

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA A SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E MONITORAMENTO
AMBIENTAL

Maria Fernanda Rosa da Silva

O uso de *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) como bioindicador e espécie modelo para estudos com microplástico

Sorocaba

2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA PARA A SUSTENTABILIDADE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA E MONITORAMENTO
AMBIENTAL

Maria Fernanda Rosa da Silva

O uso de *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) como bioindicador e espécie modelo para estudos com microplástico

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental da Universidade Federal de São Carlos.

Orientação: Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman
Coorientação: Profa. Dra. Eliane Pintor de Arruda
Financiamento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Auxílio: 88887.965296/2024-00).

Sorocaba

2026

Silva, Maria Fernanda Rosa da

O uso de *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) como bioindicador e espécie modelo para estudos com microplástico / Maria Fernanda Rosa da Silva, Eliane Pintor de Arruda, Elisabete Tsukada -- 2026. 77f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Walter Ruggeri Waldman
Banca Examinadora: Cleoni dos Santos Carvalho, Lenita de Freitas Tallarico
Bibliografia

1. Bivalves como bioindicadores. 2. Microplásticos. 3. Bioacumulação. I. Silva, Maria Fernanda Rosa da. II. Arruda, Eliane Pintor de. III. Tsukada, Elisabete. IV. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática (SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Maria Fernanda Rosa da Silva, realizada em 23/02/2026.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman (UFSCar)

Profa. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho (UFSCar)

Profa. Dra. Lenita de Freitas Tallarico (IBSP)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental.

AGRADECIMENTO

Ao longo da minha trajetória, tive inúmeras pessoas que me ofereceram suporte e incentivo em momentos de conquistas e dificuldades. Ser pesquisadora sempre foi um sonho, e sem essas presenças eu não teria chegado até aqui.

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família, em especial à minha mãe, Denize Martins, e ao meu parceiro de longa data, João Pedro, por todo o apoio e incentivo que me deram ao longo desses anos não apenas na vida pessoal, mas também na acadêmica, sendo peças fundamentais na minha formação e trajetória.

Agradeço também às amigas que construí no campus ao longo desses anos, em especial Elisabete Tsukada, Gabriel Aguiar, Michele Provase e Gabriel Hiroshi, e aos colegas do laboratório GPPP, pela paciência, pelos ensinamentos e pelas vivências compartilhadas, que foram essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional.

Expresso minha sincera gratidão aos meus orientadores, Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman e Profa. Dra. Eliane Pintor de Arruda, pelo suporte constante durante a execução deste trabalho, pelos valiosos ensinamentos que enriqueceram meu desenvolvimento como pesquisadora e pelas conversas e experiências compartilhadas.

Agradeço ainda aos professores Profa. Dra. Mônica Jones e Prof. Dr. Fábio Abdalla por gentilmente disponibilizar as dependências de seus laboratórios e/ou equipamentos, viabilizando a realização deste estudo.

Por fim, deixo meu agradecimento ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental (PPGBMA) e aos financiamentos da CAPES (bolsa 88887.965296/2024-00), da FAPESP (processos 2022/12104-4 e 2023/18229-6), do FINEP (Projeto MARTMA-FINEP 0152/21), do CNPq (Edital Universal 406391/2021-1 e INCT Circularidade 406925/2022-4). A UFSCar proveu a infraestrutura necessária para esta pesquisa, e o LNNano permitiu o uso do Microscópio eletrônico de varredura MEV (Projetos 20241768, 20233667 e 20243387).

RESUMO

Os microplásticos (MPs) são hoje reconhecidos como componentes persistentes em todos os ecossistemas, incluindo rios e lagos, principalmente em regiões com gestão insuficiente de resíduos e efluentes, como ocorre em grande parte do território brasileiro. Nesse cenário, compreender como diferentes organismos interagem com MPs é essencial tanto para o monitoramento ambiental quanto para a avaliação dos riscos ecológicos. Entre os bioindicadores utilizados, os bivalves se destacam pela facilidade de coleta, sensibilidade fisiológica, hábito filtrador e capacidade de bioacumulação. A espécie *Anodontites trapesialis*, amplamente distribuída em ecossistemas de água doce sul-americanos, tem se mostrado um organismo promissor para estudos com MPs devido à sua elevada taxa de filtração. Este trabalho integra duas abordagens complementares, monitoramento ambiental e experimentação controlada, para avaliar o uso de *A. trapesialis* como bioindicador de MPs, com foco especial nas fibras, tipologia predominante em ambientes dulcícolas. Em ambos os experimentos, os indivíduos foram coletados no rio Pirajibu-mirim (Sorocaba, SP) em estações distintas no mês de Abril e Dezembro. Um dos experimentos analisou as egestas (fezes e pseudofezes) para avaliar a contaminação advinda do ambiente, enquanto o segundo experimento envolveu um ensaio com exposição aguda a fibras de poliéster prístinas. De forma geral, *A. trapesialis* já vem contaminado do ambiente com uma diversidade de MPs e elimina a maior parte das partículas nos primeiros dias de depuração, leva no mínimo 15 dias para eliminar a contaminação advinda do ambiente. Em relação ao experimento com exposição de fibras, o processo segue o padrão de eliminação da maioria das fibras nas primeiras 72h sem evidências de bioacumulação após 21 dias. Os resultados também indicaram que os indivíduos ingerem mais fibras de 0,9 mm que as 4,0 mm contudo o tamanho não influenciou no tempo total de eliminação. Além disso, fibras de 4,0 mm exibiram modificações após a passagem pelo trato digestório, sugerindo que estruturas internas especialmente o estilete cristalino podem atuar mecanicamente na modificação das fibras aumentando a disponibilidade de partículas menores no ambiente.

Palavras-chave: Bivalve; Mycetopodidae; Ingestão; Fibras; Poliéster; Depuração

ABSTRACT

Microplastics (MPs) are now recognized as persistent components in all ecosystems, including rivers and lakes, especially in regions with inadequate waste and effluent management, as is the case in much of Brazil. In this scenario, understanding how different organisms interact with MPs is essential for both environmental monitoring and ecological risk assessment. Among the bioindicators used, bivalves stand out for their ease of collection, physiological sensitivity, filtering habit, and bioaccumulation capacity. The species *Anodontites trapesialis*, widely distributed in South American freshwater ecosystems, has proven to be a promising organism for studies with MPs due to its high filtration rate. This study integrates two complementary approaches, environmental monitoring and controlled experimentation, to evaluate the use of *A. trapesialis* as a bioindicator of MPs, with a special focus on fibers, the predominant type in freshwater environments. In both experiments, individuals were collected from the Pirajibu-mirim River (Sorocaba, SP) at different stations in April and December. One of the experiments analyzed the egestas (feces and pseudofeces) to assess contamination from the environment, while the second experiment involved a test with acute exposure to pristine polyester fibers. In general, *A. trapesialis* is already contaminated from the environment with a diversity of PMs and eliminates most of the particles in the first days of purification, taking at least 15 days to eliminate contamination from the environment. Regarding the fiber exposure experiment, the process follows the pattern of elimination of most fibers in the first 72 hours with no evidence of bioaccumulation after 21 days. The results also indicated that individuals ingest more 0.9 mm fibers than 4.0 mm fibers; however, size did not influence the total elimination time. In addition, 4.0 mm fibers exhibited changes after passing through the digestive tract, suggesting that internal structures, especially the crystalline stiletto, may act mechanically to modify the fibers, increasing the availability of smaller particles in the environment.

Key-words: Bivalve; Fibers; Polyester; Depuration; Ingestion; Mycetopodidae.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figura 01 - Esquema anatômico de <i>A. Trapesialias</i>	14
Figura 02 - Fluxograma de processamento de amostras.....	17
Figura 03 - Gráfico variação de amônia	19
Figura 04 - Aspecto visual das primeiras membranas	20
Figura 05 - Quantidade e morfologia dos MPs	21
Figura 06 - Frequência relativa de MPs entre as temporadas	22
Figura 07 - Fotografia Mps encontrados na estação seca	23
Figura 08 - Fotografia Mps encontrados na estação chuvosa	23
Figura 09 - Variação de tamanho dos MPs	24
Figura 10 - Variação de tamanho fibras e fragmentos	25
Figura 11 - Distribuição de cores nos MPs	26
Figura 12 - Mps nos controles	27

ARTIGO 2

Figura 01 - Esquema do sistema digestório de <i>A. Trapesialias</i>	36
Figura 02 - Fluxograma do preparo dos MPs.....	39
Figura 03 - Fluxograma da obtenção e cuidados de <i>A. trapesialis</i>	41
Figura 04 - Esquema visual dos ensaios	42
Figura 05 - Gráfico variação de amônia.....	45
Figura 06 - Matriz de correlação	46
Figura 07 - Cinética de depuração	47
Figura 08 - Variação de tamanho dos MPs	48
Figura 09 - Frequência relativa das fibras de 4,0 mm	49

Figura 10 - Fotografia da tipologia das fibras	50
Figura 11 - Imagem Microscópio eletrônico de varredura Aglomerado e fragmentação.....	51
Figura 12 - Imagem Microscópio eletrônico de varredura Fibras oferecidas e Recuperadas.	52
Figura 13 - Fotografia estilete cristalino	53

SUMÁRIO

PRÓLOGO	08
1 INTRODUÇÃO GERAL	09
2 ARTIGO 1	12
2.1 INTRODUÇÃO.....	13
2.2 MÉTODOS.....	15
2.2.1 Coleta e manutenção de <i>A. trapesialis</i> em laboratório	15
2.2.2 Processamento e análise da depuração de fezes e pseudofezes	16
2.2.3 Contaminação e controle de qualidade.....	17
2.2.4 Tratamento dos dados e análises estatísticas	18
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
2.3.1 Parâmetros experimentais de manutenção e cuidados	18
2.3.2 Análise geral da depuração das partículas na egesta	19
2.3.3 Tamanhos dos microplásticos encontrados na egesta	24
2.3.4 Variedade de cores nos microplásticos	26
2.3.5 Análise de contaminação e controle de qualidade	27
2.4 CONCLUSÕES.....	28
REFERÊNCIAS	30
3 ARTIGO 2	34
3.1 INTRODUÇÃO.....	35
3.2 MÉTODOS	37
3.2.1 Preparo dos microplásticos	37
3.2.2 Obtenção e manutenção dos indivíduos em laboratório	40
3.2.3 Desenho experimental do ensaio.....	41
3.2.4 Processamento e análise das amostras durante a depuração pós-exposição	42
3.2.5 Análise bioacumulação nas vísceras	43
3.2.6 Contaminação e controle de qualidade	44
3.2.7 Tratamento dos dados e análises estatísticas	44
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45

3.3.1 Parâmetros experimentais.....	45
3.3.2 Ingestão e cinética da depuração das fibras após o ensaio	45
3.3.3 Modificação nas fibras	47
3.3.4 O agente que causa as modificações	53
3.4 CONCLUSÕES.....	54
REFERÊNCIAS.....	56
4 CONCLUSÕES GERAIS.....	59
REFERÊNCIAS.....	60
APÊNDICE A	64
ANEXO A	67
ANEXO B	70

PRÓLOGO

Este trabalho foi desenvolvido no grupo de pesquisa em poluição plástica (GPPP) coordenado pelo Prof. Dr. Walter Ruggeri Waldman e insere-se nas linhas de pesquisa em parceria com o Laboratório de Estudos em Macroinvertebrados Bentônicos (LEMB), coordenado pela Profa. Dra. Eliane Pintor de Arruda.

As perguntas que nortearam a elaboração deste projeto de pesquisa foram: 1) *Anodontites trapesialis* é um bioindicador eficiente de microplásticos em ambientes de água doce ao longo de diferentes estações do ano? 2) É possível realizar o monitoramento com métodos não invasivos? 3) A bioacumulação e o tempo de residência de fibras de poliéster em *A. trapesialis* podem variar em função do tamanho da fibra? 4) É possível as fibras sofrerem modificações ao passar pelo trato digestório do animal?

Para responder a essas questões, o presente documento está estruturado em 3 Tópicos principais (Introdução geral, Artigo I e Artigo II), seguidos das considerações finais referentes aos dois trabalhos desenvolvidos ao longo do mestrado.

O primeiro tópico apresenta uma introdução geral à problemática dos plásticos e microplásticos e sobre o uso de bivalves para o monitoramento, além das características ecológicas e morfológicas da espécie selecionada para o experimento. O Artigo I, aborda os microplásticos encontrados durante a depuração em laboratório da espécie de bivalve *A. trapesialis*, tendo como base a primeira e a segunda pergunta de pesquisa. O Artigo II, apresenta o bioensaio de exposição aguda a fibras de poliéster em indivíduos da mesma espécie, com o objetivo de avaliar o tempo de retenção, a bioacumulação e as possíveis modificações das fibras, respondendo às terceira e quarta perguntas propostas. Por fim, essa dissertação é concluída com as considerações finais dos dois artigos, uma síntese geral dos resultados e das contribuições obtidas nos estudos realizados.

1 INTRODUÇÃO GERAL

A poluição por contaminantes emergentes, especialmente os plásticos, representa um dos principais desafios ambientais da atualidade (Sodré *et al.*, 2023; Koutnik *et al.*, 2021). Esses materiais sintéticos são amplamente utilizados devido à sua versatilidade e baixo custo (Rodrigues *et al.*, 2023). A produção mundial segue em escala crescente, com mais de 430 milhões de toneladas somente no ano de 2024 (Plastic Europe, 2025). Apesar da extensa produção, menos de 10% dos resíduos plásticos são efetivamente reciclados em seus países de origem (Sendra *et al.*, 2021). A combinação de fatores como consumo excessivo e gestão inadequada de resíduos resulta na crescente introdução desses materiais nos ecossistemas (Sendra *et al.*, 2021; Sodré *et al.*, 2023).

Nos ambientes naturais, os plásticos são submetidos a intempéries que promovem sua fragmentação, originando partículas menores: os microplásticos (MPs). São consideradas MPs partículas poliméricas com tamanho igual ou inferior a 5 mm e são classificados como primários ou secundários (Rodrigues *et al.*, 2023; Ding *et al.*, 2022; Sendra *et al.*, 2021; Moto *et al.*, 2024). Os MPs primários são produzidos diretamente nesse tamanho por diversos setores industriais, como cosméticos, têxteis e abrasivos plásticos (Sunny *et al.*, 2025). Já os MPs secundários resultam da fragmentação de itens plásticos maiores submetidos a processos físicos, químicos e biológicos no ambiente (Li *et al.*, 2020). A ocorrência de MPs já foi registrada em todos os tipos de ecossistemas (Koutnik *et al.*, 2021) e em uma ampla variedade de organismos, causando efeitos que incluem bioacumulação, inflamação tecidual, estresse oxidativo e até disrupção endócrina (Sunny *et al.*, 2025).

Embora grande parte das pesquisas relacionadas a microplásticos em ambientes aquáticos se concentre em ambientes marinhos e estuarinos (Sodré *et al.*, 2023), a contaminação de sistemas de água doce demanda atenção especial, principalmente em países como o Brasil, cuja disponibilidade hídrica é de grande relevância ambiental, social e econômica (Sodré *et al.*, 2023). As principais fontes de microplásticos nesses ambientes incluem escoamento urbano e descargas industriais (Koutnik *et al.*, 2021). Com a ausência de tratamento eficiente de efluentes, ocorre a liberação de fibras sintéticas provenientes da lavagem de roupas e a de microesferas usadas em certos produtos de higiene (Sodré *et al.*, 2023). Uma vez introduzidas nos corpos d'água, essas partículas podem alterar as propriedades dos sedimentos (Carson *et al.*, 2011), afetar diversos organismos (Multisanti *et al.*, 2025), interferir na ciclagem de nutrientes (Zieritz *et al.* 2022),

liberar aditivos (Boeing *et al.*, 2024), interagir com poluentes orgânicos, modificando sua biodisponibilidade e toxicidade (Rodrigues *et al.*, 2023).

Nesse contexto, os bivalves são importantes bioindicadores para o monitoramento ambiental, devido à sua ampla distribuição, hábito filtrador e comportamento sedentário (Ward *et al.*, 2019; Khanjani *et al.*, 2023). Segundo Ringwood, (2021) esses animais são capazes de filtrar grandes volumes de água, atuando como verdadeiras “peneiras biológicas” expostas cronicamente a contaminantes presentes na coluna d’água, incluindo microplásticos. Quando ocorre a bioacumulação, os MPs podem ser transferidos ao longo da cadeia trófica e alcançar outros organismos, inclusive humanos (Moreschi *et al.*, 2020; Khanjani *et al.*, 2023), contribuindo para processos de biomagnificação (Nikhil *et al.*, 2026).

Diversas espécies de bivalves já foram utilizadas em estudos que avaliam a contaminação por microplásticos, uma vez que partículas suspensas muitas vezes apresentam tamanho e morfologia semelhantes às de seus alimentos naturais, tornando-os especialmente vulneráveis à ingestão (Ding *et al.*, 2022). A exposição aos MPs pode desencadear efeitos fisiológicos significativos, como inflamação em brânquias e tecidos digestórios, redução da taxa de filtração (Cole *et al.*, 2020; Sendra *et al.*, 2021) e impactos negativos na reprodução (Moreschi *et al.*, 2020).

Pesquisas anteriores demonstram que o bivalve de água doce *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819), pertencente à família Mycetopodidae, atua como um importante organismo para o monitoramento da poluição, devido à sua elevada capacidade de filtração (Callil *et al.*, 2003) e à eficiência como bioindicador de contaminantes, incluindo pesticidas (Lopes *et al.*, 1991), metais potencialmente tóxicos (Oliveira *et al.*, 2018) e microplásticos (Moreschi *et al.*, 2020; Staichak *et al.*, 2021).

Anodontites trapesialis apresenta ampla distribuição no território brasileiro, ocorrendo principalmente em bacias hidrográficas próximas a centros urbanos e em sistemas de piscicultura (Staichak *et al.*, 2021), o que a torna uma espécie de fácil coleta. Devido ao seu grande porte e à elevada capacidade de filtração, a espécie constitui um modelo relevante para a investigação do papel dos bivalves na degradação de microplásticos em ecossistemas límnicos. Indivíduos podem ultrapassar 200 mm de comprimento (Simone, 1994); contudo, Callil (2003), ao estudar populações do Pantanal, observou comprimento médio de concha de 93,45 mm. As brânquias do tipo eulamelibranquia ocupam a maior parte da cavidade palial (Hebling, 1976) e permitem taxas

de filtração entre 700 e 1000 mL h⁻¹ (Loaysa-Muro & Elías-Letts, 2007). Dessa forma, em ambientes onde *A. trapesialis* ocorre em altas densidades, assim como outros unionídeos de grande porte, esses organismos podem modificar substancialmente a dinâmica dos ecossistemas aquáticos, por meio da remoção de material particulado da coluna d'água e da deposição desse material associado ao muco na forma de fezes e pseudofezes (Cohen *et al.*, 1984).

Devido a escassez de estudos em ambientes de água doce e a falta de compreensão de algumas dinâmicas de ingestão de microplásticos por bivalves, a presente dissertação traz dados que enfatizam o potencial de *A. trapesialis* como bioindicador de MPs, mas também dados inéditos que demonstram sua capacidade de alterar e fragmentar fibras de poliéster. Esses resultados, além de compor a ainda incipiente literatura sobre o assunto, trazem algumas respostas e levantam mais questionamentos que podem fomentar estudos futuros com espécies de água doce, especialmente bivalves.

2 ARTIGO I

Uso de *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) como bioindicador de microplásticos em água doce: uma abordagem não letal baseada na análise de egestas

Maria F. Rosa da Silva, Elisabete Tsukada, Eliane P. de Arruda, Walter R. Waldman

RESUMO

A contaminação por microplásticos (MPs) em ambientes de água doce é um problema crescente, resultante da má gestão de resíduos, do escoamento urbano e de efluentes domésticos e industriais. Em países como o Brasil, onde a disponibilidade hídrica é fundamental para a sustentabilidade ambiental, social e econômica, o monitoramento contínuo desses contaminantes torna-se particularmente relevante. Os bivalves são amplamente utilizados em estudos com contaminantes emergentes devido a sua alimentação por filtração e à suscetibilidade à ingestão de micropartículas. Neste estudo, avaliou-se o bivalve *Anodontites trapesialis* como bioindicador de MPs por meio de uma abordagem não invasiva baseada na análise de egestas (fezes e pseudofezes). Os 20 indivíduos foram coletados no Rio Pirajibu-mirim (Sorocaba, SP) durante duas estações, chuvosa e seca e foram submetidos à depuração em laboratório. A depuração completa ocorreu em 15 dias, com pico de eliminação nas primeiras 72 horas. Fibras e fragmentos foram os tipos de MPs predominantes encontrados, o tamanho médio das partículas foi inferior a 2,5 mm, o que sugere possível seleção de tamanho pelo indivíduo. A depuração da estação seca apresentou maior quantidade de fibras nas egestas e a depuração da estação chuvosa apresentou mais sedimentos, dificultando a análise visual nos primeiros dias. Conclui-se que *A. trapesialis* é um bioindicador eficiente para MPs em água doce, eliminando nas egestas o material proveniente do ambiente em no mínimo 15 dias.

Palavras-Chave: Bivalves; Mycetopodidae; Mollusca; Biomonitoramento; Sazonalidade; Depuração

2.1 INTRODUÇÃO

A contaminação por microplásticos (MPs) em ambientes de água doce tem se mostrado um problema crescente (Koutnik *et al.*, 2021), sendo registrados em diversos ecossistemas de água doce ao redor do mundo, com concentrações particularmente elevadas em regiões urbanizadas (Li *et al.*, 2020). As principais fontes de MPs em ambientes dulcícolas incluem o escoamento urbano, descargas industriais e o descarte inadequado de resíduos (Sodré *et al.*, 2023).

Entre os tipos mais comuns de MPs encontrados nesses ambientes destacam-se fibras seguido de fragmentos (Li *et al.*, 2020), cada qual refletindo uma origem distinta: fibras estão amplamente associadas às lavagens de roupas e efluentes têxteis (Sodré *et al.*, 2023), fragmentos resultam da degradação secundária de plásticos maiores (Rossatto *et al.*, 2023), esferas também são encontradas e derivam de cosméticos e produtos de higiene (Rossatto *et al.*, 2023; Sodré *et al.*, 2023). Uma vez no ambiente, esses materiais podem ser ingeridos por organismos aquáticos, induzir efeitos fisiológicos, acumular-se nos tecidos e ser transferidos ao longo da cadeia trófica (Moreschi *et al.*, 2020; Khanjani *et al.*, 2023), representando risco potencial também para seres humanos (Khanjani *et al.*, 2023).

Os sistemas de água doce atuam como rotas de transporte de MPs para os ambientes costeiros e marinhos (Li *et al.*, 2020), reforçando a necessidade de monitoramento contínuo nesses locais. A avaliação sistemática da presença, abundância e características dessas partículas fornece subsídios para identificar fontes de poluição, avaliar a eficiência de políticas de gestão e orientar ações de mitigação (Munien *et al.*, 2024; Sodré *et al.*, 2023). Além disso, fatores ambientais sazonais como variações na precipitação podem influenciar diretamente a distribuição e ingestão de MPs (Wu *et al.*, 2022), destacando a relevância de amostragens em diferentes períodos do ano.

Nesse contexto, bivalves são organismos muito utilizados como bioindicadores em estudos com MPs devido à sua importância econômica, a alimentação por filtração, estilo de vida sedentário, viáveis de manter em laboratórios e capacidade de acumular contaminantes presentes na água e no sedimento ao longo do tempo (Ding *et al.*, 2022; Khanjani *et al.*, 2023). A eficiência de captura, ingestão e retenção de partículas varia entre espécies, influenciada pela arquitetura das brânquias e pelas características do material suspenso (Ward *et al.*, 2019; Ward &

Shumway, 2004).

A espécie *A. trapesialis*, encontrada comumente em rios e lagos brasileiros, é de fácil coleta (Staichak *et al.*, 2021; Hebling, 1976), devido ao hábito sedentário e associado ao bento. (Cândido & Romero, 2007). A circulação de água na cavidade palial é necessária para respiração e alimentação. O fluxo de água entra pela abertura inalante, que realiza uma seleção inicial para alimentação (Figura 01.1), então banha a cavidade palial incluindo as demibrânquias, estruturas ciliadas responsáveis tanto pelas trocas gasosas quanto pela triagem de partículas de alimento (Figura 01.2), a última etapa de seleção pré-ingestão ocorre nos palpos labiais (Figura 01.3) (Hebling, 1976; Ward & Shumway, 2004).

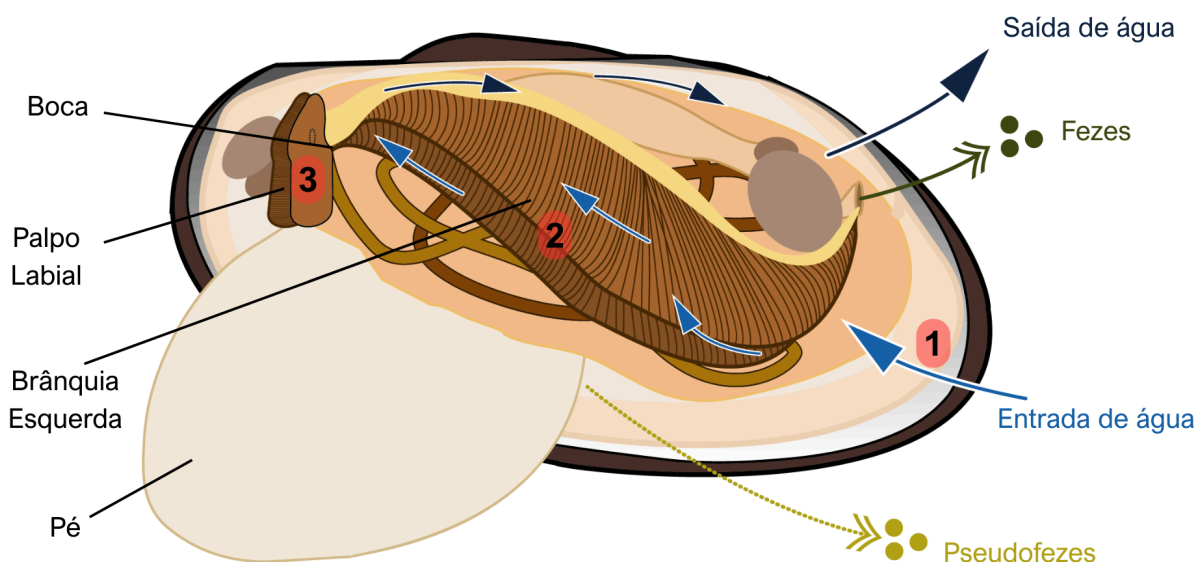


Figura 01: Esquema didático da anatomia interna de *Anodontites trapesialis* em vista lateral esquerda. Destaque para os mecanismos de filtragem e processamento de alimentos. As setas azuis claras indicam o percurso de entrada da água no interior do indivíduo e pretas a saída pela abertura exalante. A seleção das partículas de alimento seguem o trajeto (1) abertura inalante o primeiro processo de seleção; (2) demibrânquias formam pseudofezes englobando rejeitos em muco; (3) palpos labiais última etapa de seleção antes do trato digestivo que também forma pseudofezes. Ilustração autoria de Elisabete Tsukada.

As partículas que não foram rejeitadas são encaminhadas ao trato digestório, enquanto aquelas rejeitadas pelas brânquias e palpo labial são envolvidas em muco e eliminadas como pseudofezes antes de atingirem o sistema digestório (Ward & Shumway, 2004). As pseudofezes

podem ser incorporadas rapidamente ao sedimento de rios e lagos e essa adição pode culminar na alteração de ambientes bentônicos (Moreschi *et al.*, 2020). *Anodontites trapesialis* apresenta alto valor como modelo em ensaios de exposição a microplásticos (Staichak *et al.*, 2021; Moreschi *et al.*, 2020); contudo, até o momento, não foram encontrados estudos avaliando essa contaminação em populações *in situ*.

O presente trabalho tem como objetivo (1) Avaliar o desempenho do bivalve *A. trapesialis* como bioindicador de contaminação por microplásticos, utilizando uma abordagem não letal baseada na análise de fezes e pseudofezes; (2) Estabelecer o período e padrões de depuração da espécie para contaminação microplástica; (3) Quantificar e caracterizar visualmente os microplásticos presentes nas fezes e nas pseudofezes de *A. trapesialis* coletados nas estações de chuvosa e seca. Partindo dos objetivos propostos, foram formuladas as seguintes hipóteses (1) *Anodontites trapesialis* são capazes de eliminar microplásticos provenientes do ambiente que são detectáveis em fezes e pseudofezes, não necessitando realizar técnicas invasivas; (2) A abundância de microplásticos nas fezes e pseudofezes é significativamente maior na estação chuvosa devido ao aumento do aporte por escoamento superficial

2.2 MÉTODOS

2.2.1 COLETA E MANUTENÇÃO DE *A. TRAPESIALIS* EM LABORATÓRIO

Bivalves da espécie *A. trapesialis* foram coletados manualmente (Autorização SisBio, Apêndice A) no Rio Pirajibu-mirim, Latitude 23°29'23.02''S, Longitude 47°23'05.89''O, elevação 590 m, na cidade de Sorocaba, São Paulo, Brasil, onde se encontravam enterrados no sedimento. Seis indivíduos foram coletados durante a estação chuvosa, em novembro de 2024, e quatorze durante a estação seca, em março de 2025 totalizando n= 20 indivíduos.

Os indivíduos foram transportados em galões de água para o Laboratório de Estudos em Macroinvertebrados Bentônicos (LEMB - UFSCar campus Sorocaba) foram pesados, medidos e distribuídos em aquários individuais. Para o controle de possíveis contaminações de MPs no ambiente de trabalho, dois aquários contendo apenas água, nas mesmas condições experimentais dos indivíduos, foram mantidos próximos durante todo o período do experimento. Assim, o experimento foi composto por dois grupos: indivíduos coletados na estação chuvosa (n= 6), indivíduos coletados na estação seca (n = 14), aquários-controle contendo apenas água (n= 2).

Foram utilizados recipientes de vidro com 3 L de água, mantidos sob aeração constante. A água utilizada foi proveniente do sistema de abastecimento da própria universidade e permaneceu armazenada em galões para decoloração prévia. Antes de cada troca de água, foi realizado um teste para detecção de cloro residual (Labcon® Cloro Test), que indicou concentração de 0,0 mg L⁻¹ ao longo de ambos os experimentos.

Os espécimes foram alimentados diariamente, durante os 15 dias de experimento com 1 mL de *Nannochloropsis sp.* da AquaSmart® (~80.000–100.000 células/mL) (Moreschi et al., 2020) e os níveis de amônia, temperatura e pH dos aquários com indivíduos teste e controle foram mensurados diariamente. A amônia foi determinada com o kit Labcon Test® Amônia Tóxica – Água Doce, e o pH e a temperatura foram aferidos com um pHmetro (Kasvi).

2.2.2 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DA DEPURAÇÃO DE FEZES E PSEUDOFEZES

Durante 15 dias de depuração dos indivíduos, as fezes e pseudofezes foram separadas a cada 48h, durante as trocas totais de água utilizando uma peneira com malha de 50 µm (Figura 02, item 01). O material foi separado e identificado em frascos de vidro, submetido à digestão com peróxido de hidrogênio H₂O₂ [35%], em estufa a 50 °C por 48 h (Ding *et al.*, 2022) (Figura 02, item 02). O tempo e o tipo de digestão foram definidos a partir de um experimento piloto (Material suplementar, Anexo A).

O material proveniente da digestão foi filtrado em membranas com poros de 5,0 µm, compostas por mistura de ésteres de celulose (JVLAB), em capela de fluxo laminar (AmbiKontrol – TOPFLOW 1000) em uma sala de ambiente controlado, do Laboratório de Pesquisa em Poluição Plástica (GPPP - Ufscar campus Sorocaba) (Figura 02.3) (Sebastião et al., 2025).

Posteriormente à filtração, as membranas foram analisadas sob estereomicroscópio (LEICA S8 APO) alocado no Laboratório de Macroinvertebrados Bentônicos (LEMB). A análise das membranas foi realizada em forma de varredura por quadrante, considerando partículas a partir de 10 µm. As partículas classificadas visualmente como MPs foram fotografadas e medidas utilizando o software Leica Application Suite (LAS) e classificadas em planilha digital por cor, tamanho e formato (esfera, fibra, fragmento e aglomerado de fibras), utilizando guia de referência para a classificação visual descrito por Markley e colaboradores (2024) (Figura 02.4 e 02.5).

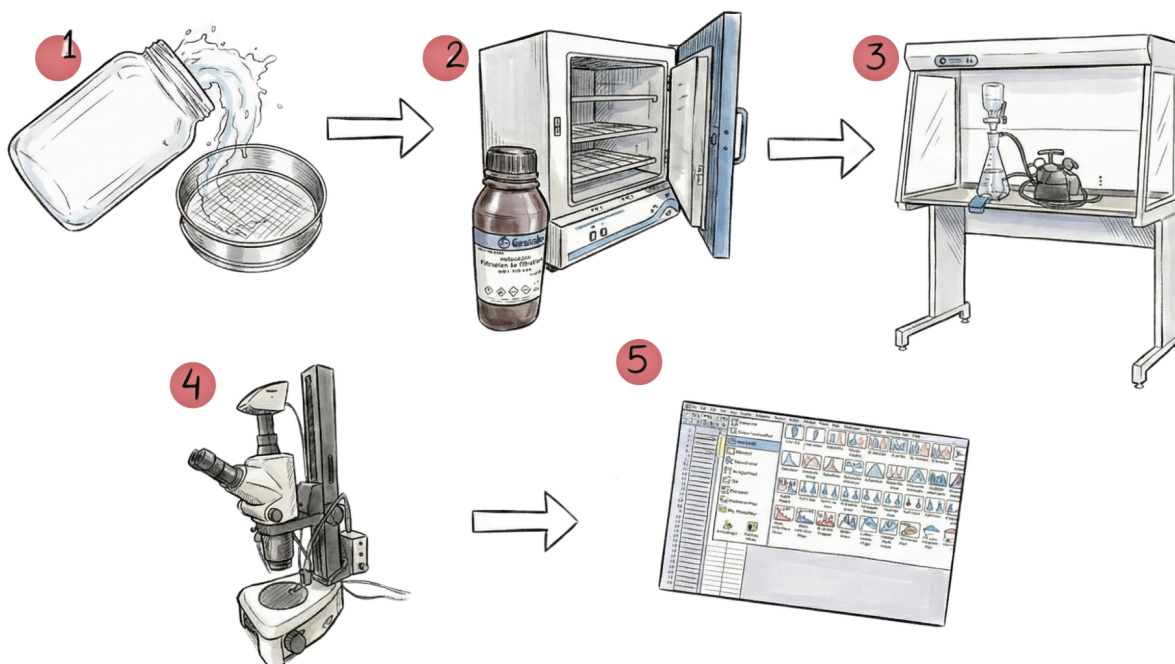


Figura 02: Fluxograma esquemático das etapas do processamento das amostras, gerado por inteligência artificial (*Google Gemini*), a partir de registros fotográficos do procedimento experimental real. As etapas incluem: (1) Coleta das fezes e pseudofezes com uso de peneira; (2) digestão das amostras H_2O_2 [35%] em estufa a $50\text{ }^\circ\text{C}$; (3) filtração em capela de fluxo laminar; (4) análise de membranas em estereomicroscópio; (5) processamento e análise de dados.

2.2.3 CONTAMINAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE

Como controle de contaminação, foram utilizados aquários contendo apenas água, conforme descrito anteriormente. Os controles também foram peneirados para recuperação da contaminação e posteriormente digeridos sob as mesmas condições.

O processamento das amostras foi realizado em capela de fluxo laminar, que permaneceu ligada durante todo o processo de filtração e durante essa etapa utilizou-se jaleco de algodão para evitar contaminação. Além disso, uma membrana umedecida foi colocada dentro da capela para avaliar a deposição de partículas potencialmente plásticas presentes no ar.

Todos os reagentes e a água Milli-Q utilizados para limpeza e higienização das vidrarias, antes e durante o processamento, foram previamente filtrados três vezes em membranas com poros de $0,25\text{ }\mu\text{m}$, de modo a minimizar a contaminação. A contaminação de microplásticos encontrada nos controles foi posteriormente descontada das amostras de egestas, considerando os respectivos dias de exposição, levando-se em conta o formato e a cor do MPs para aplicar as

correções correspondentes a cada indivíduo. O protocolo seguido para mensurar a contaminação por MPs no ambiente de trabalho foi adaptado de Aminah & Ikejima (2023)

2.2.4 TRATAMENTO DOS DADOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram analisados utilizando o software OriginPro 2021. Para a comparação estatística entre os dias de depuração e identificação de padrões na eliminação das partículas, foi aplicado o teste de Shapiro–Wilk para verificar a normalidade dos dados. Como os resultados indicaram rejeição da normalidade para os dados de ambas as estações do ano, utilizou-se o teste de Kruskal–Wallis, seguido do teste *post hoc* de Dunn para identificar as diferenças paritárias entre os grupos.

Para a comparação do total de microplásticos entre as duas coletas (períodos distintos do ano: chuva e seca), os dados foram novamente avaliados quanto à normalidade (Shapiro–Wilk). Considerando a distribuição normal e os tamanhos amostrais desiguais entre os grupos, utilizou-se o teste *t* para amostras independentes com correção de Welch. Todos os gráficos e análises estatísticas foram realizados adotando-se nível de significância de ($p < 0,05$).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 PARÂMETROS EXPERIMENTAIS DE MANUTENÇÃO E CUIDADOS

Durante o experimento, a concentração total de amônia variou entre 0,028 e 0,298 mg/L, (figura 03) atingindo o valor mínimo nos dois últimos dias, considerados não tóxicos segundo o manual do teste. A temperatura variou entre 20 °C a 23 °C. O pH dos aquários com indivíduos variou entre 8,0 e 8,3, enquanto nos controles apenas com água variou entre 8,2 e 8,5. Os valores de pH e temperatura nesse experimento são considerados ideais para essa espécie manter sua capacidade total de filtração, segundo Loayza-Muro & Elias- Letts, (2007) os níveis de pH e temperatura afetam diretamente no valor da concentração total de amônia.

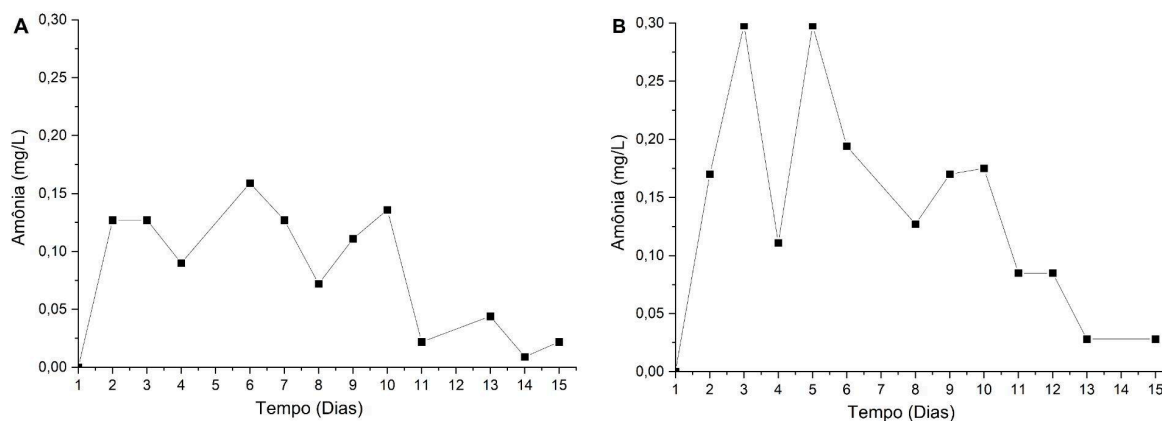


Figura 03: Variação de amônia (mg/L) total nos aquários individuais em função do tempo (1 a 15 dias). Em (A) é apresentado os dados da estação chuvosa, e em (B) é apresentado os dados da estação de seca.

2.3.2 ANÁLISE GERAL DA DEPURAÇÃO DAS PARTÍCULAS NA EGESTA

Durante o período de depuração de 15 dias em laboratório, houve um pico de eliminação de partículas e sedimentos nas primeiras 72 h em amostras coletadas nas duas estações do ano. Esse pico de eliminação corrobora com outro estudo com MPs em *A. trapesialis* (Moreschi *et al.*, 2020) e outras espécies de bivalves como *Magallana gigas* (Graham *et al.*, 2019) e *Mytillus edulis* (Zhao *et al.*, 2018). A rápida eliminação de MPs pode estar relacionada à capacidade dos bivalves de selecionar os alimentos por tamanho e densidade e descartar os rejeitos como pseudofeces sem que essas partículas tenham contato com o sistema digestório completo (Ward *et al.*, 2004).

Ao longo do experimento, observou-se uma redução gradual do material nas membranas, até o décimo quinto dia, incluindo sedimentos, potenciais MPs e ácaros (Material Suplementar, Anexo A). As amostras referentes à estação chuvosa exibiram maior quantidade de sedimentos no primeiro dia de processamento do material em comparação às da estação seca (Figura 04), o que comprometeu significativamente a visualização e a análise das membranas. A fim de reduzir a dificuldade decorrente do excesso de sedimentos, sugere-se adicionar uma etapa de separação por densidade posterior à digestão para que os MPs sejam melhor visualizados, como realizado por Zhao *et al.* (2018) com *M. edulis*.

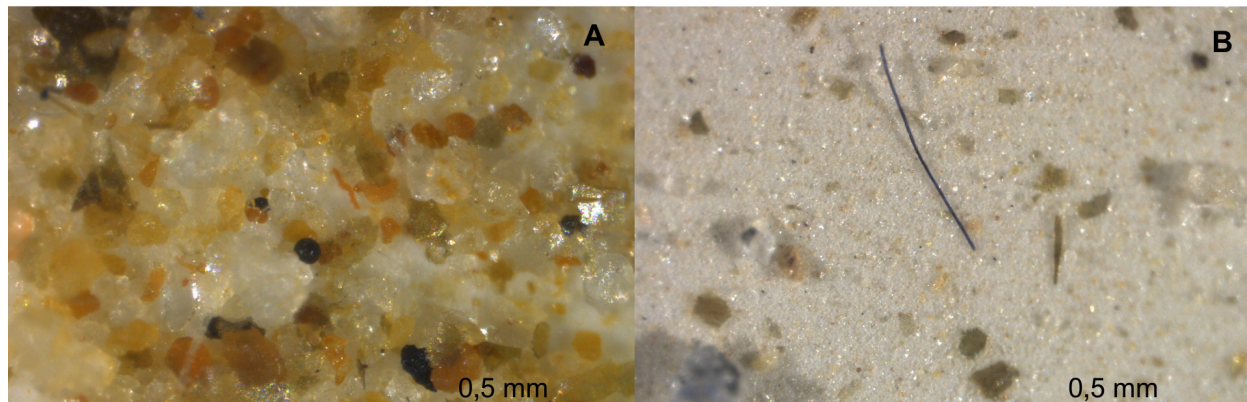


Figura 04: Aspecto visual das membranas, contendo microplásticos e demais partículas como sedimentos, nos primeiros dias de experimento sob estereomicroscópio em escala 0,5 mm. A imagem (A) ilustra a membrana inicial da estação chuvosa; (B) representa uma das primeiras membranas analisadas da estação de seca.

Quanto às partículas identificadas como MPs, um total de 115 partículas foram encontradas durante a estação chuvosa: 56 fibras, 47 fragmentos, 8 esferas e 4 aglomerados de fibras. Na estação seca um total de 347 partículas foram encontradas: 214 fibras, 124 fragmentos, 5 esferas e 4 aglomerados de fibras. Em ambas as estações, as fibras foram encontradas em todos os dias de medida, seguidas pelos fragmentos, observados em mais de 90% dos dias. Estes resultados corroboram com dados publicados que apontam as fibras como o principal tipo de microplástico encontrado em ambientes de água doce, seguido de fragmentos (Li et al., 2020). Na Figura 05, Material suplementar A, esses dados são apresentados como média do número de microplásticos por indivíduo, padronizada pelo número amostral de cada estação e o desvio padrão.

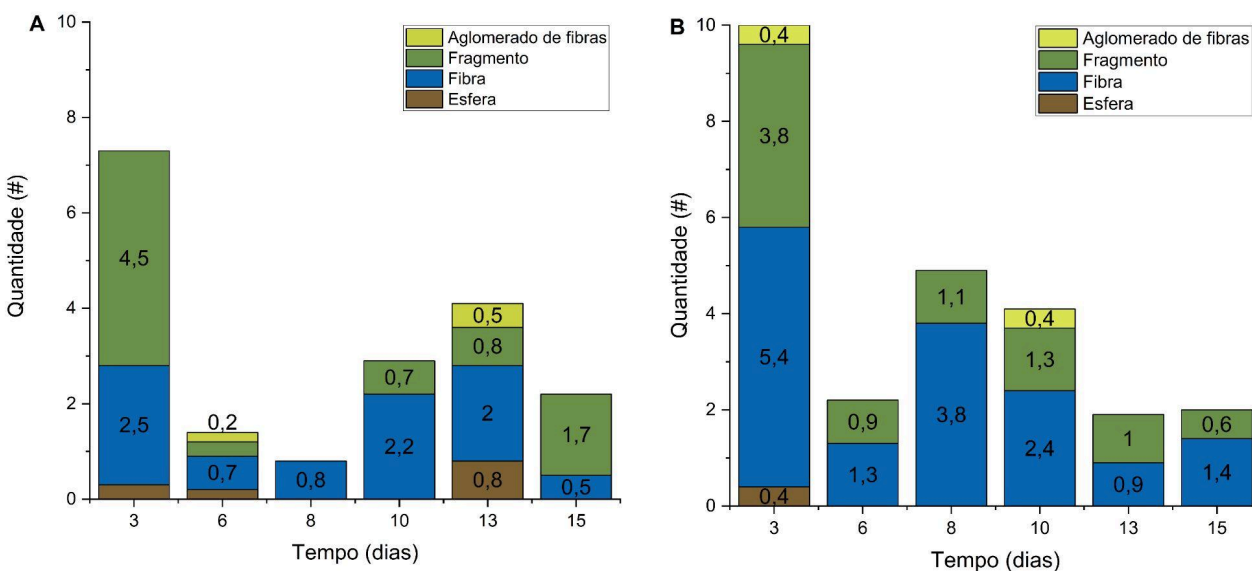


Figura 05: Distribuição da quantidade (#) de microplásticos (eixo Y) e das morfologias identificadas (esferas, fibras, fragmentos e aglomerados de fibras) em função do tempo de 3 a 15 dias (eixo x), padronizada pelo número de indivíduos de cada estação representada pela média os desvios padrões encontram-se no material suplementar. Representa os dados da estação chuvosa n=06; (B) representa os dados da estação de seca n=14.

Ao comparar o total de microplásticos (MPs) entre as estações, não foi observada diferença estatisticamente significativa, porém diferentes formatos de MPs possuem diferentes dinâmicas de transporte, portanto a verificação da ocorrência em função do formato pode revelar diferenças estatisticamente significativas e ambientalmente relevantes.

A análise por tipo de microplástico foi observada maior quantidade de fibras por indivíduo na estação seca em relação à chuvosa, com diferença significativa (teste *t* de Welch, $p = 0,010$) (Figura 06). Esse padrão pode estar associado à hidrodinâmica do lago, um ambiente predominantemente lântico, no qual a menor energia hidrodinâmica durante o período seco favorece a deposição de microplásticos, especialmente fibras (Tsukada et al., 2021; Wilson et al., 2021). Como *A. trapesialis* habita o sedimento, e possui hábito filtrador (Cândido & Romero, 2007) a redução do fluxo de água pode aumentar a biodisponibilidade dessas partículas aos indivíduos, aumentando conseqüentemente sua ingestão.

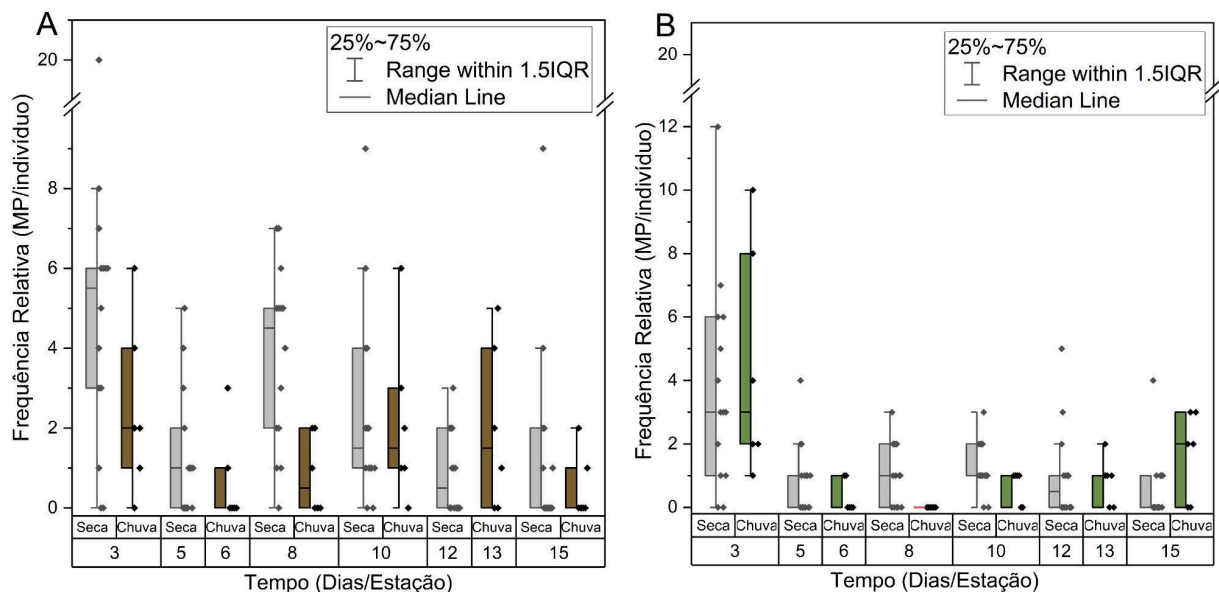


Figura 06: Distribuição da frequência relativa de microplásticos (MP) por indivíduo (eixo Y) em diferentes dias da depuração durante as temporadas chuvosa e seca (eixo X). (A) Frequência relativa de fibras, apresentando escala expandida com quebra de eixo para destacar valores extremos. (B) Frequência relativa de fragmentos.

De forma complementar aos resultados quantitativos obtidos relativo aos tipos de MPs, as Figuras 07 e 08 ilustram alguns dos microplásticos identificados nas amostras, organizados de acordo com a tipologia observada (esferas, fibras, fragmentos e aglomerados de fibras). As imagens exemplificam a diversidade morfológica das partículas detectadas nas membranas, para ambas as estações.

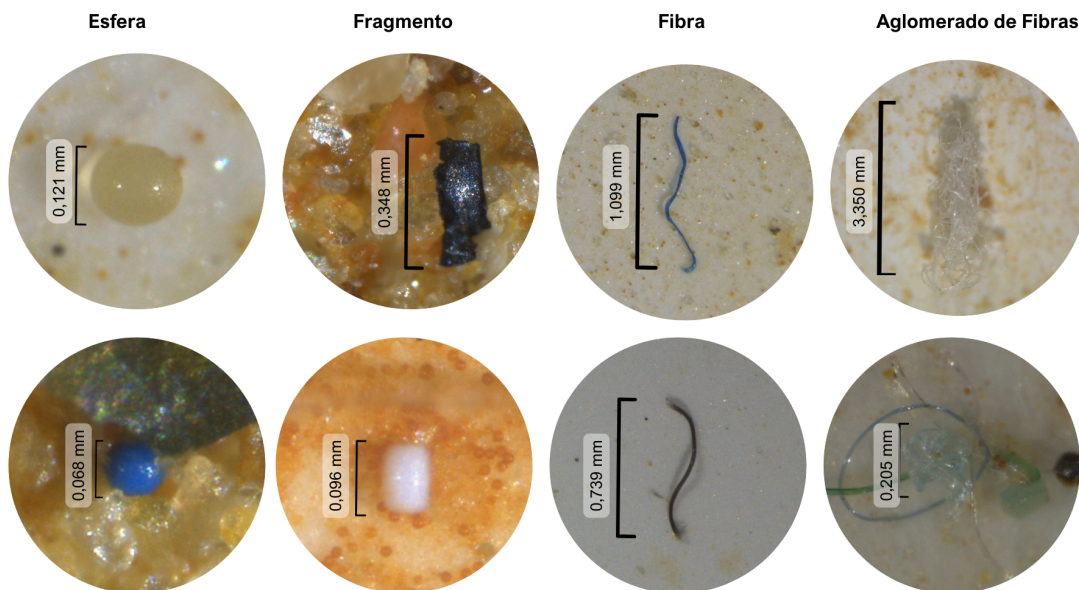


Figura 07: Imagens dos tipos de microplásticos observados nas membranas durante a estação seca, acompanhados de suas respectivas dimensões, medidos e fotografados sob estereomicroscópio. As fotografias estão fora da escala real padronizada, a fim de facilitar a visualização das partículas.

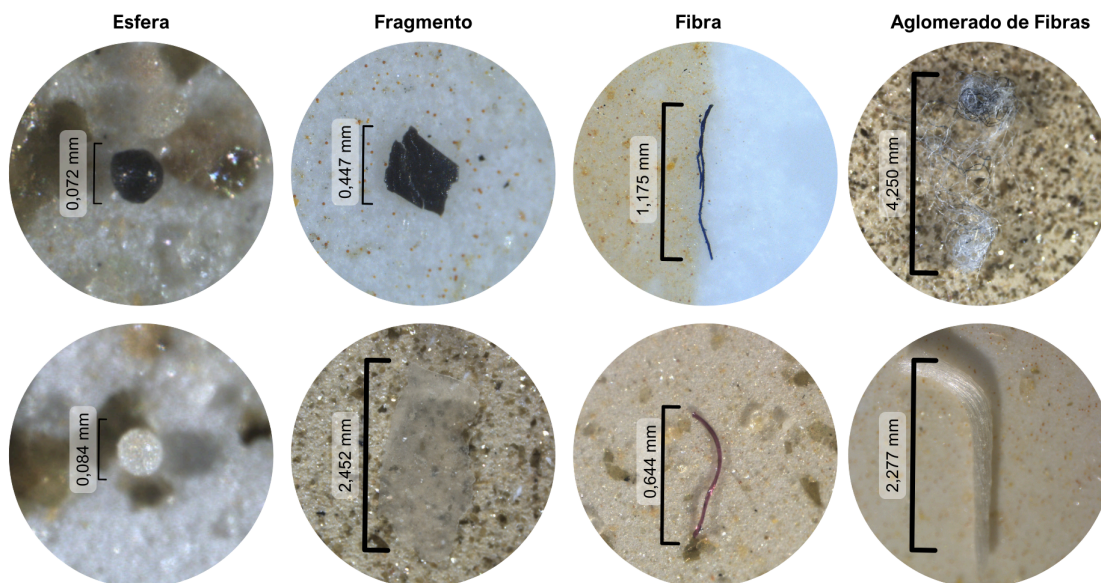


Figura 08: Imagnes dos tipos de microplásticos observados nas membranas durante a estação chuvosa, acompanhados de suas respectivas dimensões, medidos e fotografados sob estereomicroscópio. As fotografias estão fora da escala real padronizada, a fim de facilitar a visualização das partículas.

2.3.3 TAMANHOS DOS MICROPLÁSTICOS ENCONTRADOS NA EGESTA

Com o objetivo de avaliar os padrões de eliminação das partículas durante o período de depuração, foi investigado se o tamanho dos microplásticos influencia o tempo de eliminação, assumindo que dependendo do tamanho do MP, ele poderia permanecer por mais tempo no trato digestório. Para isso, foram aplicados testes estatísticos. A variação do tamanho dos MPs ao longo do período de depuração (3 a 15 dias) apresentou diferenças estatísticas entre os dias de amostragem, conforme indicado pelo teste de Kruskal–Wallis, *post hoc* de Dunn ($p < 0,05$) considerando todos os formatos de MPs encontrados não foi possível visualizar um padrão temporal contínuo de redução ou aumento de tamanho das partículas em função da depuração ao longo dos dias (Figura 09).

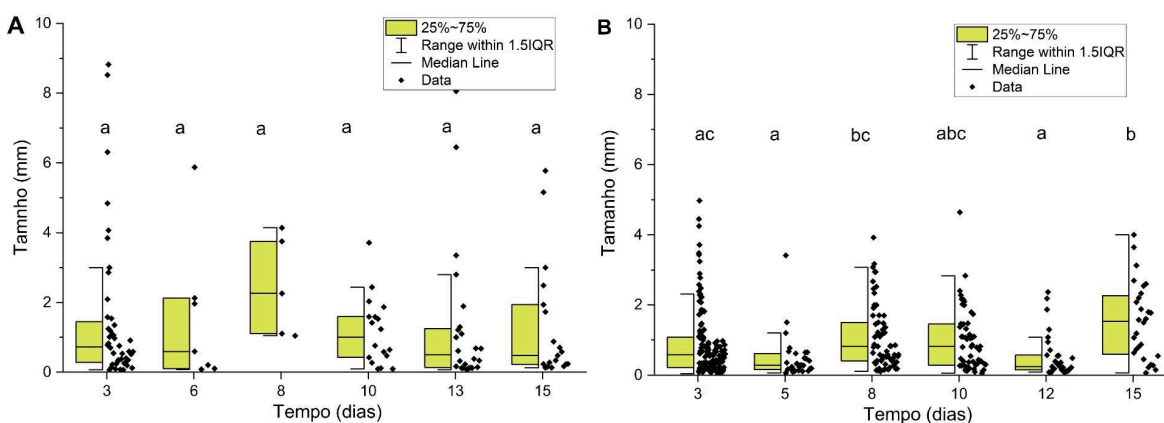


Figura 09: Variação de tamanho em mm (eixo Y) de todos os microplásticos encontrados (esfera, fragmento, fibra e aglomerado de fibras) em função do tempo de 3 a 15 dias (eixo X). (A) dados da estação chuvosa; (B) os dados da estação de seca. As letras a,b,c sobre as caixas do boxplot indicam diferenças estatisticamente significativas entre os dias de amostragem, de acordo com o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo post-hoc de Dunn ($p < 0,05$).

De modo geral, as partículas eliminadas durante os 15 dias de depuração apresentaram tamanhos médios inferiores a 2,5 mm para ambas as estações. Essa faixa pode indicar um processo de seleção de partículas por tamanho pelos indivíduos, uma vez que os bivalves possuem estruturas como as brânquias e palpos labiais capazes de selecionar o alimento por tamanho e densidade (Ward et al., 2019).

Considerando que diferentes tipos de partículas podem apresentar comportamentos distintos, dentro de um organismo, variando em função do seu formato as análises subsequentes foram conduzidas separadamente para os grupos mais frequentes, fibras e fragmentos a fim de

visualizar o padrão temporal na eliminação de microplásticos que apresentam formas distintas (Figura 10).

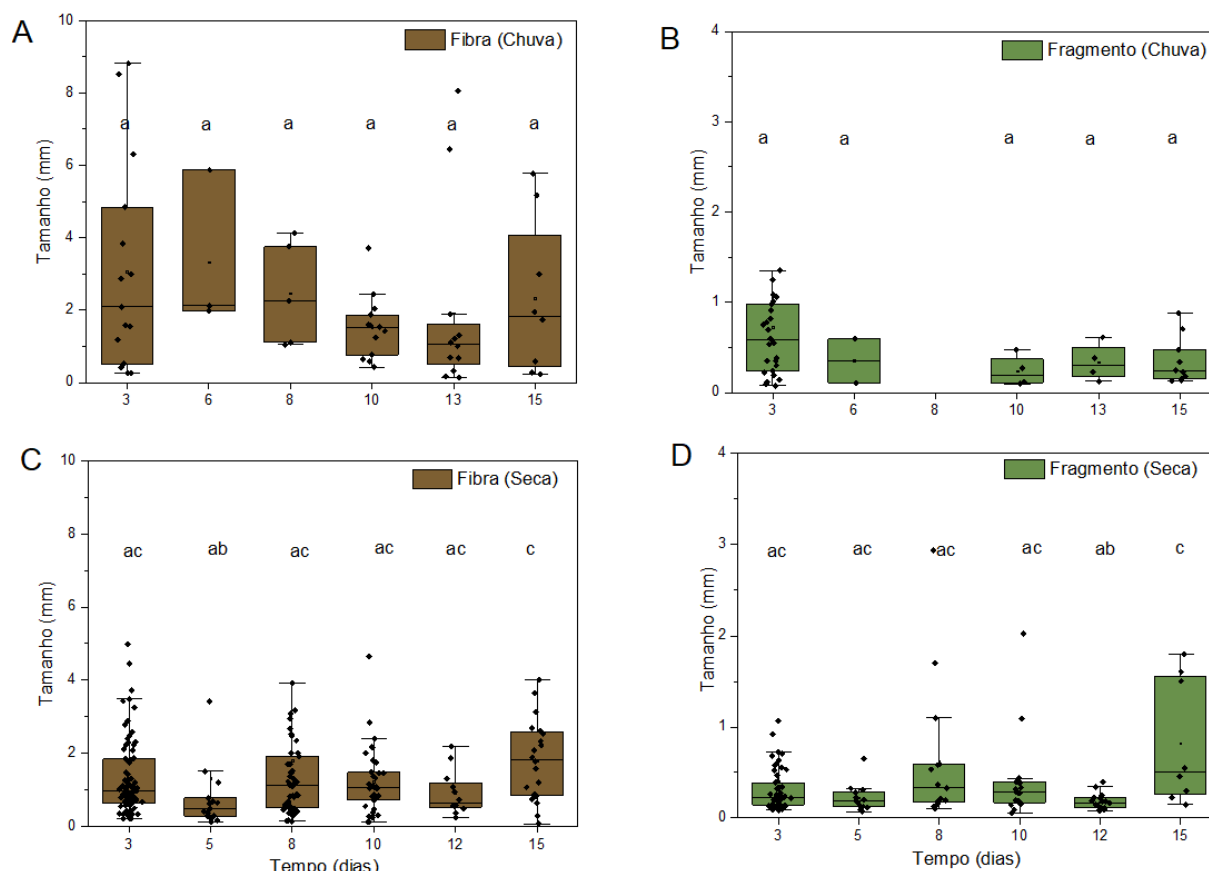


Figura 10: Variação de tamanho em mm (eixo Y) de partículas mais encontradas nas amostras (fragmento e fibra) em função do tempo de 3 a 15 dias (eixo X). (A) apresenta os dados da fibra na estação chuvosa; (B) os dados de fragmentos na estação chuvosa; (C) apresenta dados de fibras na estação de seca; (D) fragmentos na estação de seca. As letras a,b,c sobre as caixas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os dias de amostragem, de acordo com o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo post-hoc de Dunn ($p < 0,05$).

As fibras exibiram maior amplitude e variabilidade de tamanho em comparação aos fragmentos, com diferenças estatisticamente significativas apenas para estação de seca. Em contraste, os fragmentos mantiveram tamanhos relativamente homogêneos ao longo do tempo, e apresentou diferenças estatisticamente significativas apenas no período da seca. Esse padrão sugere que a eliminação de microplásticos por *A. trapesialis* não ocorre em função do tamanho, ou morfologia das partículas.

2.3.4 VARIEDADE DE CORES NOS MICROPLÁSTICOS

A análise visual dos microplásticos permitiu identificar oito cores distintas nas amostras das duas temporadas (Figura 11), refletindo a diversidade de fontes e tipos de polímeros presentes naquele ambiente.

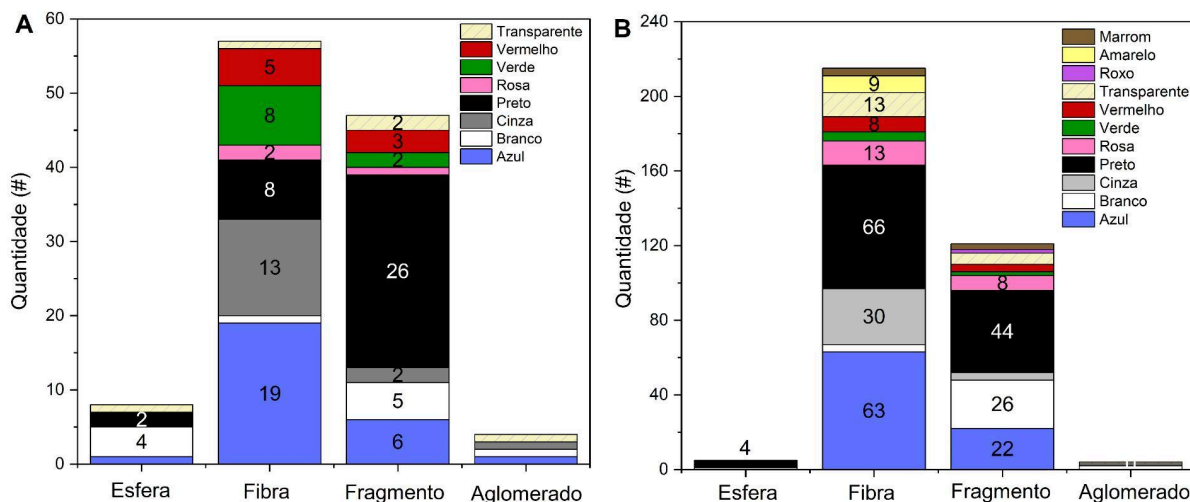


Figura 11: Distribuição de microplásticos das amostras sendo classificados por morfologia e coloração. As colunas (eixo X) representam quantidade de esferas, fibras, fragmentos e aglomerados, encontrados com a estratificação das cores identificadas em cada categoria e o eixo Y a quantidade de MP. (A) Apresenta as cores predominantes na estação chuvosa; (B) demonstra as cores das partículas na de seca. O gráfico apresenta variação de escala devido a diferença de MPs encontrados em cada estação por conta da variação do n amostral.

As cores predominantes observadas nas fibras, preto, cinza e azul em ambas as estações, correspondem a tonalidades comumente associadas a fibras têxteis derivadas de roupas, especialmente tecidos do tipo jeans (Ullah *et al.* 2025). Entre os fragmentos, as cores predominantes foram pretas, azuis e brancas, o que também sugere origem antropogênica relacionada a produtos domésticos e materiais plásticos degradados (Acarer Arat, 2025). As partículas pretas são muito semelhantes à borracha, um tipo de microplástico comumente encontrado em ambientes urbanos (Sodré *et al.*, 2023).

No caso desta espécie de bivalve, os indivíduos não apresentam estruturas visuais capazes de formar imagens (Audino *et al.*, 2015) portanto, é improvável que a seleção das partículas durante a alimentação esteja relacionada à cor. Esse padrão parece estar mais

associado à proximidade de fontes poluidoras e ao uso da terra nos arredores do local de coleta (Jang *et al.*, 2020).

2.3.5 ANÁLISE DE CONTAMINAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE

Com relação à contaminação proveniente do ar e da água durante o experimento, as partículas detectadas nos controles foram analisadas e posteriormente descontadas das amostras experimentais. No total, foram subtraídas 216 partículas da temporada de seca e 57 partículas na temporada chuvosa, considerando-se a cor, o formato das partículas e o dia de exposição. A caracterização da contaminação é apresentada na Figura 12.

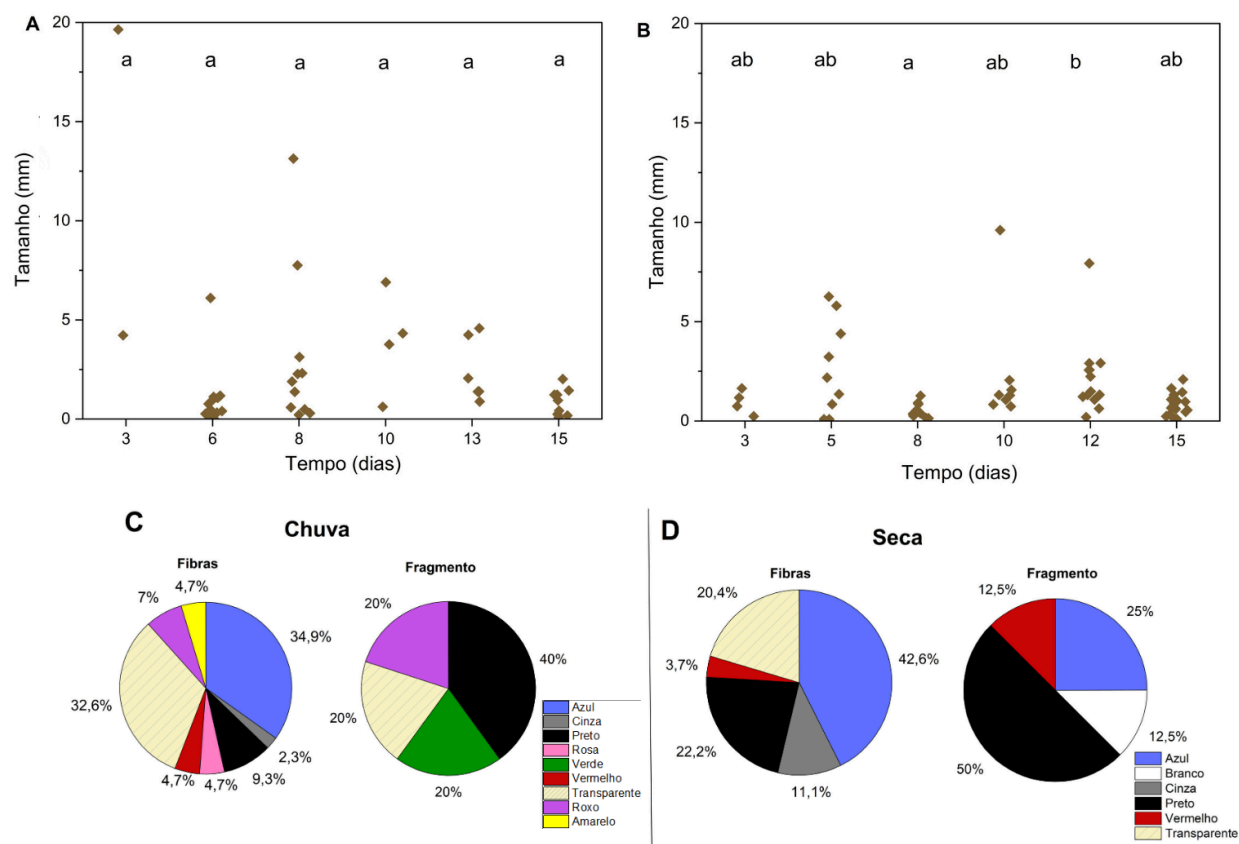


Figura 12: Caracterização dos microplásticos identificados no grupo controle durante as estações. (A-B) Distribuição do tamanho em mm (eixo Y) das partículas ao longo do tempo em dias (eixo X). (A) Dados do controle da estação chuvosa (B) controle da estação de seca. Letras a,b indicam diferença estatística significativa entre os dias (Kruskal-Wallis seguido de Dunn, $p < 0,05$). Os gráficos (C-D) apresentam o percentual de cores para as categorias de fibras e fragmentos nos períodos chuvoso (C) e de Seca (D).

A contaminação por deposição atmosférica foi uma realidade constante em ambos os períodos; ela não decaiu como nas amostras e também foi encontrado apenas duas tipologias (fibras e fragmentos). A contaminação, especialmente de fibras sintéticas é comum e podem se originar de deposição atmosférica e de procedimentos laboratoriais (Dris *et al.*, 2016). A média de tamanho e as principais cores dos MPs encontrados no controle, foi semelhante à registrada nas amostras. Diante disso, a subtração da contaminação dos dados das amostras foi necessária, esse procedimento é amplamente recomendado em estudos com microplásticos para evitar superestimar os resultados (Hermsen *et al.*, 2018).

No entanto, nos controles foi encontrada uma quantidade superior de fibras transparentes do que nas amostras. É possível que essas fibras transparentes representem contaminações provenientes dos jalecos utilizados pelos pesquisadores durante a manipulação das amostras ou, ainda, do sistema de filtração da água utilizada para manutenção dos organismos.

2.4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que *A. trapesialis* pode ser considerada uma espécie bioindicadora. Os indivíduos dessa espécie já vem contaminados do ambiente e capturam uma quantidade considerável de MPs do ambiente nas duas estações de coleta, além disso os indivíduos eliminam essa contaminação através da depuração das egestas o que nos permite a análise da contaminação sem a necessidade de eutanásia dos indivíduos.

A depuração completa do material particulado proveniente do ambiente ocorre em no mínimo 15 dias, eliminando também sedimentos, ácaros e microplásticos. A liberação mais intensa das partículas ocorre nas primeiras 72 h do processo de depuração. Foi possível quantificar e caracterizar os microplásticos visualmente em 4 formatos para ambas as estações. Durante a estação seca, as fibras apresentaram maior disponibilidade para os organismos, sendo a temporada com mais fibras encontradas. Na estação chuvosa a adoção de um método adicional de separação por densidade mostrou-se necessária apenas no primeiro dia de amostragem, essa etapa é recomendada para facilitar a visualização e a quantificação dos microplásticos sob estereomicroscópio, uma vez que permite a separação dos MPs de grande parte do sedimento antes de ser filtrado nas membranas.

Com base nos dados obtidos, não foi possível identificar um padrão de eliminação das partículas em função do tamanho ou formato, indicando a necessidade de investigações

adicionais. Sugere-se, ainda, a realização de estudos comparativos entre a composição dos microplásticos encontrados nas amostras e aqueles presentes no ambiente de coleta, de modo a compreender melhor as fontes e os padrões de contaminação.

REFERÊNCIAS

ACARER ARAT, S. Microplastic pollution in marine ecosystems: sources, impacts, and stakeholder-based solutions. **Turkish Journal of Biology**, v. 49, n. 5, p. 421–440, [s.d.]. 2025

AMINAH, S.; IKEJIMA, K. Potential sources of microplastic contamination in laboratory analysis and a protocol for minimising contamination. **Environmental Monitoring and Assessment**, [s. l.], v. 195, n. 7, p. 841, 2023.

AUDINO, J.; MARIAN, J.; LOPES, S. Síntese do conhecimento sobre a diversidade de sistemas visuais em Mollusca, com ênfase em Bivalvia. **Revista da Biologia**, v. 14, p. 24–32, 30 jul. 2015.

BHOWMIK, A.; SAHA, G. Microplastics in our waters: Insights from a configurative systematic review of water bodies and drinking water sources. **Microplastics**, v. 4, n. 2, p. 24, 7 maio 2025.

CÂNDIDO, L. T. S.; ROMERO, S. M. A contribution to the knowledge of the behaviour of *Anodontites trapesialis* (Bivalvia: Mycetopodidae): the effect of sediment type on burrowing. **Belgian Journal of Zoology**, v. 137, n. 1, p. 11-16, 2007.

DING, J. et al.. Microplastics in global bivalve mollusks: A call for protocol standardization. *J Hazard Mater*. 2022 Sep 15; vol 438:129490. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.129490. Epub 2022.

DRIS, R. et al. Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment? **Marine Pollution Bulletin**, v. 104, n. 1, p. 290–293, 15 mar. 2016.

GRAHAM, P. et al. Microplastics uptake and egestion dynamics in Pacific oysters, *Magallana gigas* (Thunberg, 1793), under controlled conditions. **Environmental Pollution**, v. 252, p. 742–748, set. 2019.

HEBLING, N. J. The functional morphology of *Anodontites trapezeus* (Spix) and *Anodontites*

trapesialis (Lamarck). (Bivalvia: Mycetopodidae). **Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo**, vol. 1, p. 265-298. 1976.

HERMSEN, Enya *et al.* Quality Criteria for the Analysis of Microplastic in Biota Samples: A Critical Review. **Environmental Science & Technology**, [s. l.], v. 52, n. 18, p. 10230-10240, 2018.

JANG, M. *et al.* A close relationship between microplastic contamination and coastal area use pattern. **Water Research**, v. 171, p. 115400, 15 mar. 2020.

KHANJANI, M. H.; SHARIFINIA, M.; MOHAMMADI, A. R. The impact of microplastics on bivalve mollusks: A bibliometric and scientific review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 194, p. 115271, set. 2023.

KOUTNIK, V. S. *et al.* Distribution of microplastics in soil and freshwater environments: Global analysis and framework for transport modeling. **Environmental Pollution**, v. 274, p. 116552, 1 abr. 2021.

LI, C.; BUSQUETS, R.; CAMPOS, L. C. Assessment of microplastics in freshwater systems: A review. **Science of The Total Environment**, v. 707, p. 135578, 10 mar. 2020.

LOAYZA-MURO, R.; ELÍAS-LETTTS, R. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: Effect of pH, temperature and metals on filtration rate. **Environmental Pollution**, v. 149, n. 2, p. 209–215, 1 set. 2007.

MARKLEY, L. A. T. *et al.* Guide for the visual identification & classification of plastic particles. Version 1. Syracuse: Syracuse University, 2024. 37 DOI:10.13140/RG.2.2.27505.45927

MORESCHI, A. C. *et al.* Filtration, assimilation and elimination of microplastics by freshwater bivalves. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, p. 100053, 1 set. 2020.

MUNIEN, S. *et al.* Application and efficacy of management interventions for the control of microplastics in freshwater bodies: A systematic review. **Water**, v. 16, n. 1, 2 jan. 2024.

ROSSATTO, A. et al. Microplastics in aquatic systems: A review of occurrence, monitoring and potential environmental risks. **Environmental Advances**, v. 13, p. 100396, 1 out. 2023.

SEBASTIÃO, G. I. A. *et al.* Forensic determination of adhesive vinyl microplastics in urban soils. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 373, art. 123498, jan. 2025.

SODRÉ, F. F. et al. How natural and anthropogenic factors should drive microplastic behavior and fate: The scenario of Brazilian urban freshwater. **Chemosphere**, v. 340, p. 139813, 1 nov. 2023.

STAICHAK, G. et al. Bivalves with potential for monitoring microplastics in South America. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 4, p. 100119, 1 dez. 2021.

TSUKADA, E. et al. Beach morphodynamics and its relationship with the deposition of plastic particles: A preliminary study in southeastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 172, p. 112809, 1 nov. 2021.

ULLAH, H. et al. Seasonal microplastic pollution in surface water and sediments of the Swat and Kabul Rivers, Pakistan. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 13, n. 3, p. 117048, jun. 2025.

WARD, J. E.; ROSA, M.; SHUMWAY, S. E. Capture, ingestion, and egestion of microplastics by suspension-feeding bivalves: a 40-year history. **Anthropocene Coasts**, v. 2, n. 1, p. 39–49, 1 jan. 2019.

WARD, E.; SHUMWAY, S. E. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, VOLUME 300 Special Issue. v. 300, n. 1, p. 83–130, 31 mar. 2004.

WILSON, D. R. et al. Corrigendum to “The influence of depositional environment on the abundance of microplastic pollution on beaches in the Bristol Channel, UK”. **Marine Pollution Bulletin**, v. 202, p. 116388, 1 maio 2024.

WU, J. et al. Seasonal variation and ecological risk assessment of microplastics ingested by economic fishes in Lake Chaohu, China. **Science of The Total Environment**, v. 833, p. 155181, 10 ago. 2022.

ZHAO, S. et al. Field-Based Evidence for microplastic in marine aggregates and mussels: implications for trophic transfer. **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 19, p. 11038–11048, 2 out. 2018.

3 ARTIGO 2

Da ingestão à transformação: tempo de residência e modificação de fibras têxteis por *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819)

Maria F. Rosa da Silva, Elisabete Tsukada, Eliane P. de Arruda, Walter R. Waldman

A intensificação das atividades urbanas e industriais alinhadas à gestão ineficiente de resíduos favorece a entrada e acúmulo de microplásticos (MPs) em rios e lagos. Entre as tipologias predominantes de MPs em água doce destacam-se as fibras amplamente liberadas durante a lavagem de tecidos sintéticos e facilmente ingeridas por organismos filtradores, como bivalves. Nesse contexto, *Anodontites trapesialis* apresenta grande potencial como bioindicador devido ao hábito sedentário, elevada capacidade de filtração e sensibilidade a contaminantes. Este estudo investigou o tempo de residência, o padrão de eliminação e o potencial de modificação das partículas de fibras prístinas de poliéster de diferentes tamanhos (0,9 mm e 4,0 mm) em *A. trapesialis*. Os organismos foram expostos as fibras de forma aguda por 48h as fezes e pseudofezes foram analisadas para detecção de MPs. Os resultados obtidos demonstram que o bivalve ingeriu majoritariamente fibras com média de 0,9 mm, porém ambos tamanhos permaneceram no organismo por pelo menos 21 dias, com pico de eliminação nos primeiros dias de depuração. Não houve indícios de bioacumulação nas vísceras, contudo, fibras maiores apresentaram torções, aglomerados e fragmentações após a passagem pelo trato digestório, registrando a capacidade que os bivalves possuem de modificação de MPs, provavelmente devido ao estilete cristalino. Assim, *A. trapesialis* pode ser considerado um bioindicador eficiente e potencial agente de fragmentação e modificação de MPs em ecossistemas aquáticos, podendo tornar essas partículas biodisponíveis para outros clados bentônicos.

Palavras-chave: Microplásticos, Poliéster, Fragmentação, Bivalves, Água doce, Monitoramento, Biomonitoramento

3.1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a gestão ineficiente de resíduos e efluentes faz com que corpos d'água urbanos se tornem importantes zonas de entrada e acúmulo de contaminantes como os microplásticos (Sodré *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2020), atuando também como rotas de transporte desses poluentes para ambientes costeiros e marinhos (Sodré *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2020; Koutnik *et al.*, 2021).

Entre os diferentes tipos de microplásticos (MPs) registrados em ambientes aquáticos, as fibras são predominantes (Li *et al.*, 2020; Koutnik *et al.*, 2021). Grande parte delas deriva da lavagem de roupas e outros materiais têxteis sintéticos (Sodré *et al.*, 2023), especialmente de poliéster, um dos polímeros mais detectados em ecossistemas aquáticos (Cai *et al.*, 2020). Durante a lavagem, tecidos de poliéster podem liberar quantidades expressivas de microfibras, variando de centenas a dezenas de milhares por grama de tecido em um ciclo (Cai *et al.*, 2020). Essas partículas podem ser facilmente ingeridas por organismos filtradores, como os bivalves (Staichak *et al.*, 2021).

Devido à alta suscetibilidade dos bivalves a contaminantes, associada ao comportamento filtrador, hábito sedentário e importância econômica, esses organismos são amplamente utilizados como bioindicadores (Khanjani *et al.*, 2024). Entre os bivalves dulcícolas sul-americanos, *Anodontites trapesialis* destaca-se como bioindicador promissor, sendo abundante em rios e lagos no Brasil, e muitas vezes exposto a efluentes industriais e domésticos (Moreschi *et al.*, 2020). A espécie apresenta elevada capacidade de filtração e constatou-se o acúmulo de diferentes tipos de MPs em tecidos moles em exposições prolongadas (Staichak *et al.*, 2021; Moreschi *et al.*, 2020).

Os bivalves mesmo expostos a esse tipo de contaminantes são capazes de selecionar o seu alimento por tamanho e densidade, a qual é complexa e envolve múltiplas etapas (Ward *et al.*, 2004). Durante este processo, as partículas são inicialmente capturadas pela abertura inalante exposta no sedimento e conduzidas à cavidade palial, onde ocorre a primeira triagem nas demibrânquias, com rejeição de parte do material como pseudofezes que são englobadas em um muco e eliminadas como pseudofezes (Brusca & Brusca, 2018). Em seguida, os palpos labiais realizam a pré-ingestão, promovendo nova eliminação de partículas indesejadas também como pseudofezes (Ward & Shumway, 2004). Após passar pelos processos de seleção das demibrânquias e do palpo labial o alimento é direcionado ao trato digestório; no estômago, o

estilete cristalino auxilia na liberação de enzimas, na mistura do conteúdo alimentar e na digestão mecânica, atuando como uma estrutura que gira e pressiona o material ingerido facilitando a digestão (Ward et al., 2004). A morfologia dessas estruturas está ilustrada na Figura 01.

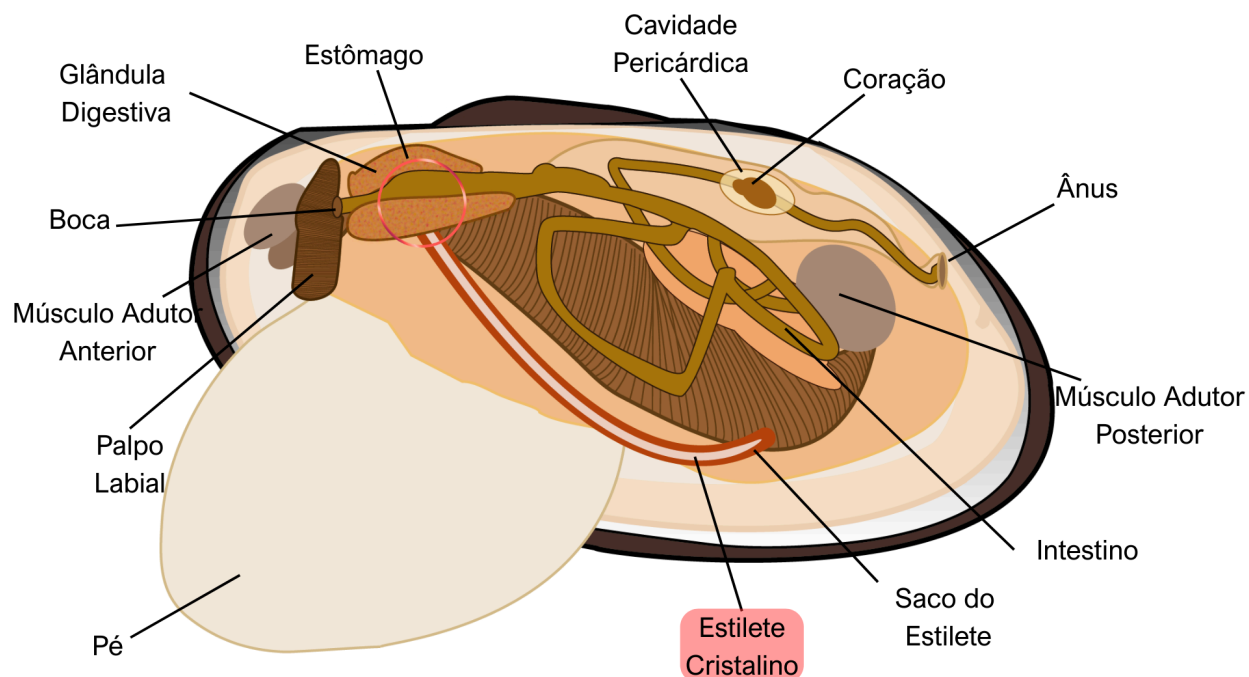


Figura 01: Representação esquemática do sistema digestório de *Anodontites trapesialis* em vista lateral esquerda. O destaque (região circular em vermelho) indica o estômago, local onde ocorre o processamento e a modificação de partículas pela ação mecânica e enzimática do estilete cristalino. O fluxo digestório compreende a boca, o estômago (associado à glândula digestória) e o saco do estilete, seguindo pelo intestino (representação simplificada) terminada no ânus. Ilustração por Elisabete Tsukada.

Embora bivalves possuam estruturas capazes de realizar digestão mecânica e química, ainda não há evidências de que esses mecanismos sejam suficientes para modificar estruturas poliméricas que possam ter sido ingeridas de forma não intencional. Apesar disso, estudos envolvendo outros invertebrados, como larvas de insetos *Zophobas atratus*, apresentaram a capacidade de fragmentação mecânica de diferentes polímeros por esses organismos (Sun et al., 2025; Peng et al. 2022). Outro trabalho, envolvendo anelídeos da espécie *Lumbricus terrestris*, mostrou que a moela, órgão que promove a trituração mecânica do alimento, aumenta a área superficial favorecendo a quebra subsequente de partículas poliméricas (Meng et al., 2023). A

fragmentação de MPs pode ser preocupante, pois aumentam o potencial de translocação biológica das partículas entre tecidos (Meng *et al.*, 2023).

Apesar do avanço das pesquisas sobre MPs, persistem lacunas com relação ao seu comportamento em organismos, especialmente quanto aos processos de assimilação, bioacumulação e eliminação (Khanjani *et al.*, 2024). O tempo de residência nos tecidos e o potencial de translocação para órgãos internos são métricas fundamentais para avaliação de risco (Moreschi *et al.*, 2020).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo (1) Investigar potencial de bioacumulação, o tempo de residência e o padrão de eliminação de fibras de poliéster em *A. trapesialis*, por meio da análise de fezes, pseudofezes e das vísceras (2) Avaliar se o tempo de retenção varia em função do tamanho das fibras ingeridas (3) Investigar se o trato digestório dessa espécie é capaz de modificar fisicamente fibras prístinas, ainda não degradadas. As hipóteses iniciais deste estudo foram (1) A bioacumulação e tempo de residência de fibras de poliéster em *Anodontites trapesialis*, pode variar em função do tamanho da fibra, as fibras menores podem acabar acumulando mais facilmente nas “dobras” do trato digestório; (2) Estruturas presentes no sistema digestório como o estilete cristalino apresentam força o suficiente para fragmentar microplásticos.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 PREPARO DOS MICROPLÁSTICOS

A escolha do tipo de tecido e da cor foi definida a partir de experimentos piloto que avaliaram o comportamento de diferentes fibras na coluna d'água, com o objetivo de verificar sua flutuabilidade e disponibilidade para os organismos. Optou-se pela utilização de tecido Oxford 100% poliéster, na cor rosa neon, por apresentar boa dispersão na água e por ser uma tonalidade pouco comum em contaminações ambientais e laboratoriais quando se refere às fibras (Woods *et al.*, 2018). Para confirmar a composição do tecido foi feito Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR - Agilent Cary 630, modo ATR) o espectro gerado foi comparado na database do app *Open Specy* sendo 0,95 compatível com o espectro de poliéster segundo Primpke *et al.* (2018).

As fibras foram preparadas no laboratório de pesquisa do Grupo de Pesquisa em Poluição Plástica (GPPP - UFSCar campus Sorocaba) para o preparo nos tamanhos estabelecidos, o tecido

foi desfiado com uma escova de aço a fim de liberar os fios entrelaçados. Em seguida, os fios foram medidos com o auxílio de uma régua milimetrada e cortados com tesoura de precisão. Foram inicialmente definidos dois comprimentos de exposição: 0,5 mm e 5,0 mm.

Com o intuito de caracterizar o tamanho real obtido a partir do corte manual, foram analisadas alíquotas de fibras que geraram 320 medidas de tamanho, sob estereomicroscópio. Os valores foram utilizados para a construção de um histograma de distribuição de comprimentos define os dois comprimentos como tendo valores médios de 0,9 mm e 4,0 mm (Figura 02.4).

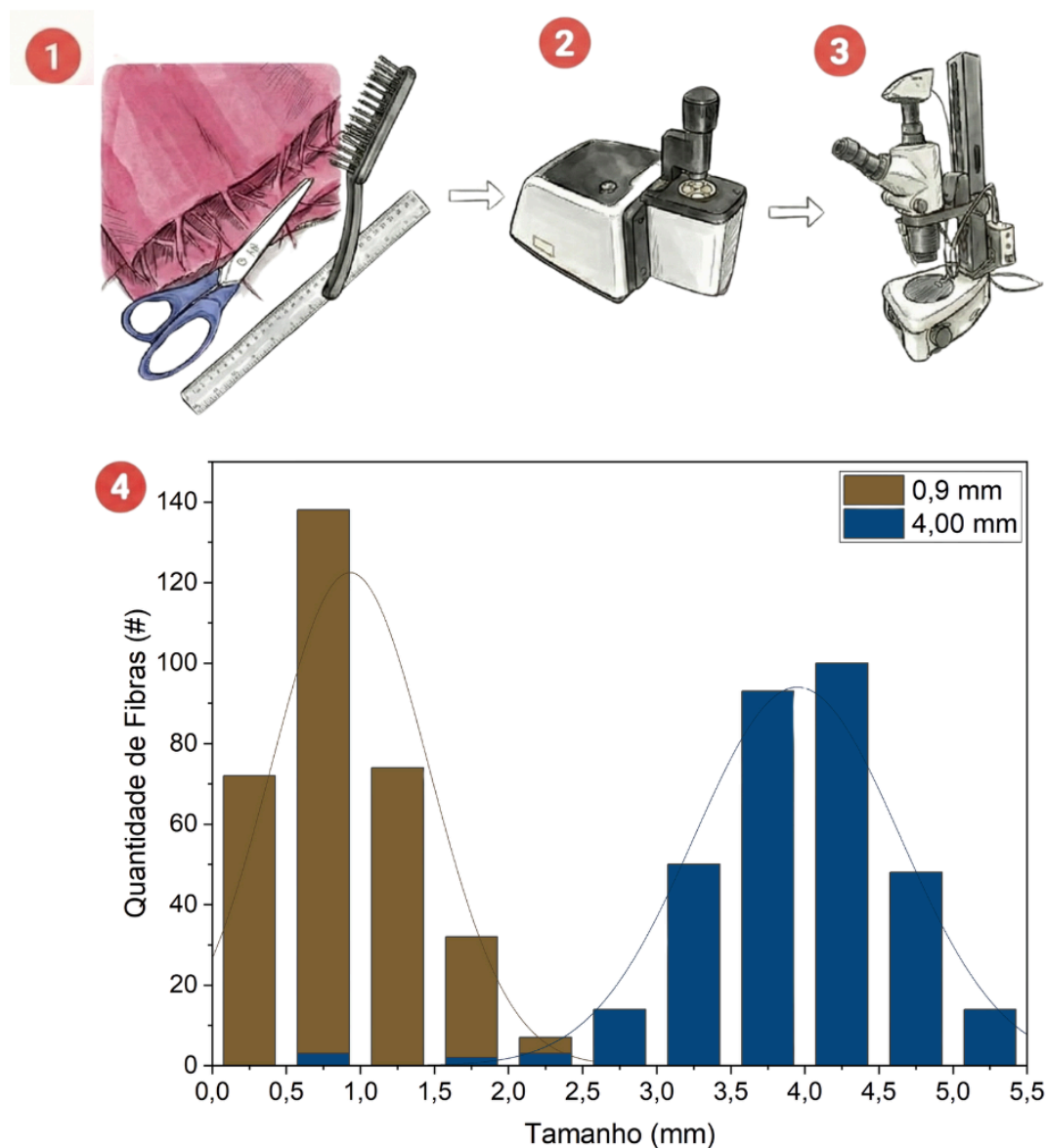


Figura 02: Protocolo de obtenção, caracterização e padronização das fibras de microplástico utilizadas nos ensaios experimentais. (1) Corte de material têxtil no tamanho desejado utilizando a escova de aço, tesoura e régua; (2) Confirmação da composição polimérica via Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier FTIR; (3) Mensuração do tamanho real obtido em esteriomicroscópio. (4) Histograma de distribuição de frequência dos comprimentos (#) obtidos com o corte manual (eixo Y), evidenciando a média de tamanho das fibras para cada experimento 0,9 mm e 4,00 mm (eixo X). As imagens dos itens 1, 2 e 3 foram geradas por inteligência artificial (*Google Gemini*), a partir de fotografias reais do experimento.

3.2.2 OBTENÇÃO E MANUTENÇÃO DOS INDIVÍDUOS EM LABORATÓRIO

Indivíduos da espécie *A. trapesialis* foram coletados manualmente (Autorização SisBio, Apêndice A) no rio Pirajibu-Mirim (23°29'23.02" S; 47°23'05.89" O; elevação de 590 m), localizado no município de Sorocaba, São Paulo, Brasil. Um total de 28 indivíduos foram coletados, quatorze indivíduos foram coletados em novembro de 2024 e quatorze em março de 2025.

Após a coleta, os espécimes foram transportados em galões de água ao Laboratório de Estudos em Macroinvertebrados Bentônicos (LEMB) onde foram medidos e pesados, sendo posteriormente mantidos individualmente em aquários contendo 3 L de água dechlorada, sob aeração constante por meio de compressores de ar (Boyu S-2000A). A água dechlorada utilizada neste experimento foi proveniente do sistema de abastecimento da própria universidade e permaneceu armazenada em galões para dechloração prévia. Antes de cada troca de água, foi realizado um teste para detecção de cloro residual (Labcon® Cloro Test).

Os parâmetros físico-químicos, amônia total, temperatura e pH foram monitorados diariamente no período de aclimação, exposição e depuração. As medições foram realizadas tanto nos aquários experimentais quanto nos controles. A concentração de amônia foi determinada utilizando o kit LabconTest Amônia Tóxica – Água Doce, enquanto o pH e a temperatura foram aferidos com um pHmetro portátil com compensação automática (Kasvi). Os indivíduos foram alimentados diariamente com 1 mL de *Nannochloropsis sp.* (~80.000–100.000 células/mL) da marca AquaSmart (Figura 03).

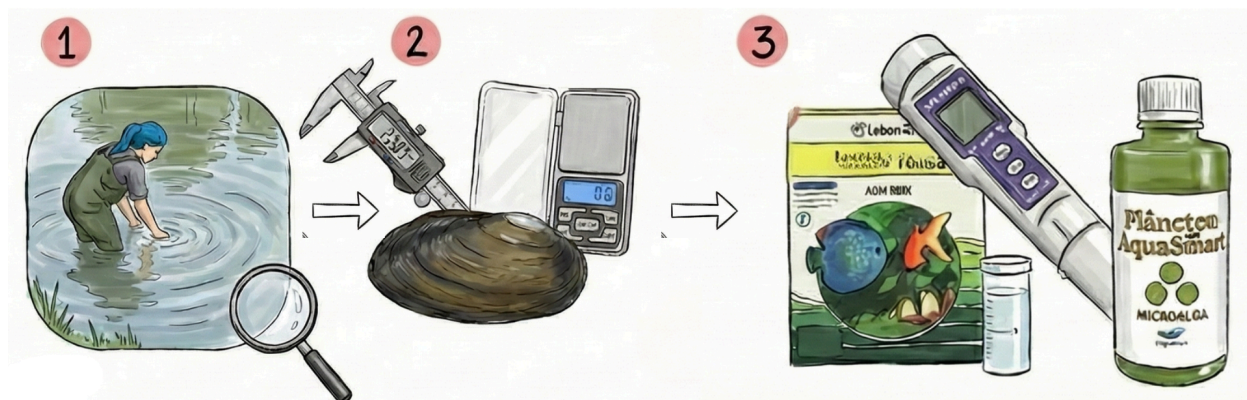


Figura 03: Fluxograma da obtenção, cuidados dos indivíduos antes e durante o ensaio. Imagem gerada por inteligência artificial (*Google Gemini*), a partir de registros fotográficos do procedimento experimental real. As etapas incluem: (1) Coleta manual dos indivíduos; (2) Medição e pesagem dos indivíduos em laboratório; (3) Cuidados (alimentação com microalgas) e medidas diárias (temperatura, pH e amônia) durante todo o experimento.

3.2.3 DESENHO EXPERIMENTAL DO ENSAIO

Os bioensaios ocorreram após o período de aclimação de 15 dias, até que os níveis de amônia na água atingissem valores considerados não tóxicos pelo manual do próprio teste de amônia (LabconTest Amônia Tóxica – Água Doce). Este período também foi essencial para que os animais eliminassem o conteúdo residual do trato digestório proveniente do ambiente natural, facilitando assim a análise visual posterior das membranas.

Então, foram realizados dois ensaios, onde a principal diferença entre eles foi o tamanho das fibras plásticas oferecidas. Foram estabelecidos 4 grupos: sendo 07 expostos a fibras maiores com média de 4,0 mm, 07 expostos a fibras menores com média de 0,9 mm e 07 controles para cada teste (Figura 04). Como controle adicional de contaminação atmosférica e cruzada, foram mantidos dois aquários contendo apenas água, posicionados próximos aos experimentos. Esses controles permitiram o desconto dos valores de contaminação no cálculo final.



Figura 04: Esquema visual evidenciando a separação dos indivíduos em grupos controles e expostos nos dois momentos distintos de experimento para fibras de 4,0 mm e 0,9 mm. Imagem gerada por inteligência artificial (*Google Gemini*), a partir de registros fotográficos do procedimento experimental real.

A exposição foi aguda, com duração de 48 h a uma concentração de 0,0375 g/L de fibras de poliéster (0,9 mm e 4,0 mm). A concentração ofertada é superior ao que foi encontrado em rios no sul do Brasil (330 partículas/L) (Ferraz *et al.*, 2020.) e foi adotada com o objetivo de assegurar a ingestão para avaliação do tempo de residência e a bioacumulação das partículas. O valor foi definido a partir de experimentos piloto, correspondendo à metade da concentração utilizada por (Moreschi *et al.*, 2020). Todos os parâmetros (pH, temperatura e amônia) seguiram sendo monitorados.

Para estimar o número de microplásticos disponíveis por unidade de massa, uma alíquota conhecida de fibras foi pesada e as partículas contadas manualmente sob estereomicroscópio. Esse procedimento foi repetido cinco vezes, e a média e o desvio padrão obtidos foram utilizados para estimar o número de fibras por grama de material oferecido aos indivíduos.

3.2.4 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS NA DEPURAÇÃO PÓS-EXPOSIÇÃO

Após o término do período de exposição, toda a água dos aquários foi filtrada em peneira de malha de 50 μ m, a fim de reter as fibras que não foram ingeridas ou que já haviam sido

eliminadas pelos indivíduos durante as 48 horas de experimento. O material retido foi seco em estufa a 50 °C e, posteriormente, pesado para determinar a diferença entre a quantidade oferecida e a efetivamente ingerida.

Para o acompanhamento da depuração das fibras ofertadas após a exposição foi seguido o protocolo com as etapas de coleta de material; digestão, filtração e análise visual. Para isso, as fezes e pseudofezes foram coletadas a cada 48 horas, durante as trocas de água passando por uma peneira com malha de 50 µm. O material coletado foi separado, acondicionado em frascos de vidro, submetido à digestão com peróxido de hidrogênio (H₂O₂, 35%) em estufa a 50 °C por 48 horas (Ding *et al.*, 2022). O material coletado nos grupos controles também foi submetido à passagem da peneira e digerido sob as mesmas condições experimentais.

Posterior ao processo de digestão o material foi submetido a filtração em membranas com poros de 5,0 µm, compostas por mistura de ésteres de celulose (MCE), em uma capela de fluxo laminar (AmbiKontrol - TOPFLOW 1000) em uma sala de ambiente controlado do laboratório de pesquisa em poluição plástica (GPPP - UFSCar campus Sorocaba) (Sebastião et al., 2025).

Por conseguinte, após as etapas de processamento das amostras as membranas foram analisadas sob estereomicroscópio (LEICA S8 APO), em forma de varredura por quadrante, fotografando e medindo apenas as fibras da coloração oferecida utilizando o software Leica Application Suite (LAS). Adicionalmente foram utilizadas técnicas de microscopia eletrônica por varredura MEV (Thermo Fisher Scientific Inspect F50) para melhor visualização da alteração nas estruturas das fibras; as amostras das fibras foram cobertas com carbono por um dispositivo de pulverização (Leica EM ACE600). Esse procedimento foi realizado nas dependências do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano - Campinas)

3.2.5 ANÁLISE BIOACUMULAÇÃO NAS VÍSCERAS

O período de depuração foi encerrado após a constatação de que alguns indivíduos não apresentavam mais eliminação de fibras rosas; todos foram eutanasiados e dissecados utilizando uma solução [0,1 g/L] de cristais de mentol, os indivíduos foram imersos nessa solução por 2h a 4°C, a fim de reduzir a atividade metabólica (Vieira et al., 2025). As vísceras contendo o sistema digestório foram cuidadosamente separadas e submetidas à digestão em peróxido de hidrogênio H₂O₂ [35%], em volume suficiente para cobrir as amostras, mantidas em estufa a 50 °C por 15 dias, tempo necessário para que os tecidos sejam completamente digeridos. Após o processo de

digestão, o material resultante foi peneirado em malha de 50 μm , a fim de remover resíduos não totalmente digeridos que poderiam obstruir as membranas durante a filtração. O material retido na peneira foi então separado e filtrado para a verificação de possíveis evidências de bioacumulação de MPs nas vísceras.

3.2.6 CONTAMINAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE

Para conter e identificar o controle de contaminação de MPs nas amostras, a capela de fluxo laminar permaneceu ligada durante todo o processo de filtração, evitando a contaminação de material em suspensão. Todos os reagentes utilizados no processo de digestão e a água Milli-Q utilizados para lavagem e higienização das vidrarias, antes e durante o processamento, foram previamente filtrados três vezes em membranas com poros de 0,25 μm , a fim de minimizar a contaminação. Durante o processamento das amostras, utilizou-se jaleco em algodão e, adicionalmente, uma membrana foi deixada aberta e umedecida na capela para avaliar a deposição de partículas presentes no ar. O protocolo seguido para mensurar a contaminação por MPs no ambiente de trabalho foi adaptado de Aminah & Ikejima (2023)

3.2.7 TRATAMENTO DOS DADOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados obtidos foram organizados em planilhas no *Google Sheets* e analisados utilizando o software OriginPro 2021. Para a comparação estatística e identificação de padrões de eliminação dos MP, foi aplicado o teste de Shapiro–Wilk para verificar a normalidade, e ao apresentar rejeição da normalidade, utilizou-se o teste de Kruskal–Wallis, seguido do teste post hoc de Dunn para identificar as diferenças entre os grupos, considerando-se um nível de significância de $p < 0,05$.

As relações entre as variáveis biométricas (tamanho do indivíduo e tamanho das brânquias) e a taxa de ingestão de microplásticos foram avaliadas por meio de análises de correlação. Para o grupo exposto a fibras de 4,0 mm, foi aplicado o coeficiente de correlação de Pearson, após verificação da normalidade dos dados. Para o grupo exposto a fibras de 0,9 mm, utilizou-se o coeficiente de correlação de Spearman, por se tratar de dados que não atenderam aos pressupostos de normalidade. Os coeficientes de correlação foram organizados em matrizes de correlação.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 PARÂMETROS EXPERIMENTAIS

Durante o experimento, a concentração total de amônia apresentou variação, atingindo níveis mais baixos a partir do dia 15, considerados seguros para os indivíduos de acordo com as especificações do fabricante (Figura 05). A temperatura oscilou entre 21 °C e 25 °C, e o pH variou entre 8,0 e 8,5 nos aquários com indivíduos e entre 8,2 e 8,7 nos controles de água. Os valores de pH e temperatura nesse experimento são considerados ideais para essa espécie manter sua capacidade total de filtração (Loayza-Muro & Elias- Letts, 2007).

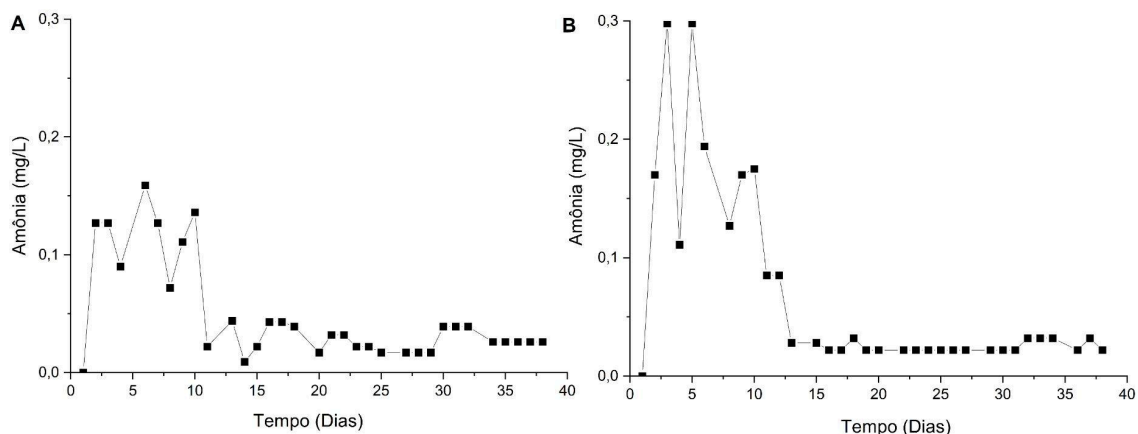


Figura 05: Variação de amônia (mg/L) total nos aquários individuais de *A. trapesialis* em função do tempo (1 a 40 dias). (A) representa os dados da aclimatação (15 dias) e exposição de fibras de 4,00 mm; (B) representa os dados da aclimatação (15 dias) e da exposição a fibras de 0,9 mm.

3.3.2 INGESTÃO E CINÉTICA DA DEPURAÇÃO DAS FIBRAS APÓS O ENSAIO

Após 48 horas de exposição verificou-se que para as fibras de 4,00 mm, aproximadamente $8\% \pm 4\%$ das partículas foram ingeridas. Enquanto na exposição com fibras de 0,9 mm a ingestão média foi de $19\% \pm 6\%$, superior à das fibras maiores. Esse resultado foi obtido subtraindo o peso seco das fibras que sobraram na água do que foi ofertado inicialmente, a partir da diferença foi estimada a média de ingestão. Com esses dados e os de morfologia do animal foram realizadas as análises de correlação da quantidade de MPs ingeridos com o tamanho dos indivíduos e das brânquias, esses resultados indicaram respostas distintas de *A. trapesialis* à exposição a fibras de diferentes tamanhos (Figura 06, Apêndice B).

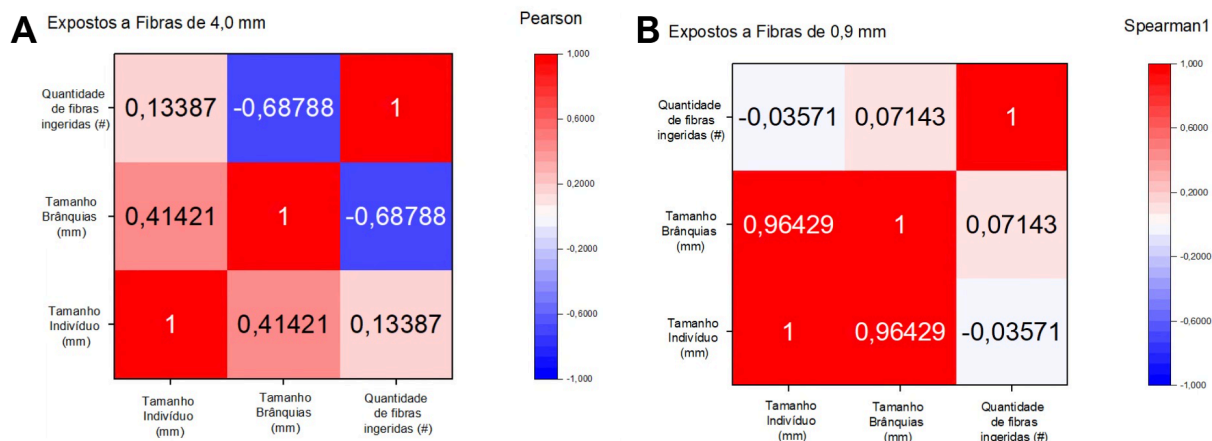


Figura 06: Matrizes de correlação entre variáveis biométricas (tamanho do indivíduo e das brânquias) e a taxa de ingestão de microplásticos em *A. trapesialis*. (A) Grupo exposto a fibras de 4,0 mm, analisado pelo coeficiente de Pearson. (B) Grupo exposto a fibras de 0,9 mm, analisado pelo coeficiente de Spearman. A escala de cores indica a força da correlação, variando de azul (correlação negativa forte mais do valor -1) a vermelho (correlação positiva forte mais próxima do valor 1) coloração branca indica que não existe correlação (mais próxima de 0).

Para fibras maiores (4,0 mm), observou-se correlação negativa moderada a forte entre o tamanho das brânquias e a quantidade de fibras ingeridas ($r = -0,68$), sugerindo maior eficiência de seleção ou rejeição de partículas desse tamanho por indivíduos com brânquia maior. Em contraste, para fibras menores (0,9 mm), a correlação foi praticamente nula ($r = 0,07$), indicando ingestão independente do tamanho das brânquias, o que sugere menor eficiência dos mecanismos de triagem para partículas de pequeno porte. O tamanho dos indivíduos não demonstrou correlação com o total ingerido em nenhum dos casos.

Esses dados sugerem uma preferência dessa espécie por partículas menores que se assemelham ao seu alimento, e uma capacidade de seleção, como isso foi observado apenas em brânquias maiores ela possivelmente apresenta características morfológicas que facilitam essa seleção, podendo ser sua própria extensão ou um número maior de cílios. Segundo Ward et al. (2019) a probabilidade de ingestão varia conforme a espécie e arquitetura branquial, entretanto o estudo relata que em geral a ingestão de partículas maiores é mais baixa, sendo comumente rejeitadas como pseudofeces. Os autores presumem que a faixa de tamanho de partículas que é preferencialmente ingerida pelos bivalves, em geral, varia de 0,6 mm a 0,9 mm.

A depuração das fibras de 4,0 mm encerrou-se no dia 21, quando os indivíduos eliminaram, em média, duas fibras por organismo. Para as fibras de 0,9 mm, observou-se um

padrão semelhante com eliminação média de duas fibras por indivíduo no dia 21. Foi detectado a partir desse dia uma contaminação nos indivíduos controles por fibras rosas (Fonte da contaminação, Anexo B), afetando os valores dos dias 21 em diante, portanto o experimento foi interrompido. A cinética de depuração é apresentada em escala logarítmica (Figura 07).

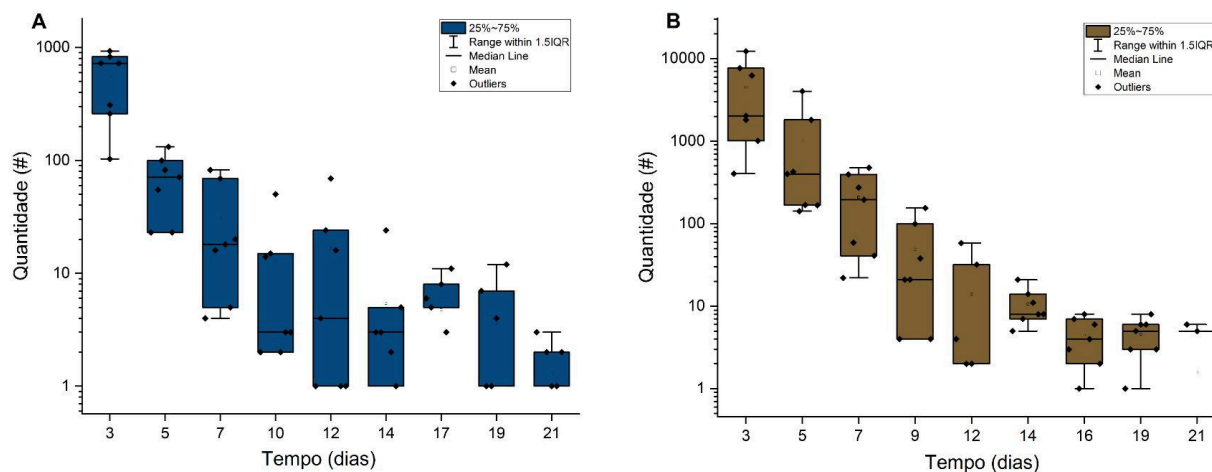


Figura 07: Cinética de depuração de fibras encontradas nas fezes e pseudofezes de *A. trapesialis* (eixo X) em função do tempo de 3 a 21 dias pós-exposição (eixo Y). (A) Grupo exposto a fibras de 4,0 mm; (B) Grupo exposto a fibras de 0,9 mm. Os dados estão representados em escala logarítmica para evidenciar a taxa de redução temporal das partículas. As escalas no eixo Y são distintas entre os gráficos devido à maior magnitude de ingestão observada para as fibras de 0,9 mm.

Estima-se que o tempo de eliminação das fibras, independentemente do tamanho, seja semelhante, com o pico de liberação nos primeiros dias de depuração conforme estudos anteriores (Moreschi et al., 2020 e Moura et al., 2025). Como não é possível distinguir visualmente fezes de pseudofezes, o pico de eliminação observado nos primeiros dias pode estar enviesado pelo fato de que uma parcela das partículas poderia ter vindo das pseudofezes e não chegou a ingressar no trato digestório, tendo sido selecionadas e rejeitadas nas demibrânquias e palpos labiais após a exposição.

3.3.3 MODIFICAÇÃO NAS FIBRAS

Em complemento aos dados de quantidade de fibras eliminadas nos dias de depuração, a análise do tamanho das fibras ao longo dos dias sugere que as partículas maiores que passaram pelo trato digestório podem ter sofrido alterações e fragmentações antes da excreção.

Para investigar os padrões relacionados a essas alterações foi realizada a análise da dinâmica do tamanho das fibras eliminadas ao longo do experimento em comparação ao tamanho que foi ofertado. Pode ser observada na Figura 08, em que o dia 0 representa as medidas das fibras antes da exposição aos indivíduos. O dia 3 não foi incluído na análise gráfica devido à elevada quantidade de fibras, que impossibilitou a mensuração, foi necessário procurar outras alternativas na tentativa de mensurar o tamanho dessas partículas como ressuspender e filtrar novamente, porém só foi possível estimar a quantidade de fibras e não o tamanho através da massa como descrito na metodologia.

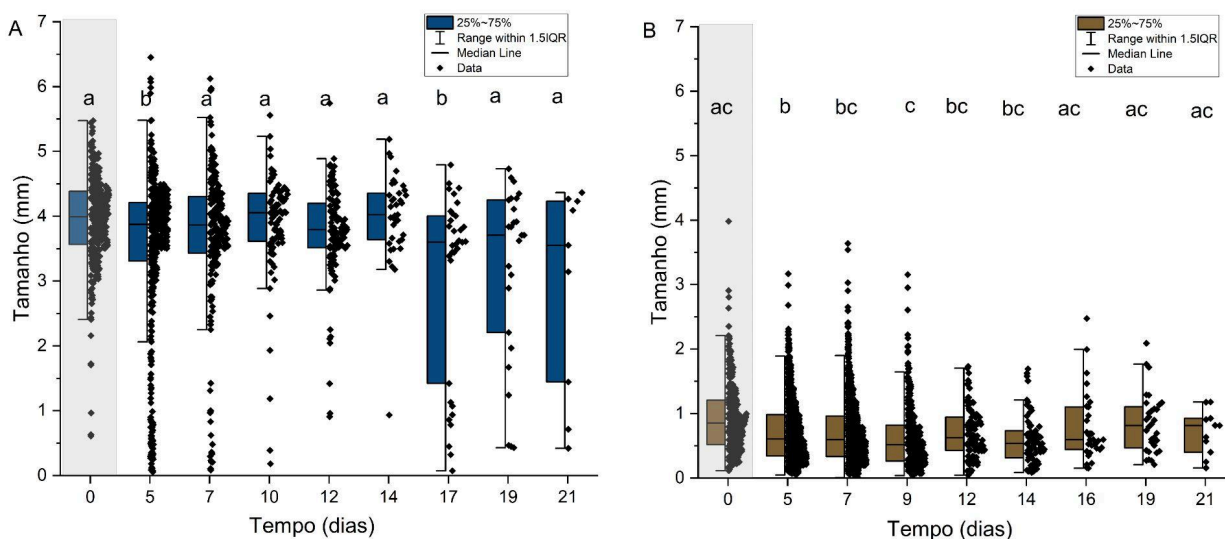


Figura 08: Variação de tamanho em mm (eixo X) das fibras recuperadas nas fezes e pseudofezes de *A. trapesialis* em função do tempo em dias (eixo Y). O dia 0 apresenta o tamanho das fibras antes da exposição e o intervalo dos dias 5 a 21 dias compreende o período de depuração. (A) Exposição a fibras de 4,0 mm; (B) Exposição a fibras de 0,9 mm. As letras minúsculas sobre os boxplots indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos ($p < 0,05$), conforme o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo post-hoc de Dunn.

Para as fibras de 4,0 mm, o teste de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Dunn indicou diferenças significativas em dois dias específicos 5 e 17 em comparação ao material ofertado representado pelo dia 0 ($p < 0,05$). Para as fibras de 0,9 mm também foram detectadas diferenças significativas pontuais, tanto em relação ao material inicial quanto entre os dias de amostragem. No entanto, não foi possível evidenciar um padrão temporal para as fibras menores.

A diferença significativa nos dados das fibras de 4,0 mm pode estar relacionada às alterações encontradas na morfologia das fibras em relação às oferecidas. A fim de uma melhor

visualização desse fenômeno, foi elaborado um histograma de distribuição de tamanhos para cada dia experimental (Figura 09). Nos dias 17, 19 e 21 observa-se uma distribuição bimodal dos tamanhos, possivelmente indicativa de um processo de fragmentação das fibras. Essa hipótese é reforçada por evidências visuais que serão exploradas adiante.

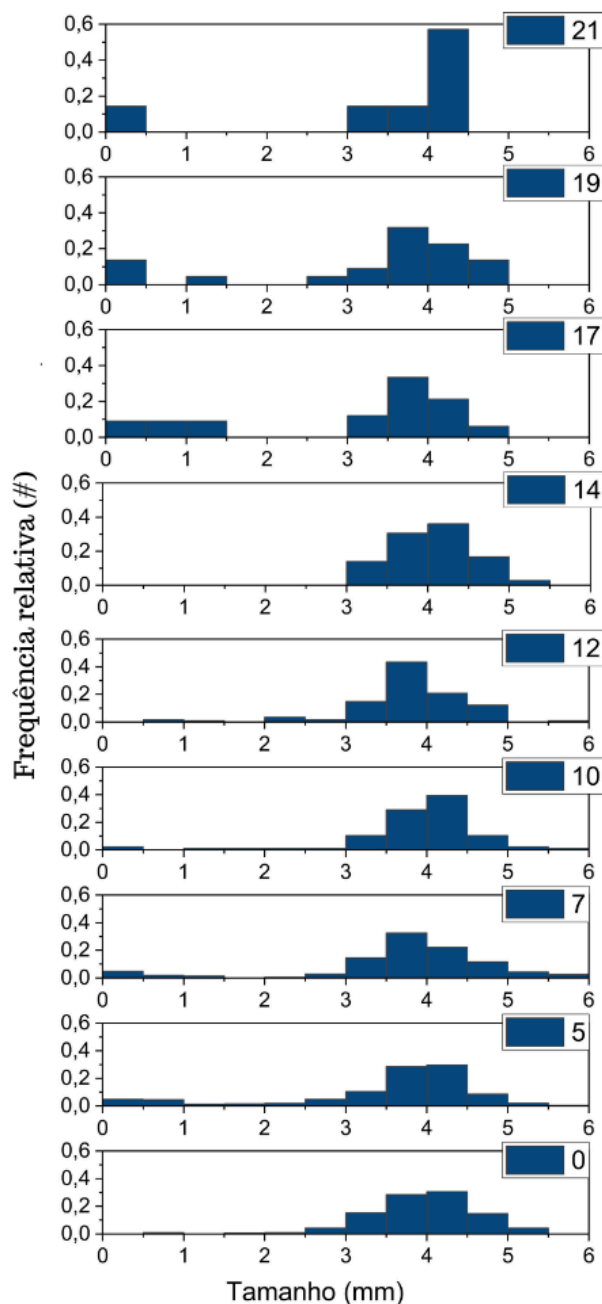


Figura 09: Distribuição de frequência relativa do comprimento das fibras recuperadas em fezes e pseudofezes de *A. trapesialis*. Cada histograma apresenta a variação de tamanhos em um determinado dia, desde antes da oferta (Dia 0) até o final do período de depuração (Dia 5 a 21).

Corroborando com a análise quantitativa, observou-se sob estereomicroscópio que as fibras de 4,00 mm apresentavam variação morfológica diferente da forma inicial que foi oferecido. Permitindo classificá-las em quatro tipologias: normal, aglomerada, retorcida e possivelmente fragmentada (Figura 10). Durante o processo de depuração dessas fibras, foram registrados cinco aglomerados distribuídos a partir do dia 05 e vinte fibras retorcidas, predominantemente no dia 7.

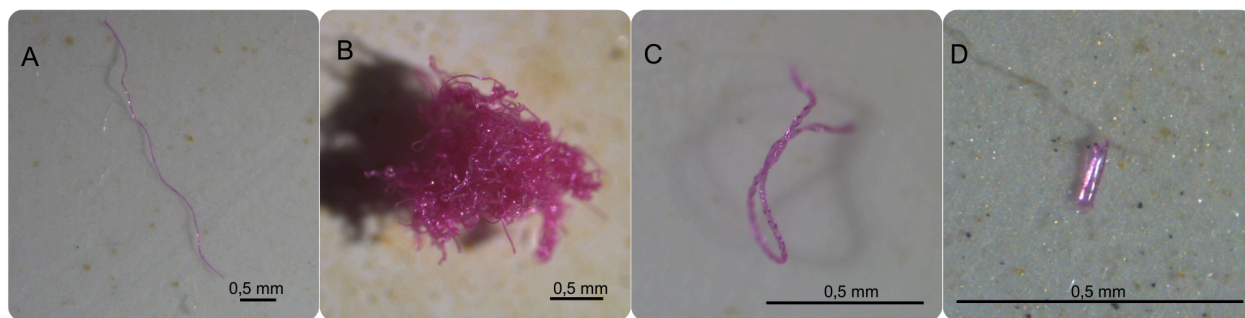


Figura 10: Tipologia das fibras recuperadas nas fezes e pseudofeces de *A. trapesialis* durante a depuração da exposição a fibras de 4,0 mm, imagens realizadas sob estereomicroscópio em escala 0,5 mm. (A) fibras normais, (B) aglomerado de fibras, (C) fibras retorcidas (D) fibras possivelmente fragmentadas.

As imagens obtidas por MEV permitiram visualizar a extensão dos aglomerados de fibras, bem como o elevado grau de torção presente nessas estruturas. Adicionalmente, foram observados sinais de dano mecânico, incluindo extremidades fraturadas em fibras entrelaçadas. Com as imagens foi possível identificar evidências de fragmentação ao longo da extensão das fibras retorcidas (Figura 11C, D), caracterizadas pela presença de rachaduras e descontinuidades estruturais.

Esses padrões sugerem que a formação dos aglomerados ocorre durante a passagem das fibras pelo trato digestório, e forças mecânicas associadas ao movimento e à compactação do material podem promover o superenrolamento das fibras. Esse processo pode resultar em estresse estrutural suficiente para causar rachaduras e, eventualmente, a fragmentação das fibras originalmente intactas, gerando partículas de menor tamanho.

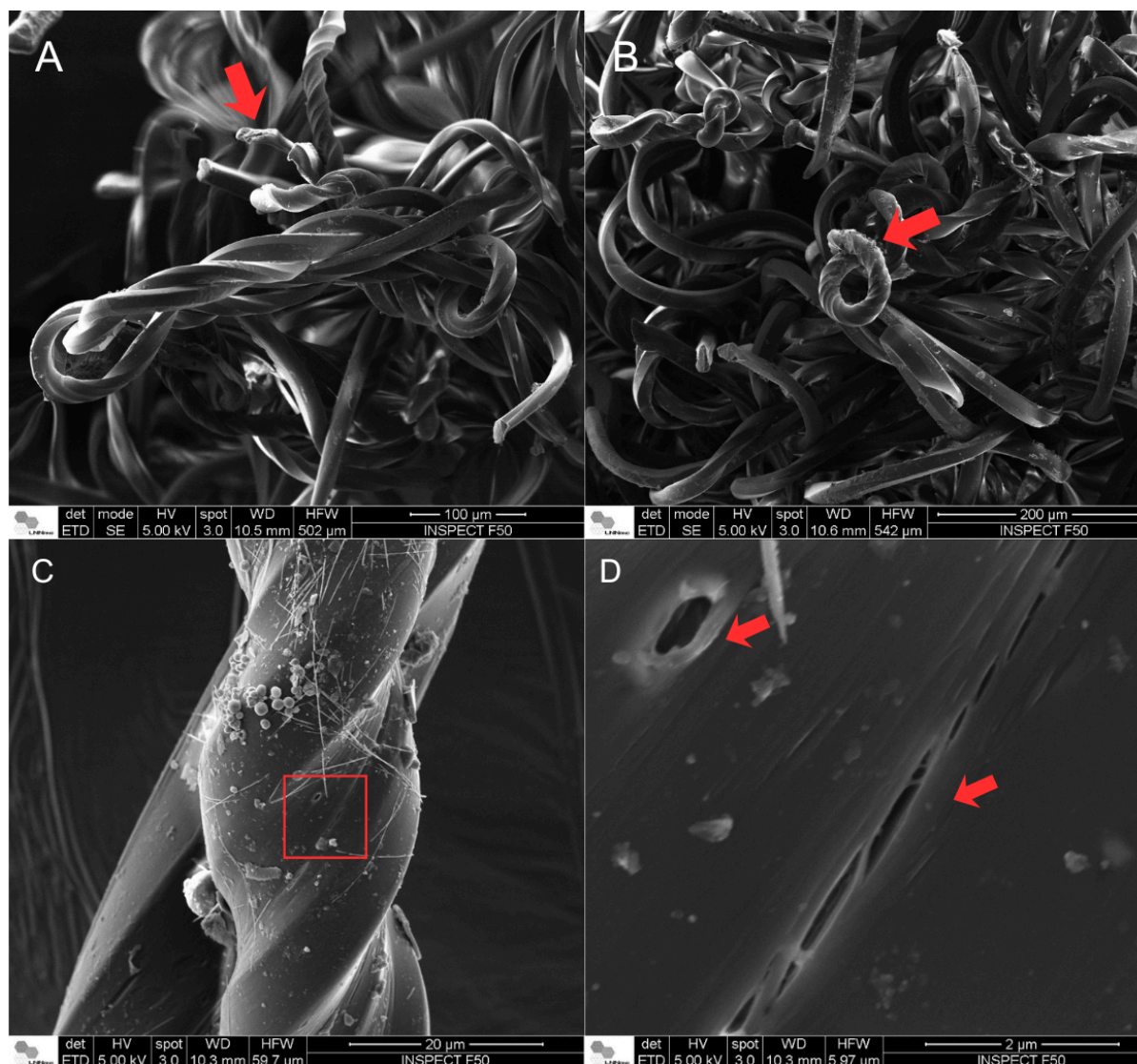


Figura 11: Alterações nas fibras, encontrado durante a depuração das fezes e pseudofezes de *A. trapesialis* expostos a fibras de 4,0 mm. (A-B) Aglomerado de fibras e suas estruturas retorcidas, as setas em vermelho indicam pontos onde as bordas são irregulares sinalizando que naquele ponto pode ter ocorrido uma fragmentação do material. (D) é a magnificação do trecho em destaque no interior do quadrado vermelho (C). As setas em vermelho (D) indicam as rachaduras no material. Fotografia obtida com microscópio de varredura (MEV).

Comparando a extensão e as extremidades das fibras nas egesta estas eram menores do que as ofertadas e as pontas dessas fibras encontradas em menor tamanho exibem bordas irregulares, em contraste com as pontas lisas e regulares das fibras originalmente oferecidas (Figura 12). Evidenciando um processo de modificação mecânica no material como as torções e consequentemente a fragmentação. Esse fenômeno foi observado apenas nas fibras de maior

tamanho; as fibras menores, por sua vez, possivelmente atravessaram o trato digestório de forma mais eficiente.

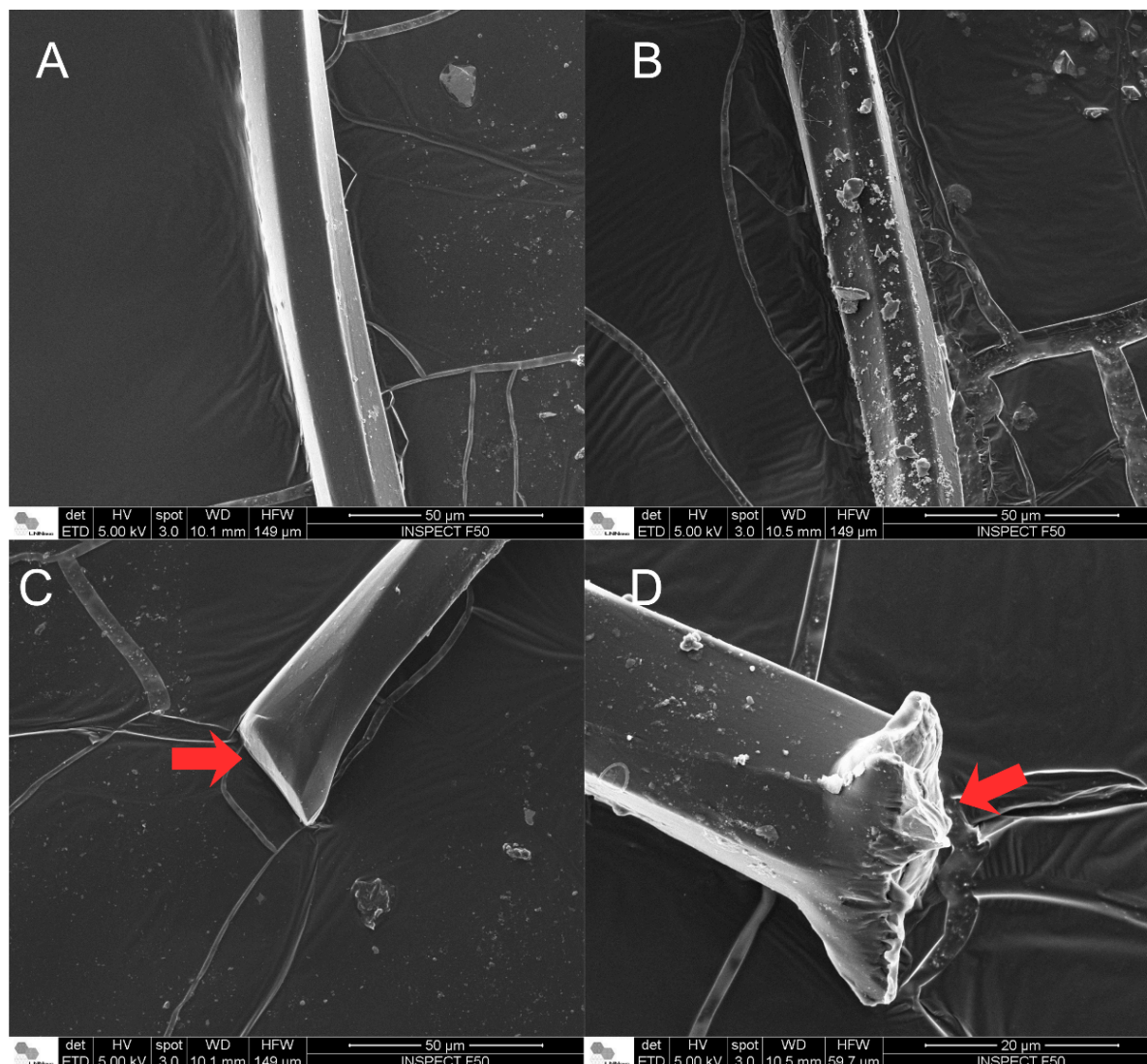


Figura 12: Comparativo das bordas e da extensão das fibras de 4,0 mm antes e pós exposição dos indivíduos. (A) Extensão fibra não ofertada (B) Extensão fibra recuperada de fezes e pseudofeces (C) Borda da fibra não ofertada (D) Borda da fibra recuperada. As setas vermelhas em (D) destacam a irregularidade e o desgaste rugoso da extremidade em comparação à borda íntegra em (C), sugerindo evidências do processo de fragmentação. Fotografia obtida com microscópio de varredura (MEV).

3.3.4 O AGENTE QUE CAUSA AS MODIFICAÇÕES

Durante a eutanásia de um dos indivíduos expostos às fibras de 4,00 mm, foi encontrado um aglomerado de fibras na estrutura denominada estilete cristalino (Figura 13).

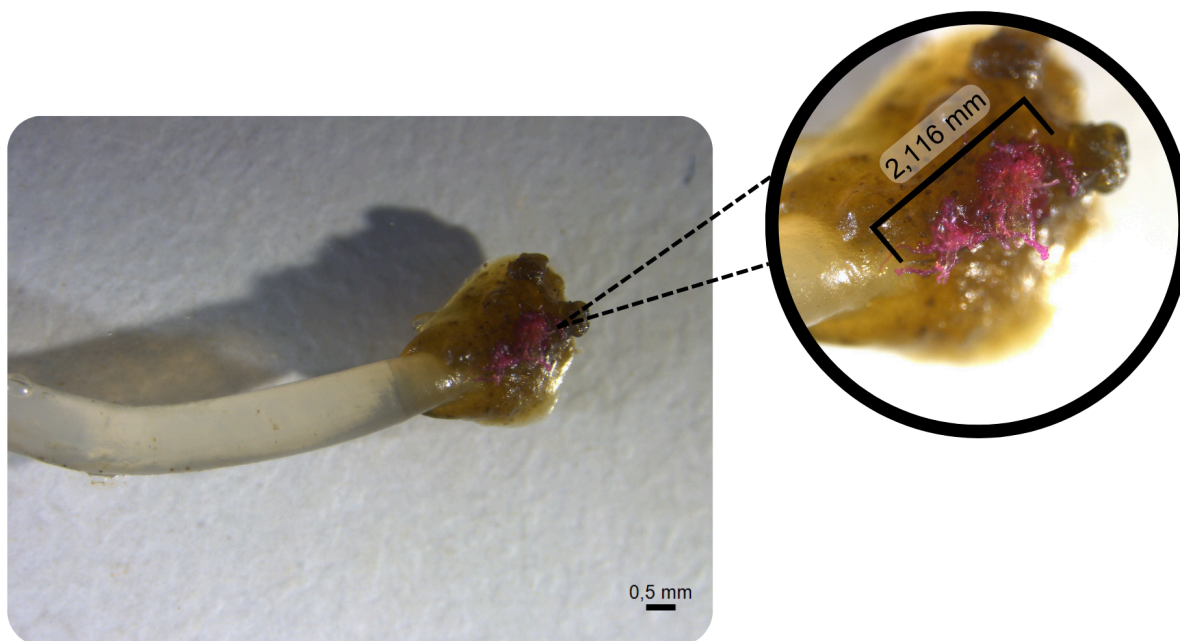


Figura 13: Aglomerado de fibras encontrado após 21 dias de depuração no estilete cristalino durante a dissecação de um indivíduo de *A. trapesialis* exposto a fibras de 4,0 mm. Fotografia realizada sob estereomicroscópio em escala 0,5 mm

Em sua maioria os bivalves apresentam essa estrutura denominada estilete cristalino (Ruppert, Fox & Barnes, 2005). Trata-se de um bastão glicoprotéico que, por movimentos ciliares, gira e se movimenta de forma a exercer força na parede estomacal auxiliando na digestão tanto de forma química quanto de forma mecânica (Brusca & Brusca, 2018). Essa estrutura é formada dentro de um anexo no sistema digestório intitulado saco do estilete. As alterações nas fibras podem estar associadas a essa estrutura, que se encontra logo no início do processo digestivo; essas modificações evidenciam maior dificuldade do indivíduo de digerir partículas maiores.

Em alguns bivalves, quando o material ingerido não pode ser digerido adequadamente ou encaminhado ao intestino, ele é ressuspenso no líquido estomacal, passando novamente por processos de digestão química e mecânica até que sua passagem pelo trato digestório se torne

possível (Ruppert, Fox & Barnes, 2005). Esse mecanismo pode explicar a presença de um aglomerado de fibras nesse órgão mesmo após 21 dias de depuração.

Com exceção desse aglomerado, nenhuma outra fibra foi identificada nas vísceras dos indivíduos expostos a ambos os tamanhos de fibras, sugerindo ausência de bioacumulação de fibras após o período de depuração. Essa mesma espécie apresenta evidências de bioacumulação de outros contaminantes como metais (Oliveira et al., 2018) e de outros formatos de microplásticos durante exposições mais longas (Moreschi et al., 2020).

Embora o animal tenha eliminado a maior parte das fibras microplásticas ofertadas em até 21 dias em condições experimentais, é esperado que no ambiente ele esteja exposto constantemente a esse contaminante. Portanto, *A. trapesialis* pode estar atuando como um vetor de fragmentação no ambiente aquático excretando fragmentos menores que podem aumentar a biodisponibilidade facilitando o acesso e a ingestão por outros organismos bentônicos (Hasegawa & Nakaoka, 2021).

A fragmentação dos microplásticos também aumenta a área superficial das partículas e favorece a liberação de aditivos químicos incorporados à matriz polimérica, processo intensificado pelo envelhecimento e pela degradação física e biológica do material (Hermabessiere et al., 2017). Dessa forma, mesmo sem retenção prolongada dos microplásticos, a passagem pelo trato digestório do bivalve pode aumentar o potencial ecotoxicológico dessas partículas no ambiente aquático.

3.4 CONCLUSÕES

Com base nos experimentos conduzidos, conclui-se que *A. trapesialis* consegue ingerir uma proporção significativa de fibras de diferentes tamanhos e que a eliminação completa dessas partículas ocorre em no mínimo 21 dias, independentemente da dimensão das fibras ofertadas. A maior parte das fibras é liberada nos primeiros dias de depuração, e não foram observadas evidências de bioacumulação nas vísceras após esse período. Assim, nas condições testadas, a dimensão das fibras não influenciou o tempo de residência no organismo.

Os resultados sugerem, contudo, que fibras maiores apresentam maior dificuldade de eliminação, o que pode levar a modificações físicas durante sua permanência no trato digestório. A presença dessas alterações, associadas ao estilete cristalino, órgão responsável pela digestão química e mecânica, indica que o processo digestivo pode promover deformações e

fragmentação das fibras prístinas, aumentando a biodisponibilidade para outros organismos.

Para estudos futuros, recomenda-se realizar experimentos sob condições de exposição crônica, a fim de avaliar possíveis processos de bioacumulação ao longo do tempo. Além disso, seria relevante utilizar fibras previamente degradadas, sendo mais representativas das condições encontradas no ambiente, para investigar padrões de modificação, retenção e potenciais efeitos tóxicos nos tecidos.

REFERÊNCIAS

AMINAH, S.; IKEJIMA, K. Potential sources of microplastic contamination in laboratory analysis and a protocol for minimising contamination. **Environmental Monitoring and Assessment**, [s. l.], v. 195, n. 7, p. 841, 2023.

BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. Capítulo 13. Filo Mollusca em **Invertebrados**. 3ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2018

CAI, Y. et al. Systematic Study of Microplastic Fiber Release from 12 Different Polyester Textiles during Washing. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 8, p. 4847–4855, 21 abr. 2020.

DING, J. et al. Microplastics in global bivalve mollusks: A call for protocol standardization. **Journal of Hazardous Materials**, v. 438, p. 129490, set. 2022

FERRAZ, Marlon *et al.* Microplastic Concentrations in Raw and Drinking Water in the Sinos River, Southern Brazil. **Water**, [s. l.], v. 12, n. 11, p. 3115, 2020.

HASEGAWA, T.; NAKAOKA, M. Trophic transfer of microplastics from mysids to fish greatly exceeds direct ingestion from the water column. **Environmental Pollution**, v. 273, p.116468, 15 mar. 2021.

HERMABESSIERE, L. et al. Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. **Chemosphere**, v. 182, p. 781–793, 1 set. 2017.

KHANJANI, M. H.; SHARIFINIA, M.; MOHAMMADI, A. R. The impact of microplastics on bivalve mollusks: A bibliometric and scientific review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 194, p. 115271, set. 2023.

KOUTNIK, V. S. et al. Distribution of microplastics in soil and freshwater environments: Global analysis and framework for transport modeling. **Environmental Pollution**, v. 274, p. 116552, 1 abr. 2021.

LI, C.; BUSQUETS, R.; CAMPOS, L. C. Assessment of microplastics in freshwater systems: A review. **Science of The Total Environment**, v. 707, p. 135578, 10 mar. 2020.

LOAYZA-MURO, R.; ELÍAS-LETTS, R. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: Effect of pH, temperature and metals on filtration rate. **Environmental Pollution**, v. 149, n. 2, p. 209–215, 1 set. 2007.

MENG, K. et al. Fragmentation and depolymerization of microplastics in the earthworm gut: A potential for microplastic bioremediation? **Journal of Hazardous Materials**, v. 447, p. 130765, 5 abr. 2023.

MORESCHI, A. C.; CALLIL, C. T.; CHRISTO, S. W.; JUNIOR, A. L. F.; NARDES, C.; FARIA, E.; GIRARD, P. Filtration, assimilation and elimination of microplastics by freshwater bivalves. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, Volume 2, 2020.

MOURA, C. et al. Assessing Microplastic Contamination and Depuration Effectiveness in Farmed Pacific Oysters (*Crassostrea gigas*). **Environments**, v. 12, n. 8, p. 254–254, 25 jul. 2025.

OLIVEIRA, L. F. DE et al. Single and combined effects of Zn, Mn and Fe on the Neotropical freshwater bivalve *Anodontites trapesialis*: Bioaccumulation and biochemical biomarkers. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 735–745, 15 out. 2018.

PENG, B.-Y. et al. Biodegradação de poliestireno e polietileno de baixa densidade por larvas *de Zophobas atratus* : fragmentação em microplásticos, alteração da microbiota intestinal e enzimas funcionais microbianas. **Journal of Cleaner Production**, v. 367, p. 132987, 20 set. 2022.

PRIMPKE, S. et al. Reference database design for the automated analysis of microplastic samples based on Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 410, n. 21, p. 5131–5141, 1 ago. 2018.

RUPPERT, Edward E.; FOX, Richard S.; BARNES, Robert B. **Zoologia dos invertebrados: uma abordagem funcional-evolutiva**. 7. ed. São Paulo: Roca, 2005. 1145 p. ISBN 8572415718.

SODRÉ, F. F. et al. How natural and anthropogenic factors should drive microplastic behavior and fate: The scenario of Brazilian urban freshwater. **Chemosphere**, v. 340, p. 139813, 1 nov. 2023.

STAICHAK, G. et al. Bivalves with potential for monitoring microplastics in South America. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 4, p. 100119, 1 dez. 2021.

SUN, H. et al. New evidence for plastics biodegradation in larval guts of superworms *Zophobas atratus*: Different contributions in the mouthpart and hindgut. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 13, n. 2, p. 116123, 1 abr. 2025.

VIEIRA, R. S. F.; VENÂNCIO, C. A. S.; FÉLIX, L. M. Thymol and menthol as anaesthetics for short transportation of zebrafish larva. **Fish Physiology and Biochemistry**, [s. l.], v. 51, art. 129, 2025.

WARD, J. E.; ROSA, M.; SHUMWAY, S. E. Capture, ingestion, and egestion of microplastics by suspension-feeding bivalves: a 40-year history. **Anthropocene Coasts**, v. 2, n. 1, p. 39–49, 1 jan. 2019.

WARD, E.; SHUMWAY, S. E. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, VOLUME 300 Special Issue. v. 300, n. 1, p. 83–130, 31 mar. 2004.

WOODS, M. N. et al. Microplastic fiber uptake, ingestion, and egestion rates in the blue mussel (*Mytilus edulis*). **Marine Pollution Bulletin**, v. 137, p. 638–645, 1 dez. 2018.

4 CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos nos dois estudos evidenciam que *A. trapesialis* apresenta elevado potencial como espécie bioindicadora e espécie modelo para estudos com microplásticos em ambientes de água doce, demonstrando capacidade de ingestão e posterior eliminação de diferentes tipos de partículas, fragmentos, fibras e esferas.

A avaliação de contaminação ambiental é possível apenas analisando as egestas sem necessidade de eutanásia dos indivíduos. As análises sazonais evidenciaram que o desempenho da espécie como bioindicadora se mantém estável entre as temporadas seca e chuvosa, ainda que a disponibilidade de fibras aos organismos seja maior na estação seca que na estação chuvosa.

Em ambos os experimentos, a maior liberação das partículas ocorreu nos primeiros dias de depuração, embora o tempo mínimo para a eliminação completa tenha variado entre 15 e 21 dias, refletindo diferenças nas características físicas do material ingerido. Apesar disso, não foi identificada influência consistente do tamanho ou formato das partículas sobre o tempo de residência, embora existam evidências de que fibras maiores apresentam maior dificuldade de eliminação e passem por processos de deformações ou fragmentação decorrentes da ação mecânica e química do estilete cristalino.

Investigações adicionais são essenciais para compreender possíveis efeitos sob exposição crônica, ou a fibras degradadas. De forma geral, os achados indicam que estudos futuros devem explorar (1) Comparações entre os microplásticos recuperados dos organismos e aqueles presentes no ambiente (2) Avaliar as alterações ecotóxicológicas nos indivíduos advindas das fibras e outros formatos já degradados e ambientalmente representativos (3) Avaliar a depuração em exposições crônicas e possíveis alterações nas fibras e ecotoxicológicas nos indivíduos (4) Avaliar os danos da interação dos MPs a com outros contaminantes comumente encontrados no ambiente. Tais abordagens poderão elucidar padrões de retenção, transformação física e potenciais implicações ecológicas associadas ao papel de *A. trapesialis* na dinâmica e transferência de microplásticos em ecossistemas aquáticos.

REFERÊNCIAS

BOEING, G. A. N. S. et al. Spray paint-derived microplastics and incorporated substances as ecotoxicological contaminants in the neotropical bumblebee *Bombus atratus*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 112, p. 104586, 1 dez. 2024.

CALLIL, Cláudia Tasso. **Base de dados direcionada à elaboração de um programa de monitoramento de águas continentais utilizando moluscos bivalves**. 2003. 210 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

CARSON, H. S. et al. Small plastic debris changes water movement and heat transfer through beach sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1708–1713, 1 ago. 2011.

COLE, M.; LIDDLE, C.; COSOLANDI, G.; DRAGO, C.; HIRD, C.; LINDEQUE, P. K.; GALLOWAY, T. S. Microplastics, microfibrils and nanoplastics cause variable sub-lethal responses in mussels (*Mytilus spp.*). **Mar Pollution Bulletin**. 2020 Nov; vol 160:111552. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111552. Epub 2020.

COHEN, Ronald R. H. *et al.* The effect of the Asiatic clam, *Corbicula fluminea*, on phytoplankton of the Potomac River, Maryland. **Limnology and Oceanography**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 170-180, 1984.

DING, J.; SUN, C.; LI, J.; SHI, H.; XU, X.; JU, P.; JIANG, F.; LI, F. *Microplastics in global bivalve mollusks: A call for protocol standardization*. **J Hazard Mater**. 2022 Sep 15; vol 438:129490. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.129490. Epub 2022.

HEBLING, N. J. *The functional morphology of Anodontites trapezeus (Spix) and Anodontites trapesialis (Lamarck). (Bivalvia: Mycetopodidae)*. Boletim de Zoologia da Universidade de São Paulo, vol. 1, p. 265-298. DOI: 10.11606/issn.2526-3358.bolzoo.1976.121585. 1976.

KHANJANI, M. H.; SHARIFINIA, M.; MOHAMMADI, A. R. The impact of microplastics on bivalve mollusks: A bibliometric and scientific review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 194, p. 115271, set. 2023.

KOUTNIK, V. S. et al. Distribution of microplastics in soil and freshwater environments: Global analysis and framework for transport modeling. **Environmental Pollution**, v. 274, p. 116552, 1 abr. 2021.

LOPES, J. L. C. et al. *Anodontites trapesialis*: A biological monitor of organochlorine pesticides. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 23, n. 3, p. 351–354, 1 out. 1992.

OLIVEIRA, L. F. DE et al. Single and combined effects of Zn, Mn and Fe on the Neotropical freshwater bivalve *Anodontites trapesialis*: Bioaccumulation and biochemical biomarkers. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 161, p. 735–745, 15 out. 2018.

PLASTICS EUROPE. Plastics the Fast Facts 2025: Global and European plastics production and economic indicators. [S.l.]: **Plastics Europe**, 2025. 1 p. Disponível em:<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2024/>

DING, J.; SUN, C.; LI, J.; SHI, H.; XU, X.; JU, P.; JIANG, F.; LI, F. Microplastics in global bivalve mollusks: A call for protocol standardization. **J Hazard Mater.** 2022 Sep 15; vol 438:129490. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.129490. 2022.

LI, C.; BUSQUETS, R.; CAMPOS, L. C. Assessment of microplastics in freshwater systems: A review. **Science of The Total Environment**, v. 707, p. 135578, 10 mar. 2020.

LOAYZA-MURO, R.; ELÍAS-LETTTS, R. Responses of the mussel *Anodontites trapesialis* (Unionidae) to environmental stressors: Effect of pH, temperature and metals on filtration rate. **Environmental Pollution**, v. 149, n. 2, p. 209–215, 1 set. 2007.

MORESCHI, A. C. et al. Filtration, assimilation and elimination of microplastics by freshwater bivalves. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 2, p. 100053, set. 2020.

MOTO, E.; HOSSEIN, M.; BAKARI, R.; MATEO, A. S.; SELEMANI, J. R.; NKRUMAH, S.; RIPANDA, A.; RWISA, M. J.; NYANZA, E. C.; MACHUNDA, R. L. Ecological consequences of microplastic pollution in sub-Saharan Africa aquatic ecosystems: An implication to environmental health. **Hydro Research**, Vol 7, 2024, Pages 39-54. DOI: 10.1016/j.hydres.2023.11.003. 2024.

MULTISANTI, C. R. et al. Plastics and their derivatives are impacting animal ecophysiology: A review. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 291, p. 110149, 1 maio 2025.

NIKHIL, V. G. et al. Bioaccumulation and trophic transfer of microplastics in oceanic food webs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 224, p. 119113, 1 mar. 2026.

RODRIGUES, C. C.; SALLA, R. F.; ROCHA, T. L. Bioaccumulation and ecotoxicological impact of micro(nano)plastics in aquatic and land snails: Historical review, current research and emerging trends. **J Hazard Mater.** 2023 Feb 15;444(Pt A):130382. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.130382. Epub 2023.

SEBASTIÃO, G. I. A. *et al.* Forensic determination of adhesive vinyl microplastics in urban soils. **Journal of Environmental Management**, [s. l.], v. 373, art. 123498, jan. 2025.

SENDRA, M.; SPARAVENTI, E.; NOVOA, B.; FIGUERAS, A. An overview of the internalization and effects of microplastics and nanoplastics as pollutants of emerging concern in bivalves. **Sci Total Environ.** 2021 Jan 20; vol 753:142024. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142024. Epub 2021.

SIMONE, L. R. L. DE. Anatomical characters and systematics of *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) from South America (Mollusca, Bivalvia, Unionoida, Muteloidea). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 29, n. 3, p. 169–185, 1 set. 1994.

SODRÉ, F. F. et al. How natural and anthropogenic factors should drive microplastic behavior and fate: The scenario of Brazilian urban freshwater. **Chemosphere**, v. 340, p. 139813, 1 nov. 2023.

STAICHAK, G. et al. Bivalves with potential for monitoring microplastics in South America. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 4, p. 100119, 1 dez. 2021.

SUNNY, A. R. et al. Microplastics in Aquatic Ecosystems: A Global Review of Distribution, Ecotoxicological Impacts, and Human Health Risks. **Water**, v. 17, n. 12, p. 1741, 9 jun. 2025.

WARD, J. E.; ROSA, M.; SHUMWAY, S. E. Capture, ingestion, and egestion of microplastics by suspension-feeding bivalves: a 40-year history. **Anthropocene Coasts**, v. 2, n. 1, p. 39–49, 1 jan. 2019.

ZIERITZ, A. et al. A global synthesis of ecosystem services provided and disrupted by freshwater bivalve molluscs. **Biological Reviews**, v. 97, n. 5, p. 1967–1998, 2022.

APÊNDICE – A



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 96133-1	Data de Emissão: 02/10/2024 17:08:53	Validade*: 02/10/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARIA FERNANDA ROSA DA SILVA	CPF: 470.240.158-02
Título do Projeto: O uso de <i>Anodonta tatespensis</i> (Lamarck, 1819) como bioindicador de micropolíticos em ambiente de água doce.	
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal de São Carlos	CNPJ: 45.358.058/0001-40

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Período do Mestrado	11/2024	01/2026

Observações e ressalvas

1	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonosológica no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na Internet: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/90).
6	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
7	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria N° 748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
8	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
9	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.
10	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
11	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno de UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0961330120241002

Página 1/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 96133-1	Data de Emissão: 02/10/2024 17:08:53	Validade*: 02/10/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência e equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARIA FERNANDA ROSA DA SILVA	CPF: 470.240.158-02
Título do Projeto: O uso de Anodontites trapesialis (Lamarck, 1819) como bioindicador de microplástico em ambiente de água doce.	
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal de São Carlos	CNPJ: 45.358.058/0001-40

Outras ressalvas

1	CEPTA Pirassununga-SP
---	-----------------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Rios e pesqueiros	Sorocaba-SP	Cerrado	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Manutenção temporária (até 24 meses) de invertebrados silvestres em cativeiro	Atividades ex-situ (fora da natureza)
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Anodontites	-
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Anodontites	55
3	Manutenção temporária (até 24 meses) de invertebrados silvestres em cativeiro	Anodontites	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Método de captura/coleta (Invertebrados Aquáticos)	Coleta manual

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0961330120241002

Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 96133-1	Data de Emissão: 02/10/2024 17:08:53	Validade*: 02/10/2025
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência e equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: MARIA FERNANDA ROSA DA SILVA	CPF: 470.240.158-02
Título do Projeto: O uso de Anodontites trapesialis (Lamarck, 1819) como bioindicador de microplástico em ambiente de água doce.	
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal de São Carlos	CNPJ: 45.358.058/0001-40

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Fundação Universidade Federal de São Carlos	Outro

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº Portaria ICMBio nº 748/2022. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0961330120241002

Página 3/4

ANEXO – A MATERIAL SUPLEMENTAR (ARTIGO 01)

1. Testes de digestão

Para determinar o tempo necessário para a digestão e o componente, foram realizados diferentes testes utilizando H₂O₂ a 35% e KOH 10%, conclui-se que o KOH é uma substância não compatível com algumas membranas como as de nitrato de celulose ou mistura de ésteres e celulose, estragando a membrana durante a filtração ou após quando armazenada (Figura 01, B), além disso, o KOH não foi tão eficiente quanto H₂O₂ e amarelou muito as amostras. Também foi feito um teste para ver se os reagentes e a estufa poderiam causar alterações no material nenhum deles demonstrou alterações sob as condições testadas (Figura 01, C).

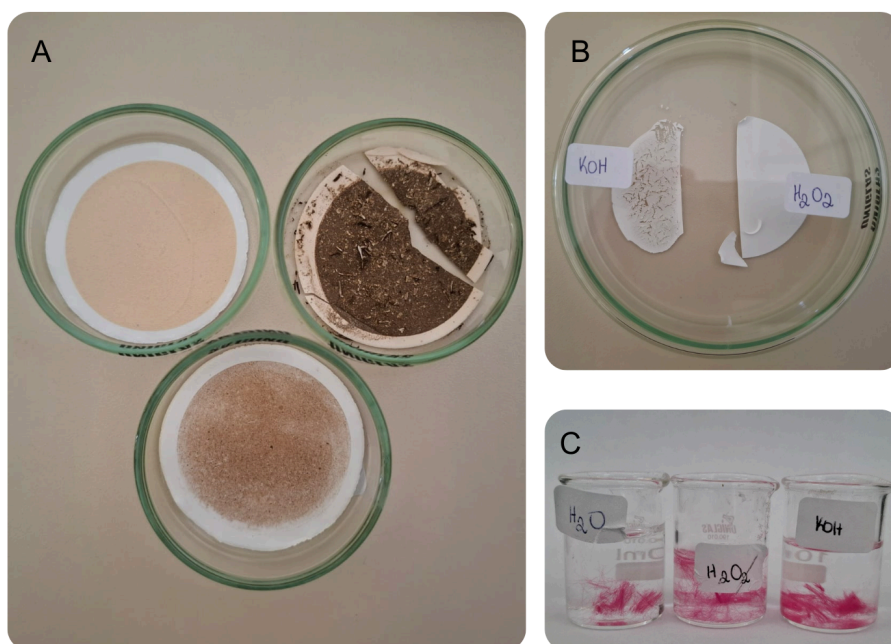


Figura 01: Avaliação de protocolos de digestão tecidual. (A) Amostras submetidas a diferentes tratamentos químicos sendo a 1º do canto superior esquerdo com H₂O₂35% , do canto superior direito com KOH 10% e a inferior com uma mistura de H₂O₂ 35% + KOH 10% ; (B) Incompatibilidade do KOH com filtros de mistura de ésteres de celulose; (C) Teste de resistência das fibras experimentais aos reagentes e à temperatura e reagentes, demonstrando a preservação das características físicas do microplástico utilizado no estudo.

2. Redução de material nas membranas e ácaros

Durante o período de depuração, os indivíduos eliminaram o material particulado previamente ingerido no ambiente natural, incluindo uma grande quantidade de sedimentos, cuja abundância foi maior na estação chuvosa. Ao longo desse processo, também foi registrada a eliminação de ácaros nas fezes e pseudofezes (Figura 02), organismos que, até o momento, foram

descritos associados a *A. trapesialis* apenas por Hebling (1976), não sendo ainda claro se apresentam relação parasítica ou comensal com a espécie. Além disso, observou-se uma redução progressiva do material particulado ao longo dos 15 dias de depuração, refletida na menor presença de sedimentos e partículas nas membranas de filtração nos últimos dias do experimento, quando comparadas às amostras iniciais (Figura 03).



Figura 02: Registro fotográfico de ácaros recuperados durante o processo de depuração de *Anodontites trapesialis*. As imagens evidenciam a diversidade morfológica dos espécimes eliminados junto às fezes e pseudofezes. Fotografias realizadas sob estereomicroscópio.

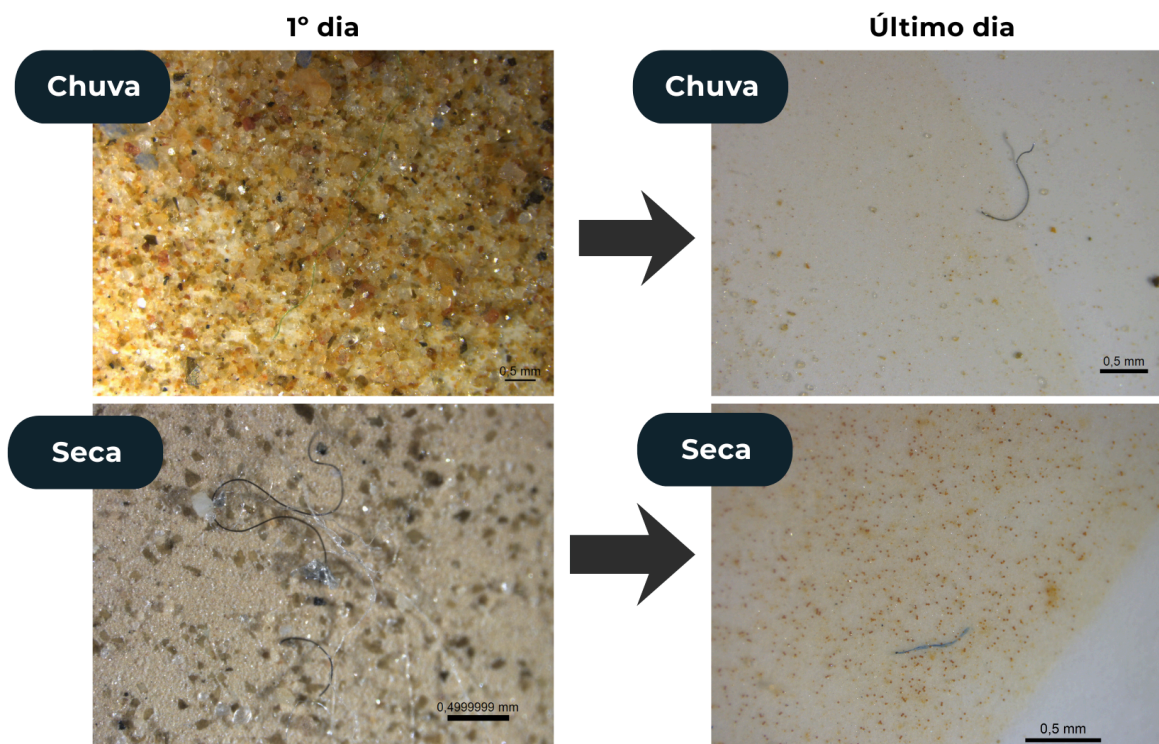


Figura 03: Evolução visual da carga de material particulado e microplásticos retidos em membranas de filtração entre o primeiro e o último dia do experimento. O comparativo demonstra uma redução progressiva e acentuada na abundância de sedimentos e partículas em ambos os regimes sazonais (Chuva e Seca) ao longo dos 15 dias de depuração. Fotografias realizadas sob estereomicroscópio.

3. Desvio padrão

Desvio padrão dos valores encontrados nos gráficos da Figura 05, pág 20 do Artigo I. Separados em temporada seca e chuvosa.

Desvio Padrão Seca				
	Esfera	Fibra	Fragmento	Aglomerado
3	0,7	4,9	3,3	0,4
5	0	1,6	1,1	0
8	0	2,3	1	0
10	0	2,5	0,8	0,4
12	0	1	1,5	0
15	0	2,5	1,1	0

Desvio Padrão Chuva				
	Esfera	Fibra	Fragmento	Aglomerado
3	0,5	3,7	2,2	0,0
6	0,4	0,5	0,8	0,4
8	0,0	0,0	1,0	0,0
10	0,0	0,5	2,1	0,0
13	1,3	0,8	2,1	0,8
15	0,0	1,4	1,5	0,0

ANEXO – B MATERIAL SUPLEMENTAR (ARTIGO 02)

1. Testes de microplásticos

Foram realizados testes preliminares com diferentes tipos de tecidos, incluindo materiais comumente associados à poluição em ambientes de água doce. Esses testes avaliaram a facilidade de corte e o comportamento das fibras na coluna d'água, visando estimar sua biodisponibilidade para os indivíduos. A Figura 01, A ilustra alguns dos tecidos testados.

O tecido Oxford de poliéster foi selecionado em função de sua densidade, comportamento na coluna d'água, facilidade de obtenção e relevância ambiental. No entanto, as fibras apresentavam-se fortemente entrelaçadas, sendo necessária a escovação prévia do tecido com escova de aço para promover a separação das fibras antes do corte (Figura 01 B, C).

Inicialmente, as fibras foram cortadas de forma aleatória e submetidas à separação por peneiras de diferentes malhas. Entretanto, esse procedimento mostrou-se pouco eficiente, pois as fibras precisavam ser umedecidas, apresentavam longo tempo de secagem e não permitiram precisão adequada na definição dos tamanhos (Figura 01 D). Assim, optou-se pelo corte manual das fibras com auxílio de régua, nos tamanhos desejados, seguido da caracterização dimensional sob estereomicroscópio.



Figura 01: Ensaio preliminares para padronização e obtenção das microfibras experimentais. (A) Teste de decantação e biodisponibilidade de diferentes tecidos sintéticos em coluna d'água. (B-C) Detalhe do tecido Oxford de poliéster, evidenciando a necessidade de escovação prévia com cerdas de aço para a separação das fibras antes do processamento. (D) Tentativa de fracionamento via peneiras de diferentes malhas.

2. Bioensaio Piloto

Neste estudo piloto, foram coletados 12 indivíduos, os quais foram distribuídos em quatro grupos experimentais. Cada grupo, composto por três indivíduos, foi submetido a diferentes combinações de tamanho e concentração de fibras a maior concentração é a mesma descrita por Moreschi *et al.*(2020). Desenho experimental na tabela a seguir:

Grupos	Tamanho das fibras	Concentração
Controle	Sem fibras	-
		-
		-
Grupo 01	0,5 mm	0,075 g/L
		0,0375 g/L
		0,01875 g/L
Grupo 02	2,5 mm	0,075 g/L
		0,0375 g/L
		0,01875 g/L
Grupo 03	5,0 mm	0,075 g/L
		0,0375 g/L
		0,01875 g/L

Durante a fase de exposição, definiu-se um período de 15 dias como necessário para a redução dos níveis de amônia e da contaminação prévia do ambiente experimental, de modo a evitar efeitos tóxicos adicionais aos indivíduos e facilitar a visualização das membranas. Também foi estabelecido que a oferta de 1 mL de alimento era suficiente, uma vez que volumes maiores induziam produção excessiva de muco, dificultando a coleta e o processamento das amostras. Observou-se ainda que fibras de coloração amarela apresentavam baixa visualização sob estereomicroscópio, sendo frequentemente confundidas com material orgânico (Figura 02A).

As maiores concentrações testadas comprometeram significativamente a visualização das membranas filtrantes nos primeiros dias de experimento, enquanto as menores concentrações resultaram em baixa ingestão pelas amostras. Diante disso, optou-se pela utilização da concentração [0,0375 g/L] . Além disso, os tamanhos intermediários de fibras apresentaram elevada sobreposição com as demais classes, dificultando a distinção analítica; assim, foram selecionados apenas dois tamanhos extremos para os experimentos subsequentes.

Nas Figuras 02B e 02C, observa-se que o fenômeno de modificação estrutural das fibras também ocorreu nesta etapa piloto, especialmente nos indivíduos expostos às fibras de maior comprimento.

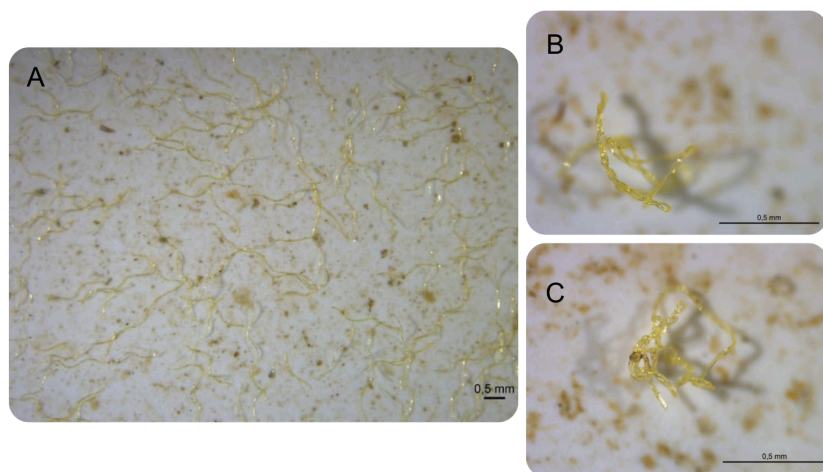


Figura 02: Fibras de poliéster amarelas recuperadas na membrana. (A) Baixa distinção visual de fibras de coloração amarela em meio ao material orgânico e sedimento recuperado. (B-C) Evidência de modificação estrutural em fibras de maior comprimento durante a fase piloto. Fotografias realizadas sob estereomicroscópio.

3.Dados matriz de correlação

Para realizar as análise de correlação da quantidade de MPs ingeridos com o tamanho dos indivíduos e das brânquias, foi utilizado os dados presentes na tabela a seguir:

Exposição a fibras de 4,0 mm		
Tamanho do indivíduo (mm)	Tamanho das brânquias (mm)	Quantidade de partículas ingeridas p/indivíduo
110,43	50,25	4912
124,12	58,61	3412
125,91	54,66	2327
114,21	53,81	4291
127,53	58,92	2740
130,02	49,7	9306
129	58,48	4395
Exposição a fibras de 0,9 mm		
Tamanho do indivíduo (mm)	Tamanho das brânquias (mm)	Quantidade de partículas ingeridas p/indivíduo
132,37	64,98	43617
125,2	54,66	73502
108,85	48,57	41597
127,76	54,97	33924
121,66	51,29	35539
111,93	48,5	30289
101,11	41,34	45434

4. Fonte de contaminação na exposição as fibras de 0,9 mm

A partir do dia 21 do experimento, foi identificada contaminação nas amostras (Figura 03A). No referido dia, a pesquisadora utilizou uma blusa de frio de coloração rosa (Figura 03B). Embora a vestimenta não tenha sido utilizada durante as etapas de troca de água e manutenção dos indivíduos, fibras do tecido permaneceram aderidas às roupas da pesquisadora e acabaram contaminando as amostras, resultando na presença de fibras com diferentes tonalidades de rosa.

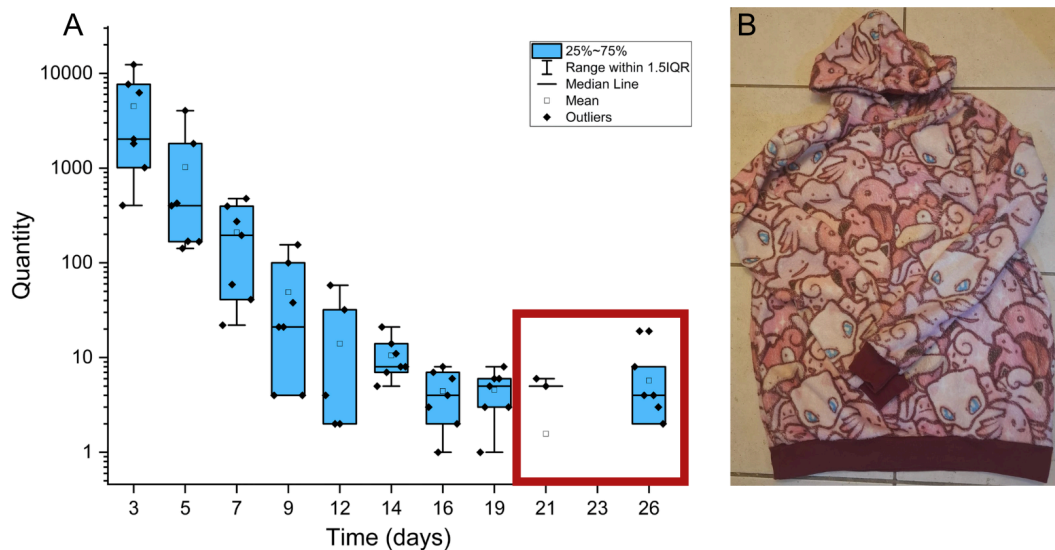


Figura 03: Identificação de contaminação externa por microfibras durante o período final de depuração. (A) Gráfico de depuração evidenciando um incremento atípico na quantidade de fibras nos dias 23 e 26 (destaque em vermelho) (B) Registro fotográfico da vestimenta (blusa de poliéster rosa) utilizada no laboratório.