, apesar de não apresentar diferença significativa, e após período de 93 h de depuração, os mexilhões selvagens diminuíram 46,79% a quantidade de MP enquanto os de cultivo apenas 28,95%. Fang et al., (2019) observou a presença de MP em peixes selvagens e bivalves comerciais em 2 cidades densamente povoadas na China, em que os bivalves apesar de serem espécies filtradoras tinham menos MP do que peixes, o que poderia estar associado ao processo de depuração dos bivalves antes de serem comercializados.

Ao serem cultivados comercialmente mexilhões e ostras permanecem mais tempo expostos a uma ampla quantidade de plásticos na coluna d'água uma vez que a produção dessas espécies é realizada em *longlines* de nylon ou em cestos plásticos (lanternas), amarrados a boias flutuadoras (Suplicy, 2018). Esses materiais ao serem submetidos a exposição contínua de radiação solar e salinidade, tornam-se quebradiças, sofrendo fragmentação ao longo do tempo. Além disso, no processo de cultivo a densidade populacional, dispersão e profundidade, aumentam a biodisponibilidade e frequência de alimentos. Por outro lado, bivalves selvagens expostos na linha entre marés, além de ficarem expostos a coluna d'água, também são expostos a MP nas águas superficiais e subsuperficiais (Cho et al., 2019). Ding et al (2018) observou que o trato gastrointestinal das amostras selvagens eram menores do que as cultivadas, o que pode ter contribuído para maior presença de MP, apesar de Renzi et al, (2018) não ter observado diferenças entre os mexilhões de cultivo e selvagens. Períodos pré-reprodução, assim como mudanças de salinidade e temperatura, são fatores que influenciam o processo de alimentação (Lima, 2015) e biomassa, e podem contribuir ao maior ou menor consumo de MP.

A presença de MP e congêneres em animais marinhos de consumo humano já é conhecida e tende a aumentar principalmente nas regiões costeiras, sendo uma importante variável ambiental e de saúde pública (Barboza et al., 2018; Miranda & de Carvalho-Souza, 2016) que pode ser utilizada como alerta antecipado de problemas sanitários e ambientais.

A concentração de MP em mexilhões tem apresentado correlação positiva às águas circundantes (Qu et al, 2018), além disso, estudos de exposição laboratorial demonstraram que os mexilhões podem ser bons organismos modelo/sentinela quando se investiga a captação, acúmulo e toxicidade dos microplásticos (Gesamp, 2019; Li et al, 2019; Gandara e Silva et al., 2016; Nobre et al., 2015). Capazes de indicar a qualidade ambiental, os bivalves, como por exemplo os mexilhões da família Mytilidae, tem sido utilizados como bioindicadores de MP em vários locais do mundo (Bråte et al., 2018; Ding et al., 2018; Li et al., 2015; Rochman et al., 2015; Gesamp, 2019). Por serem espécies filtradoras, que se alimentam direto da coluna de água, com ampla distribuição no globo, não se locomoverem e responderem de forma homogênea aos poluentes (Li et al., 2020), a análise desses bivalves poderá a partir de um protocolo de análise padronizado, ser utilizada para comparação a outros dados mundialmente (Gesamp, 2019) uma vez que ao longo dos anos já tem sido utilizados para outros contaminantes ambientais (Viarengo e Canesi, 1991; Kolm & Absher, 2008; J. Li et al., 2019; Meyer et al., 1998; Resgalla et al., 2007). Ostras e os mexilhões são organismos sésseis, intermediários e eurialinos, presentes em costas e estuários em diferentes latitudes (Bayne, 1976), o que lhes permite representar as condições ambientais em escala global, local e de condições circundantes.

No Estado do Paraná, ainda são incipientes os estudos sobre MP no meio ambiente marinho, apesar da relevância da temática e das características *sui generis* do local. O litoral do Paraná possui 105 Km de extensão linear no sentido norte-sul (Noernberg et al., 2008) em que a região sul é formada por cidades de segunda residência e veraneio, e na porção norte pelo Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) formado de 4 Baías (Antonina, Paranaguá, Pinheiros e Laranjeiras). Na Baía de Paranaguá se encontra a maior cidade da região com população estimada em 156.174 habitantes (Ipardes, 2020), além de compor um complexo portuário formado pelos Portos de Paranaguá e Antonina, localizado a montante no CEP (Noernberg et al., 2008). Ao norte no CEP estão as Baías de Laranjeiras e Pinheiros que abrigam um dos maiores remanescentes de Mata Atlântica do Brasil, e fazem parte da Lista de Patrimônio Mundial (UNESCO, 1999).

Se por um lado Paranaguá represente a principal cidade do litoral do Paraná, Guaraqueçaba na Baía de Laranjeiras e Pinheiros é composta por ampla área de Preservação Ambiental, que mantém em sua cultura atividades extrativistas de ostras, marisco e caranguejos, além da pesca e do turismo (Lana et al, 2001).

A coleta extrativista na região realizada nos últimos anos tem diminuído os estoques nativos, sendo a maricultura uma opção a substituição dessa prática (IGIA, 2010). A produção manejada de recursos pesqueiros pode oferecer índices de produção mais robustos, melhoria da gestão de recursos naturais e financeiros (de Oliveira, 2015) e exercer menor pressão sobre bancos naturais de ostras e mexilhões. Além disso, a maricultura pode associar gestão de comércio de ostras e mariscos, aumento na qualidade do produto através de técnicas de depuração e melhora na qualidade dos bivalves. A produção de mexilhão e ostras no Brasil tem sido ampliada em regiões como o Estado de Santa Catarina, e passado por estudos de viabilidade de ampliação de produção nos Estuários do Litoral do Paraná (IGIA, 2010). A maricultura além de ser uma opção de renda para comunidades de pesca artesanal local, pode auxiliar na diminuição da pressão extrativista sobre bancos naturais de ostras e mexilhões na região.

Se por um lado o cultivo de ostras e mexilhões oferece importantes vantagens de manejo e de preservação de bancos naturais, por outro lado, a sua implantação e manutenção podem impactar o meio ambiente (Castro et al, 2016). A investigação de MP em bivalves além de ser uma importante variável de segurança alimentar, uma vez que os bivalves são consumidos inteiros e fonte plástica para a alimentação humana (Cho et al, 2019), também pode ser utilizado como bioindicadora (Li et al., 2019) de qualidade ambiental de MP de águas circundantes .

Muitas pesquisas tem sido realizadas sobre a ingestão de MP em espécies de interesse comercial no mundo (Fang et al, 2020), porém no Brasil os estudos tem se concentrado principalmente em espécies de peixes em estuários, água doce e costa, com predomínio dos estudos na região norte e nordeste do país (Dantas et al., 2020; Ferreira et al., 2016, 2018; Miranda & de Carvalho-Souza, 2016; Possatto et al., 2015; Vendel et al., 2017), sendo os estudos de bivalves de interesse comercial uma importante lacuna a ser desbravada no Sul do Brasil com o intuito de ampliar o conhecimento sobre MP na biota marinha

Objetivo geral

Avaliar a presença de microplásticos em bivalves comerciais de cultivo e selvagens no Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), verificando a influência antrópica e de características ambientais na presença e desses micropoluentes no ambiente.

Objetivos específicos

- Avaliar a presença e tipo de MP em bivalves Ostreidae e Mytillidae no CEP, comparando os resultados entre as espécies.
- Avaliar a presença e tipo de MP adquirido no mercado municipal de peixe, e comparar com bivalves adquiridos nas comunidades de pesca artesanal em região próxima a áreas de proteção ambiental.
- Verificar as diferenças de MP (composição química, cor e tamanho) entre bivalves de cultivo e selvagens coletados de bancos naturais.
- Realizar análise espaço-temporal sobre a presença de contaminação por MP em bivalves no CEP.

Hipóteses

H1. Espécies de Ostras de bancos naturais apresentaram menos MP do que bivalves sob as mesmas condições, devido a diferenças morfológicas e fisiológicas entre as espécies;

H2. Espécies adquiridas no Mercado do Peixe apresentarão maior quantidade de MP do que as coletadas em áreas pristinas;

H3. Ostras Selvagens coletados em Bancos naturais apresentarão menor quantidade de MP comparadas as de cultivo, devido ao intenso uso de polímeros no processo de cultivo de ostras em cativeiro

H4. Local pristino e controle apresentarão ao longo do ano, menores quantidades de MP em ostras *Crassostrea sp.* comparados aos locais previamente denominados poluídos.

Caracterização do local

O Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) localiza-se no litoral norte de Paraná, e faz parte de um grande sistema estuarino subtropical (Lana et al, 2001). O CEP (25°00.S e 25°35.S, e 48°15.W e 48°50.W) compreende dois eixos principais, denominados de baía de Paranaguá com 40 km de extensão (eixo leste-oeste), e baía das Laranjeiras com 30

km de extensão (eixo norte-sul), e área total de 551,8 km², dividido em três níveis hierárquicos (Noernberg et al., 2006), sendo CEP no primeiro nível, o segundo formado pelos setores Antonina, Paranaguá, Mistura, Laranjeiras e Pinheiros e o terceiro, seriam sete subestuários: Cotinga, Nhundiaquara, Cachoeira, Medeiros, Itaqui, Benito e Guaraqueçaba (Noernberg et al., 2008). O CEP circundado por Unidades de Conservação, centros urbanos e indústria e portos. Em geral, apresenta profundidades inferiores a 10 m, ocorrendo extensos baixios e uma orla quase contínua de manguezais (PDS, 2018).

No litoral do Paraná existem 2 espécies de Ostras nativas a *Crassostrea rhizophorae* – Ghildin 828, e *Crassostrea gasar* - Adansan 1757) (Horodeski, 2017; Absher et al., 2015) também conhecida como *C. brasiliiana* (Lamarck, 1819), que podem ser extraídas de bancos naturais ou de cultivo, e são uma importante fonte de renda para muitas comunidades do CEP. Além das ostras, os mexilhões também são espécies encontradas, consumidas e comercializadas na região, com destaque ao mexilhões *Perna perna*, encontrados principalmente em costões rochosos, *Mytillus guyanensis* (Lamarck, 1819) nos mangues e nas marismas, e *Mytillus charruana* (d’Orbigny, 1842) vivendo em agregados submersos, em forma de “cachos” e bancos na região entre-marés (Absher et al., 2015). Tais características conferem aos *Mytillus sp.* e as *Crassostrea sp.* diferentes biodisponibilidade e consumo de MP ao longo do CEP.

Coleta de dados e análises

Coleta de dados abióticas

Serão avaliadas variáveis abióticas para caracterizar os pontos amostrais e as condições ambientais no momento da retirada dos bivalves do local (IGIA, 2020).

Tabela 1. Variáveis abióticas avaliadas nos pontos de aquisição de bivalves.

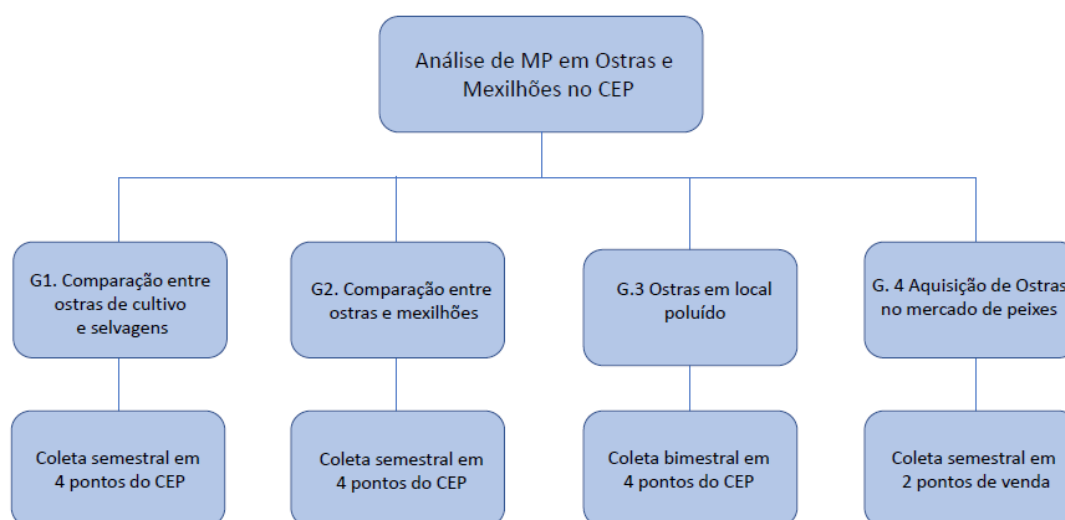
Variável analisada	Unidade	Equipamento
Concentração de oxigênio dissolvido	mg/L	Oxímetro
pH	-	Medidor de pH portátil
Salinidade	-	Salinômetro/Refratômetro

Saturação de oxigênio dissolvido	%	Oxímetro
Temperatura	°C	Oxímetro
Transparência	cm	Disco de Secchi

Coleta de dados bióticos

A coleta de dados será realizada de acordo com os objetivos a serem observados na pesquisa, sendo dividida em 4 grupos: G1. Coleta de dados de ostras de cultivo e de bancos naturais; G2. Coleta de dados de ostras e mexilhões; G3. Coleta de dados de ostras em diferentes pontos de contaminação; G4. Aquisição no mercado municipal de peixes. Na figura 1 estão representados os 4 grupos de coleta.

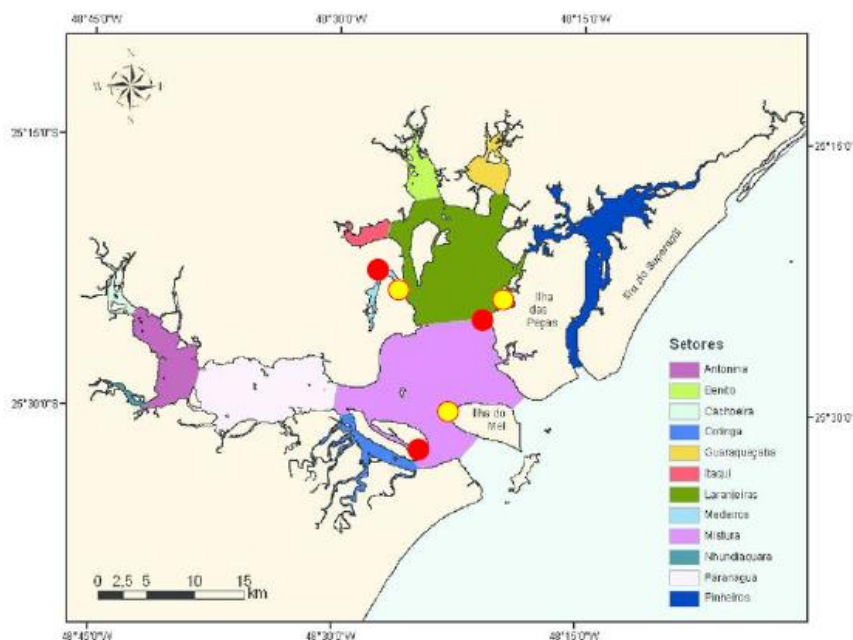
Figura 1. Organização dos grupos de coletas de dados



O G1 será composto por aquisição de ostras em locais que possuam amostras de cultivo e de bancos naturais para comparação de MP entre ambos. A aquisição acontecerá semestralmente no período de 1 ano, sendo duas coletas (duplicata) acontecendo na mesma estação do ano, duas no inverno (junho e julho) e duas na primavera (dezembro e janeiro).

Cada ponto amostrado (em vermelho ou amarelo na figura 2) deverá ter coletas em triplicatas, sendo 3 sublocais de amostragem de forma aleatória para garantir maior distribuição e homogeneidade da amostra.

Figura 2. Imagem dos pontos de coleta de ostras ao longo do CEP de fonte extrativista (bancos naturais) e de produção comercial (ostreicultura).



Fonte: Setorização do Complexo Estuarino de Paranaguá – CEP (Noernberg e Angelotti, 2009). ● Ostra *Crassostrea* sp. de banco natural e ● Ostra *Crassostrea* sp. de cultivo (Ostreicultura).

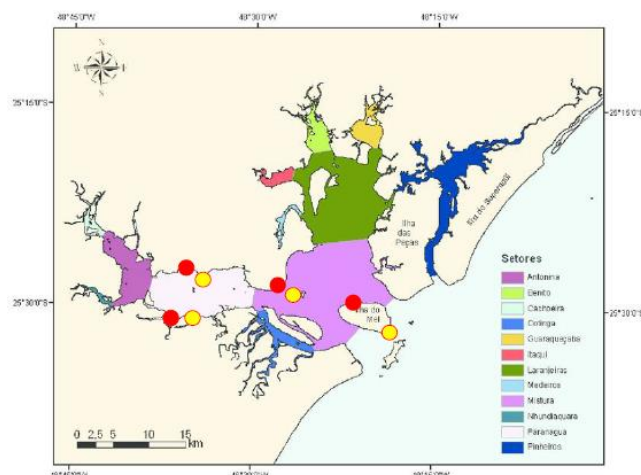
Tabela 2. Pontos de coleta da comparação de presença de MP entre Ostras comercializadas de fonte extrativista (Banco Natural) e de produção (Ostreicultura)

	Banco Natural	Ostreicultura
Ponto 1. Seção Medeiros	Medeiros*	Medeiros
Ponto 2. Seção na Zona de Mistura	Ilha das Peças*	Ilha das Peças
Ponto 3. Seção na Zona de Mistura	Ilha da Cotinha/Maciél*	Ponta Oeste

*Aquisição de pescador artesanal

O G2 em que será comparado a ingestão de MP por ostras (*Crassostrea* sp.) e mexilhões (*Mytilus* sp.), as amostras serão adquiridas de 4 locais entre a Ponta Oeste da Seção de Paranaguá e a Zona de Mistura, na Foz da Baía (Figura 3). A aquisição/coleta acontecerá semestralmente no período de 1 ano, sendo duas coletas (duplicata) acontecendo no período de primavera (novembro e dezembro) e duas coletas no outono (maio e junho). Cada ponto amostrado, em vermelho para as ostras ou amarelo para os mexilhões (figura 3) deverá ter coletas em triplicatas, sendo 3 sublocais de amostragem de forma aleatória para garantir maior distribuição e homogeneidade da amostra.

Figura 3. Pontos de coleta ostras de ostra *Crassostrea sp.* e mexilhões *Mytilus sp.*



Fonte: Setorização do Complexo Estuarino de Paranaguá – CEP (Noernberg e Angelotti, 2009). O diâmetro vermelho do círculo vazado tem aproximadamente 4 km. ● Mexilhão *Mytilus sp.* e ● Ostra *Crassostrea sp.*

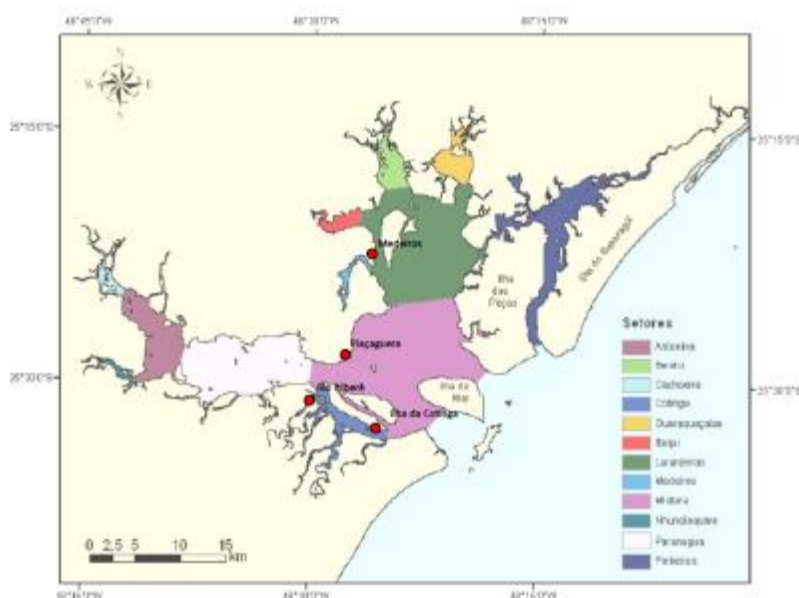
Tabela 3. Pontos de coleta de comparação de presença de MP entre *Crassostrea sp.* e *Mytilus sp.*

	Ostra de Banco Natural	Mexilhão de banco natural
Ponto 1. Paranaguá	Teixeira*	Teixeira*
Ponto 2. Paranaguá	Eufrasina*	Europinha*
Ponto 3. Mistura	Amparo*	Ilha das Cobras
Ponto 4. Foz do estuário	Ilha da Cotinga/Maciél*	Costão da Ilha do Mel

*Aquisição de pescador artesanal;

O G3 será composto por coletas de dados em local pristino (Seção Medeiros), 2 pontos supostamente poluídos (Rio Itibirê e Piaçaguera) e um ponto controle (Cotinga) (Figura 4). As coletas acontecerão mensalmente no período de 1 ano nos pontos do Rio Itibirê e Ilha da Cotinga, e semestralmente em Medeiros e Piaçaguera com o intuito verificar a influência da urbanização e pressão antrópica na ingestão de MP por ostras.

Figura 4. Imagem dos Pontos de Coleta para avaliação temporal de contaminação de MP em ambiente poluído, controle e pristino



Fonte: Setorização do Complexo Estuarino de Paranaguá – CEP (Noernberg e Angelotti, 2009). ● *Ostra Crassostrea sp.*

Tabela 4. Pontos de Coleta para avaliação temporal de contaminação de MP em ambiente poluído, controle e pristino.

	Ostra de Banco Natural	Ambiente
Ponto 1. Cotinga	Ilha da Cotinga (Comunidade do Maciel)*	Controle
Ponto 2. Cotinga	Rio Itiberê*	Poluído
Ponto 3. Medeiros	Medeiros (Comunidade de Medeiros)	Pristino
Ponto 4. Mistura	Piaçaguera ^Δ	Poluído

* Pontos controle (Sardi et al., 2016); ^Δ local supostamente contaminado por MP, que será confirmado ou substituído a partir dos dados do artigo 2. Medeiros e Piaçaguera serão realizadas aquisições semestrais.

O G4 será composto por aquisição de ostras e mexilhões no mercado municipal de Paranaguá. Serão adquiridas as ostras e mexilhões em 2 bancas distintas de venda dos produtos, em datas que coincidam com as aquisições/coletas em campo.

Coleta de dados e procedimentos analíticos

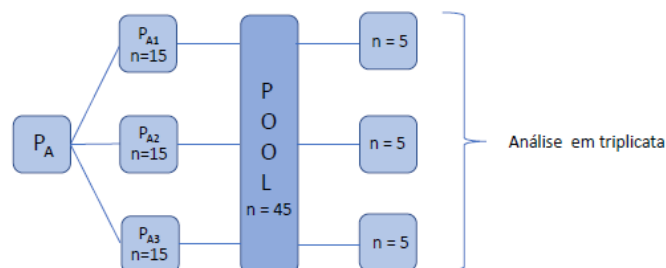
A análise espaço-temporal de contaminação de MP em bivalves será realizada a partir da análise dos estudos G1, G2, G3 e G4. Esses locais serão acompanhados

semestralmente (G1, G2 e G4) ou bimestralmente (G3) com o intuito de identificar a presença e tipo de MP, diferenças entre a origem de produção/extrativismo dos espécimes, análise entre as famílias de bivalves, e avaliação da influência da localidade e pressão antrópica sobre a ingestão de MP por bivalves.

As amostragens serão realizadas a partir da compra de ostras e mexilhões de pescadores artesanais retirados de bancos naturais e ostreicultura para ostras, e coletas em costões rochosos para mexilhões. Cada local de coleta (pontos vermelhos e amarelos) serão amostrados em 3 sublocais diferentes, com no mínimo 15 exemplares de ostras e meio litro de mexilhões para cada um. As amostras vão ser identificadas e congeladas no laboratório a uma temperatura de -20°C para posterior análise (Ding et al., 2018).

Para garantir uma maior homogeneidade das amostras, cada local de coleta (banco natural/ostreicultura) formará um pool de ostras dos 3 sublocais amostrados, do qual será retirado aleatoriamente 15 exemplares, que serão divididos em três análises (triplicatas) de 5 exemplares cada (figura 5).

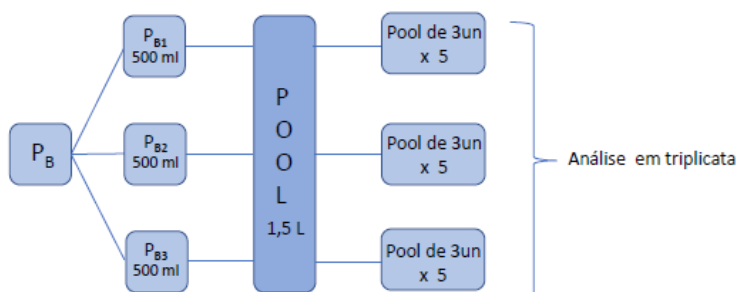
Figura 5. Esquema de análise das amostras a partir das coletas de ostras



Nota: P_A local de coleta de ostras; P_{A1} , P_{A2} e P_{A3} sublocais de coletas; Pool será formado pela somatória das amostras dos 3 sublocais; análise em triplicata de $n=5$ ostras.

No caso dos mexilhões, um local de coleta será subdividido em 3 sublocais que terão aproximadamente 500 ml de bivalves. As coletas serão somadas para formar um pool de 1,5 L de mexilhões para garantir homogeneidade do ponto de coleta. De forma aleatória serão retiradas $n=45$ unidades com as mesmas proporções de tamanho que serão divididas em 5 pools de 3 mexilhões que serão analisados em triplicata (Figura 6).

Figura 6. Esquema de análise das amostras a partir das coletas de mexilhões



Nota: P_B local de coleta de mexilhões; P_{B1}, P_{B2} e P_{B3} sublocais de coletas; *Pool* será formado pela somatória das amostras dos 3 sublocais; análises em triplicata de 5 pool de 3 mexilhões

Após o descongelamento e definição das amostras a serem utilizadas, os bivalves serão limpos para retirada de impurezas agregadas na concha e epibiontes, e na sequência medidos em mm através do uso de um paquímetro e pesados.

A abertura das conchas se dará de forma manual, colocando todo o conteúdo de tecido úmido em uma embalagem de alumínio, previamente calcinado a uma temperatura de 400°C por 4 h para eliminar possível contaminação de MP aéreo no laboratório. A embalagem com o tecido úmido será pesada (g), e após processo de liofilização novamente avaliada o seu peso seco (g).

O Índice de Condição K dos bivalves *Crassostrea sp.* será avaliado e comparado as amostras com presença/ausência de MP e entre os locais de amostragem, baseado na seguinte fórmula (Meyer et al., 1998):

$$\text{Fator de condição} = DM / (L_i \times W_i/2) \times 10.000$$

DM (peso seco do tecido mole); *L_i* (comprimento da camada nacarada branca); *W_i* (largura da camada nacarada branca)

Para os mexilhões será utilizado o Índice de Condição de mexilhões a partir do peso seco dos bivalves dividido pelo volume intervalar (Baird, 1966 citado por Marenzi & Branco, 2005).

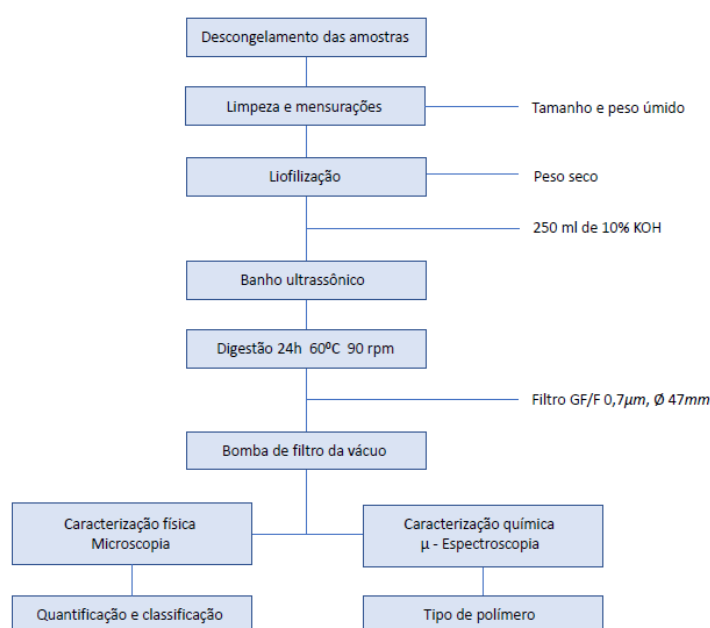
A metodologia de análise de MP em ostras será adaptada de Ding et al (2018), representado na figura 7. A partir do descongelamento das amostras e mensurações descritas acima, as ostras serão liofilização através de digestão química.

Composta por 3 amostras em triplicata para cada ponto de coleta no CEP as ostras individualmente após liofilização serão colocadas em *erlenmeyers*, acrescido de 250 ml

de KOH (Hidróxido de Potássio) a 10% (10 vezes v/v) (Sigma-Aldrich). Em seguida receberão um banho ultrassônico de 5 minutos para homogeneização das amostras e serão submetidos a um período de 24 h a 60°C em uma incubadora de oscilação a 90 rpm (*Shaker*).

Após a digestão química, esse material deverá ser filtrado através de uma bomba a vácuo, utilizando um filtro de vidro (GF/F de 0,7 µm de tamanho de poro, 47 mm de diâmetro - Whatman). Os filtros serão colocados em placas de Petri cobertas para secagem em estufa a 50°C, e reservados para análise microscópica.

Figura 7. Metodologia de análise adaptado de Ding et al (2018)



Para a identificação de MP serão utilizados a caracterização física e a caracterização química (Gesamp, 2019).

A caracterização física será através de microscopia (ZEISS, modelo AXIO scapo A1 acoplada a máquina digital com alta resolução) que captar e avaliar imagem e vídeo ampliados para quantificar, classificar os MP quanto ao tamanho, formato, e cor. Além disso, poderá ser utilizado de forma complementar, uma análise de reação física mediante a exposição de calor, através do uso agulha quente (Shim et al., 2017).

Para caracterização química, uma amostra parcial dos MP observados nos filtros após secagem serão analisadas por Micro Espectroscopia de Absorção de Infravermelho por Transformada de Fourier - µ-FTIR ou µRaman (Käppler et al., 2016;

Pegado et al., 2018). Os espectros serão comparados a partir de biblioteca de data base própria, e utilizados para determinar o tipo de polímero presente nos bivalves.

Controle de qualidade das análises

Para a prevenção de contaminação de MP no ambiente e nos matérias de análises, assim como nas amostras de pesquisa, boas práticas laboratoriais serão utilizadas como preconiza Gesamp (2019). A circulação de pessoas no laboratório será controlada (Morais et al., 2020) para evitar a contaminação de MP aéreo, e o manuseio das amostras será realizado em cabine de fluxo laminar (Covernton et al., 2019), ou uso da capela previamente limpa (Santana et al., 2016).

Serão utilizados roupas e jalecos 100% algodão na cor branca, além do uso de luvas nitrílicas cor rosa, uma vez que essas cores normalmente não estão presentes nas matrizes avaliadas. Será utilizado sempre que possível vidraria, evitando ao máximo o uso e o manuseio de plástico. Toda a bancada e o material utilizado será limpo com álcool a 70% ou puro, água destilada ou água Milli-Q (Andrade et al., 2019; Brâte et al., 2018b; Morais et al., 2020).

Uma análise de extração em branco, sem tecido será realizada simultaneamente para corrigir potencial contaminação processual de digestão dos bivalves.

Todos os recipientes e béqueres serão lavados 3 vezes com água ultra pura antes do uso, e as amostras sempre que possível estarão cobertas com papel alumínio para evitar contaminação do meio (EFSA, 2016). Durante todo o processo da análise das amostras, roupas de fibras sintéticas e equipamentos plásticos serão evitados e um filtro GF/F ficará exposto simultaneamente para verificar contaminação pelo ar (Brâte et al., 2018)

Análise estatística

Para a avaliação da incidência e comparação de MP intra e entre espécies, serão utilizadas estatísticas descritivas e inferenciais. Será realizado análise de homocedasticidade (Teste de Benferroni), caso os dados sejam considerados normais será realizado uma Análise de Variância (Anova), ou seu equivalente não-paramétrico (Teste de Kruskal Wally).

Será realizada uma Regressão Linear entre o Índice de Condição e a quantidade de MP em *Crassostrea sp* e *Mytilus sp*.

Análise de Componentes Principais será realizada para avaliar variáveis bióticas e abióticas no espaço, entre as espécies e intra espécie.

RESULTADOS ESPERADOS

Os resultados esperados da pesquisa buscam descrever e comparar a presença de microplásticos em bivalves de bancos naturais e de ostreicultura, entre ostras e mexilhões, e o impacto de ambientes poluídos sobre espécies filtradoras no CEP. Além disso, os resultados buscarão observar se existem diferenças na presença de MP ocasionada pelo tipo de aquisição de bivalves. Se bivalves adquiridos direto dos pontos de produção e coleta apresentam diferença quando comparados aos pontos de comercialização no mercado do peixe na maior cidade da região (Paranaguá).

A presença de MP e congêneres em animais marinhos de consumo humano são uma importante variável ambiental e de saúde pública, e que podem ser utilizadas como alerta antecipado de problemas sanitários e ambientais como bioindicadores.

Ademais, acredita-se que a contribuição social decorrente de um estudo como esse possa desencadear políticas públicas de preservação, compensação e mitigação do impacto humano no meio ambiente, e políticas de resíduos sólidos mais rígidas.

REFERÊNCIAS

- Abiplast (2017). *Indústria brasileira de transformação e reciclagem de material plástico*. Perfil. Acessado em 25 de março de 2019.
- Absher Monteiro, T., Augusto, A., Ferreira, L., Susete, J., & Christo, W. (2015). Conchas de Moluscos Marinhos do Paraná Museu de Ciências Naturais. *Publiki*, 1, 20.
- Andrade, M. C., Winemiller, K. O., Barbosa, P. S., Fortunati, A., Chelazzi, D., Cincinelli, A., & Giarrizzo, T. (2019). First account of plastic pollution impacting freshwater fishes in the Amazon: Ingestion of plastic debris by piranhas and other serrasalmids with diverse feeding habits. *Environmental Pollution*, 244, 766–773. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.088>
- Auta, H. S., Emenike, C. U., & Fauziah, S. H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment A review of the sources, fate, effects, and

potential solutions. *Environment International*, 102, 165–176.

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>

- Barboza, L. G. A., Dick Vethaak, A., Lavorante, B. R. B. O., Lundebye, A. K., & Guilhermino, L. (2018). Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. *Marine Pollution Bulletin*, 133(June), 336–348. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.047>
- Belzagui, F., Crespi, M., Álvarez, A., Gutiérrez-Bouzán, C., & Vilaseca, M. (2019). Microplastics' emissions: Microfibers' detachment from textile garments. *Environmental Pollution*, 248, 1028–1035. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.059>
- Birnstiel, S., Soares-Gomes, A., & da Gama, B. A. P. (2019). Depuration reduces microplastic content in wild and farmed mussels. *Marine Pollution Bulletin*, 140(January), 241–247. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.044>
- Bråte, I. L. N., Hurley, R., Iversen, K., Beyer, J., Thomas, K. V., Steindal, C. C., Green, N. W., Olsen, M., & Lusher, A. (2018a). *Mytilus* spp. as sentinels for monitoring microplastic pollution in Norwegian coastal waters: A qualitative and quantitative study. *Environmental Pollution*, 243, 383–393. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.077>
- Bråte, I. L. N., Hurley, R., Iversen, K., Beyer, J., Thomas, K. V., Steindal, C. C., Green, N. W., Olsen, M., & Lusher, A. (2018b). *Mytilus* spp. as sentinels for monitoring microplastic pollution in Norwegian coastal waters: A qualitative and quantitative study. *Environmental Pollution*, 243, 383–393. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.077>
- C. de Oliveira, R. (2015). O panorama da aquíicultura no Brasil: a prática com foco na sustentabilidade. *Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade*, 2(1), 71–89. <https://doi.org/10.22280/revintervol2ed1.18>
- Castro, R. O., Silva, M. L., Marques, M. R. C., & de Araújo, F. V. (2016). Evaluation of microplastics in Jurujuba Cove, Niterói, RJ, Brazil, an area of mussels farming. *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), 555–558. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.037>
- Cesa, F., Turra, A., & Baruque-Ramos, J. (2017). Synthetic fibers as microplastics in the marine environment: A review from textile perspective with a focus on domestic washings. *Science of the Total Environment*, 598, 1116–1129. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.172>

- Cho, Y., Shim, W. J., Jang, M., Han, G. M., & Hong, S. H. (2019). Abundance and characteristics of microplastics in market bivalves from South Korea. *Environmental Pollution*, 245, 1107–1116.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.091>
- Christo, S. W., Ivachuk, C. S., Veroneze, F., Ferreira Jr, A. L., & Absher, T. M. (2016). Descrição alimentar e estágio de maturação de *Crassostrea brasiliana* comercializadas no mercado municipal de Paranaguá, Paraná, Brasil. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 19(2).
<https://doi.org/10.14210/bjast.v19n2.5794>
- Clark, J. R., Cole, M., Lindeque, P. K., Fileman, E., Blackford, J., Lewis, C., Lenton, T. M., & Galloway, T. S. (2016). Marine microplastic debris: a targeted plan for understanding and quantifying interactions with marine life. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 14(6), 317–324. <https://doi.org/10.1002/fee.1297>
- Colabuono, F. I., Barquete, V., Domingues, B. S., & Montone, R. C. (2009). Plastic ingestion by Procellariiformes in Southern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 58(1), 93–96. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.020>
- Costa, L. L., Arueira, V. F., da Costa, M. F., Di Benedetto, A. P. M., & Zalmon, I. R. (2019). Can the Atlantic ghost crab be a potential biomonitor of microplastic pollution of sandy beaches sediment? *Marine Pollution Bulletin*, 145(April), 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.019>
- Covernton, G. A., Pearce, C. M., Gurney-Smith, H. J., Chastain, S. G., Ross, P. S., Dower, J. F., & Dudas, S. E. (2019). Size and shape matter: A preliminary analysis of microplastic sampling technique in seawater studies with implications for ecological risk assessment. *Science of the Total Environment*, 667, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.346>
- da Costa Araújo, A. P., de Melo, N. F. S., de Oliveira Junior, A. G., Rodrigues, F. P., Fernandes, T., de Andrade Vieira, J. E., Rocha, T. L., & Malafaia, G. (2020). How much are microplastics harmful to the health of amphibians? A study with pristine polyethylene microplastics and *Physalaemus cuvieri*. *Journal of Hazardous Materials*, 382(August 2019), 121066. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121066>
- Dantas, N. C. F. M., Duarte, O. S., Ferreira, W. C., Ayala, A. P., Rezende, C. F., & Feitosa, C. V. (2020). Plastic intake does not depend on fish eating habits: Identification of microplastics in the stomach contents of fish on an urban beach in

- Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 153(October 2019), 110959.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110959>
- de Barros, M. S. F., dos Santos Calado, T. C., & de Sá Leitão Câmara de Araújo, M. (2020). Plastic ingestion lead to reduced body condition and modified diet patterns in the rocky shore crab *Pachygrapsus transversus* (Gibbes, 1850) (Brachyura: Grapsidae). *Marine Pollution Bulletin*, 156(April), 111249.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111249>
- de Sá, L. C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Rocha, T. L., & Futter, M. N. (2018). Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future? *Science of the Total Environment*, 645, 1029–1039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.207>
- Ding, J. F., Li, J. X., Sun, C. J., He, C. F., Jiang, F. H., Gao, F. L., & Zheng, L. (2018). Separation and Identification of Microplastics in Digestive System of Bivalves. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 46(5), 690–697.
[https://doi.org/10.1016/S1872-2040\(18\)61086-2](https://doi.org/10.1016/S1872-2040(18)61086-2)
- Endo, S., Takizawa, R., Okuda, K., Takada, H., Chiba, K., Kanehiro, H., Ogi, H., Yamashita, R., & Date, T. (2005). Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: Variability among individual particles and regional differences. *Marine Pollution Bulletin*, 50(10), 1103–1114.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.04.030>
- Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., Galgani, F., Ryan, P. G., & Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 9(12), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Fang, C., Zheng, R., Chen, H., Hong, F., Lin, L., Lin, H., Guo, H., Bailey, C., Segner, H., Mu, J., & Bo, J. (2019). Comparison of microplastic contamination in fish and bivalves from two major cities in Fujian province, China and the implications for human health. *Aquaculture*, 512(July), 734322.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734322>
- Ferreira, G. V. B., Barletta, M., Lima, A. R. A., Dantas, D. V., Justino, A. K. S., & Costa, M. F. (2016). Plastic debris contamination in the life cycle of Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*) in a tropical estuary . *ICES Journal of Marine Science: Journal Du Conseil*, 73(10), 2695–2707.
<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsw108>

- Ferreira, G. V. B., Barletta, M., Lima, A. R. A., Morley, S. A., Justino, A. K. S., & Costa, M. F. (2018). High intake rates of microplastics in a Western Atlantic predatory fish, and insights of a direct fishery effect. *Environmental Pollution*, 236, 706–717. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.095>
- Figueiredo, G. M., & Vianna, T. M. P. (2018). Suspended microplastics in a highly polluted bay: Abundance, size, and availability for mesozooplankton. *Marine Pollution Bulletin*, 135(July), 256–265. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.020>
- Fossi, M. C., Coppola, D., Bains, M., Giannetti, M., Guerranti, C., Marsili, L., Panti, C., de Sabata, E., & Clò, S. (2014). Large filter feeding marine organisms as indicators of microplastic in the pelagic environment: The case studies of the Mediterranean basking shark (*Cetorhinus maximus*) and fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Marine Environmental Research*, 100(2014), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.02.002>
- Fossi, M. C., Marsili, L., Bains, M., Giannetti, M., Coppola, D., Guerranti, C., Caliani, I., Minutoli, R., Lauriano, G., Finoia, M. G., Rubegni, F., Panigada, S., Bérubé, M., Urbán Ramírez, J., & Panti, C. (2016). Fin whales and microplastics: The Mediterranean Sea and the Sea of Cortez scenarios. *Environmental Pollution*, 209, 68–78. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.022>
- Gandara e Silva, P. P., Nobre, C. R., Resaffe, P., Pereira, C. D. S., & Gusmão, F. (2016). Leachate from microplastics impairs larval development in brown mussels. *Water Research*, 106, 364–370. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.10.016>
- GESAMP. (2015). *Sources, fate and effects of MP in the marine environment*. 98. www.imo.org
- Gorman, D., Moreira, F. T., Turra, A., Fontenelle, F. R., Combi, T., Bicego, M. C., & de Castro Martins, C. (2019). Organic contamination of beached plastic pellets in the South Atlantic: Risk assessments can benefit by considering spatial gradients. *Chemosphere*, 223, 608–615. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.02.094>
- Gusmão, F., Domenico, M. Di, Amaral, A. C. Z., Martínez, A., Gonzalez, B. C., Worsaae, K., Ivar do Sul, J. A., & Cunha Lana, P. da. (2016). In situ ingestion of microfibrils by meiofauna from sandy beaches. *Environmental Pollution*, 216(June), 584–590. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.015>
- Haegerbaeumer, A., Mueller, M. T., Fueser, H., & Traunspurger, W. (2019). Impacts of micro- and nano-sized plastic particles on benthic invertebrates: A literature review

- and gap analysis. *Frontiers in Environmental Science*, 7(FEB).
<https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00017>
- Hudak, C. A., & Sette, L. (2019). Opportunistic detection of anthropogenic micro debris in harbor seal (*Phoca vitulina vitulina*) and gray seal (*Halichoerus grypus atlantica*) fecal samples from haul-outs in southeastern Massachusetts, USA. *Marine Pollution Bulletin*, 145(February), 390–395.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.020>
- Käppler, A., Fischer, D., Oberbeckmann, S., Schernewski, G., Labrenz, M., Eichhorn, K. J., & Voit, B. (2016). Analysis of environmental microplastics by vibrational microspectroscopy: FTIR, Raman or both? *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(29), 8377–8391. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9956-3>
- Kolm, H. E., & Absher, T. M. (2008). Bacterial density and coliform organisms in waters and oysters of Paranagua Estuarine Complex, Parana, Brazil AN - 19795684; 8805774. *Boletim Do Instituto de Pesca Sao Paulo*, 34(1), 49–59.
http://search.proquest.com/docview/19795684?accountid=27991%5Cnhttp://link.periodicos.capes.gov.br/sfxlcl41?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&genre=article&sid=ProQ:ProQ:asfabiological&atitle=Bacterial+density+and+coliform+organ
- Li, J., Lusher, A. L., Rotchell, J. M., Deudero, S., Turra, A., Lise, I., Bråte, N., Sun, C., Hossain, M. S., Li, Q., Kolandhasamy, P., & Shi, H. (2019). Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic. *Environmental Pollution*, 244, 522–533. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.032>
- Li, J., Yang, D., Li, L., Jabeen, K., & Shi, H. (2015). Microplastics in commercial bivalves from China. *Environmental Pollution*, 207, 190–195.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.018>
- Li, Z., Feng, C., Wu, Y., & Guo, X. (2020). Impacts of nanoplastics on bivalve: Fluorescence tracing of organ accumulation, oxidative stress and damage. *Journal of Hazardous Materials*, 392(December 2019), 122418.
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122418>
- Lima, A. R. A., Costa, M. F., & Barletta, M. (2014). Distribution patterns of microplastics within the plankton of a tropical estuary. *Environmental Research*, 132, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.031>
- Marenzi, A. W. C., & Branco, J. O. (2005). O mexilhão Perna perna (Linnaeus) (*Bivalvia*, *Mytilidae*) em cultivo na Armação do Itapocoroy, Santa Catarina, Brasil.

Revista Brasileira de Zoologia, 22(2), 394–399. <https://doi.org/10.1590/s0101-81752005000200013>

- Mateos-Cárdenas, A., O'Halloran, J., van Pelt, F. N. A. M., & Jansen, M. A. K. (2020). Rapid fragmentation of microplastics by the freshwater amphipod *Gammarus duebeni* (Lillj.). *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69635-2>
- Matheus, S. F. de B., Tereza, C. dos S. C., Alberis, S. S., & Ewerton, V. dos S. (2020). Ingestion of plastic debris affects feeding intensity in the rocky shore crab *Pachygrapsus transversus* Gibbes 1850 (Brachyura: Grapsidae). *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 12(1), 113–117. <https://doi.org/10.5897/ijbc2020.1391>
- Mato, Y., & Isobe, T. (2001). *Plastic Resin Pellets as a Transport Medium for Toxic Chemicals in the Marine Environment*. 35(2), 318–324. <https://doi.org/10.1021/es0010498>
- Meyer, U., Hagen, W., & Medeiros, C. (1998). Mercury in a northeastern Brazilian mangrove area, a case study: Potential of the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* as bioindicator for mercury. *Marine Biology*, 131(1), 113–121. <https://doi.org/10.1007/s002270050302>
- Miranda, D. de A., & de Carvalho-Souza, G. F. (2016a). Are we eating plastic-ingesting fish? *Marine Pollution Bulletin*, 103(1–2), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.035>
- Miranda, D. de A., & de Carvalho-Souza, G. F. (2016b). Are we eating plastic-ingesting fish? *Marine Pollution Bulletin*, 103(1–2), 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.035>
- Monteiro, T., Augusto, A., Ferreira, L., Susete, J., & Christo, W. (2015). Conchas de Moluscos Marinhos do Paraná Museu de Ciências Naturais. *Publiki*, 1, 20.
- Morais, L. M. S., Sarti, F., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Giarrizzo, T., & Martinelli Filho, J. E. (2020). The sea anemone *Bunodosoma cangicum* as a potential biomonitor for microplastics contamination on the Brazilian Amazon coast. *Environmental Pollution*, 265, 114817. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114817>
- Nelms, S. E., Galloway, T. S., Godley, B. J., Jarvis, D. S., & Lindeque, P. K. (2018). Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environmental Pollution*, 238, 999–1007. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.016>

- Nobre, C. R., Santana, M. F. M., Maluf, A., Cortez, F. S., Cesar, A., Pereira, C. D. S., & Turra, A. (2015). Assessment of microplastic toxicity to embryonic development of the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Echinodermata: Echinoidea). *Marine Pollution Bulletin*, 92(1–2), 99–104.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.050>
- Pabortsava, K., & Lampitt, R. S. (2020). High concentrations of plastic hidden beneath the surface of the Atlantic Ocean. *Nature Communications*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17932-9>
- Pegado, T. de S. e. S., Schmid, K., Winemiller, K. O., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Dei, L., & Giarrizzo, T. (2018). First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 133(June), 814–821.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.035>
- Peixoto, D., Amorim, J., Pinheiro, C., Oliva-Teles, L., Varó, I., de Medeiros Rocha, R., & Vieira, M. N. (2019). Uptake and effects of different concentrations of spherical polymer microparticles by mussels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 176(December 2018), 211–218.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.03.100>
- Possatto, F. E., Spach, H. L., Cattani, A. P., Lamour, M. R., Santos, L. O., Cordeiro, N. M. A., & Broadhurst, M. K. (2015). Marine debris in a World Heritage Listed Brazilian estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 91(2), 548–553.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.09.032>
- Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2019). Effects of microplastics on microalgae populations: A critical review. *Science of the Total Environment*, 665, 400–405. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.132>
- Qu, X., Su, L., Li, H., Liang, M., & Shi, H. (2018). Assessing the relationship between the abundance and properties of microplastics in water and in mussels. *Science of the Total Environment*, 621, 679–686.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.284>
- Renzi, M., Guerranti, C., & Blašković, A. (2018). Microplastic contents from maricultured and natural mussels. *Marine Pollution Bulletin*, 131(March), 248–

251. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.035>
- Resgalla, C., Brasil, E. D. S., & Salomão, L. C. (2007). The effect of temperature and salinity on the physiological rates of the mussel *Perna perna* (Linnaeus 1758). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(3), 543–556.
<https://doi.org/10.1590/s1516-89132007000300019>
- Rochman, C. M., Tahir, A., Williams, S. L., Baxa, D. V., Lam, R., Miller, J. T., Teh, F. C., Werorilangi, S., & Teh, S. J. (2015). Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. *Scientific Reports*, 5(April), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep14340>
- Rossi, L. C., Scherer, A. L., & Petry, M. V. (2019). First record of debris ingestion by the shorebird American Oystercatcher (*Haematopus palliatus*) on the Southern coast of Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 138(November 2018), 235–240.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.051>
- Salvador Cesa, F., Turra, A., & Baruque-Ramos, J. (2017). Synthetic fibers as microplastics in the marine environment: A review from textile perspective with a focus on domestic washings. *Science of the Total Environment*, 598, 1116–1129.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.172>
- Santana, M. F. M., Ascer, L. G., Custódio, M. R., Moreira, F. T., & Turra, A. (2016). Microplastic contamination in natural mussel beds from a Brazilian urbanized coastal region: Rapid evaluation through bioassessment. *Marine Pollution Bulletin*, 106(1–2), 183–189. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.02.074>
- Santana, M. F. M., Moreira, F. T., & Turra, A. (2017). Trophic transference of microplastics under a low exposure scenario: Insights on the likelihood of particle cascading along marine food-webs. *Marine Pollution Bulletin*, 121(1–2), 154–159.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.061>
- Sardi, A. E., Renaud, P. E., da Cunha Lana, P., & Camus, L. (2016). Baseline levels of oxidative stress biomarkers in species from a subtropical estuarine system (Paranaguá Bay, southern Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, 113(1–2), 496–508.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.014>
- Secretaria, S. C. (2018). *Plano Estratégico para Desenvolvimento Sustentável da Maricultura Catarinense Plano Estratégico para Desenvolvimento Sustentável da Maricultura Catarinense*.
- Setälä, O., Fleming-Lehtinen, V., & Lehtiniemi, M. (2014). Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental Pollution*, 185, 77–83.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.013>

- Shen, M., Ye, S., Zeng, G., Zhang, Y., Xing, L., Tang, W., Wen, X., & Liu, S. (2020). Can microplastics pose a threat to ocean carbon sequestration? *Marine Pollution Bulletin*, 150(September 2019), 110712. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110712>
- Shen, M., Zhu, Y., Zhang, Y., Zeng, G., Wen, X., Yi, H., Ye, S., Ren, X., & Song, B. (2019). Micro(nano)plastics: Unignorable vectors for organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 139(January), 328–331. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.004>
- Shim, W. J., Hong, S. H., & Eo, S. E. (2017). Identification methods in microplastic analysis: A review. *Analytical Methods*, 9(9), 1384–1391. <https://doi.org/10.1039/c6ay02558g>
- Silva, J. D. B., Barletta, M., Lima, A. R. A., & Ferreira, G. V. B. (2018). Use of resources and microplastic contamination throughout the life cycle of grunts (Haemulidae) in a tropical estuary. *Environmental Pollution*, 242, 1010–1021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.038>
- Silva, M. M., Maldonado, G. C., Castro, R. O., de Sá Felizardo, J., Cardoso, R. P., Anjos, R. M. dos, & Araújo, F. V. de. (2019). Dispersal of potentially pathogenic bacteria by plastic debris in Guanabara Bay, RJ, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 141(July 2018), 561–568. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.02.064>
- Sjollema, S. B., Redondo-Hasselerharm, P., Leslie, H. A., Kraak, M. H. S., & Vethaak, A. D. (2016). Do plastic particles affect microalgal photosynthesis and growth? *Aquatic Toxicology*, 170, 259–261. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.12.002>
- Tourinho, P. S., Ivar do Sul, J. A., & Fillmann, G. (2010). Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil? *Marine Pollution Bulletin*, 60(3), 396–401. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.10.013>
- Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M. B., & Janssen, C. R. (2015). Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution*, 199, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.008>
- Van Cauwenberghe, L., & Janssen, C. R. (2014). Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution*, 193, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>
- Vendel, A. L., Bessa, F., Alves, V. E. N., Amorim, A. L. A., Patrício, J., & Palma, A. R. T. (2017). Widespread microplastic ingestion by fish assemblages in tropical

estuaries subjected to anthropogenic pressures. *Marine Pollution Bulletin*, 117(1–2), 448–455. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.081>

Wieczorek, A. M., Croot, P. L., Lombard, F., Sheahan, J. N., & Doyle, T. K. (2019). Microplastic Ingestion by Gelatinous Zooplankton May Lower Efficiency of the Biological Pump. *Environmental Science and Technology*, 53(9), 5387–5395. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b07174>

Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms : A review. *Environmental Pollution*, 178, 483–492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>

Zhang, H. (2017). Transport of microplastics in coastal seas. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 199, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2017.09.032>