

UNIVERSIDADE FERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS - ICET
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
PARA RECURSOS AMAZÔNICOS – PPGCTRA

NELCILENE DE ALMEIDA PONTES

**EFEITO DOS MICROPLÁSTICOS NO DESENVOLVIMENTO DO CARANGUEJO
DE ÁGUA DOCE *Dilocarcinus pagei* CAPTURADOS EM ITACOATIARA (AM),
BRASIL**

ITACOATIARA-AM

2019

NELCILENE DE ALMEIDA PONTES

**EFEITO DOS MICROPLÁSTICOS NO DESENVOLVIMENTO DO CARANGUEJO
DE ÁGUA DOCE *Dilocarcinus pagei* CAPTURADOS EM ITACOATIARA (AM),
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Yomar Hattori

Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti

ITACOATIARA-AM

2019

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

P814e Pontes, Nelcilene de Almeida
Efeito dos microplásticos no desenvolvimento do caranguejo de água doce *Dilocarcinus pagei* capturados em Itacoatiara (AM), Brasil / Nelcilene de Almeida Pontes. 2019
85 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Gustavo Yomar Hattori
Coorientador: Gustavo Frigi Perotti
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Crustacea. 2. Trichodactylidae. 3. Brachyura. 4. polyethylene. 5. Plastic. I. Hattori, Gustavo Yomar II. Universidade Federal do Amazonas III. Título


Nelcilene de Almeida Pontes

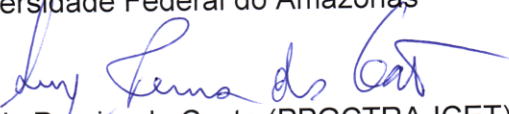
Efeito dos microplásticos no desenvolvimento do caranguejo de água doce *Dilocarcinus pagei* capturados em Itacoatiara.

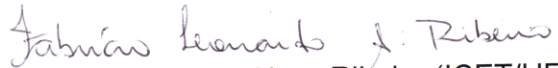
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos, área de concentração Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Recursos Amazônicos.

Aprovado em 16 de dezembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Gustavo Yomar Hattori (PPGCTRA-ICET) (Presidente)
Universidade Federal do Amazonas


Prof. Dr. Luiz Pereira da Costa (PPGCTRA-ICET)
Universidade Federal do Amazonas


Prof. Dr. Fabrício Leonardo Alves Ribeiro (ICET/UFAM)
Universidade Federal do Amazonas

À minha mãe Neide Gama que sempre foi minha maior motivação e a quem eu dedico a minha vida inteira.

À minha avó Vitoria Maia que estaria muito feliz por mim. Não está mais entre nós e foi a pessoa mais carinhosa e cuidadora que eu pude conhecer.

Ao meu esposo Oderlans Dutra que me apoia sempre, juntamente com sua família que me acolheram

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter me dado forças, discernimento e saúde para que eu pudesse ter dado mais esse passo e me guiado até o fim.

Ao meu esposo Oderlans Dutra, que esteve comigo desde o começo da graduação, me viu sorrir e chorar, mas nunca deixou de apoiar e acreditar em mim.

A minha mãe Neide Gama que sempre me incentivou e fez tudo o que pôde para que eu pudesse estudar.

Aos meus irmãos Sebastiao, Neicilene e Luiz, sempre foram um dos principais motivos para eu não desistir.

Ao meu orientador Professor Dr. Gustavo Yomar Hattori que me deu a primeira oportunidade na iniciação científica, me apresentou ao mundo da pesquisa e sempre esteve disposto a compartilhar seu conhecimento comigo. Agradeço à mão estendida em todos os momentos que precisei. Também pela paciência e por todas as oportunidades.

Ao Prof. Dr. Gustavo Frigi Perotti pelas contribuições dadas a redação e análises dos materiais deste trabalho, pela disponibilidade e por ter aceitado ser meu coorientador.

Ao Prof. Dr. Luiz Pereira da Costa juntamente com o Prof. Dr. Italo Odone Mazali responsável pelo Laboratório Multiusuário de Espectroscopia Óptica Avançada – LMEOA, do Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas onde foram realizadas as análises.

Aos professores Bruno Sant’Anna, Peterson Demite, Jorge Souza, Rafaela Otta, Claudio Neto e a todos os outros que de alguma forma contribuíram com a minha formação.

A minha amiga Diana Monteiro (sem esquecer do nosso ajudante Iori) que não desistiu em nenhum momento, esteve ao meu lado durante toda a realização deste trabalho, e por quem eu tenho profundo carinho e admiração.

Aos meus amigos que estiveram mais próximo durante esse período, principalmente a Karine Coelho, Josiele Viana, a Hanna Paula, a Eberlanny Rolim e a Bia Morais e Geovani Cortez.

A todos os colegas do laboratório de Zoologia (UFAM/ICET) (Aldeiza, Rafaela, Márcia, Lucas, Rayanna e Raiane).

“Um livro, uma caneta, uma criança e um professor podem mudar o mundo.”

Malala Yousafzai

RESUMO

As partículas de microplásticos vêm sendo encontradas em grande variedade e quantidade em ambientes de água doce em todo o mundo, incluindo lagos e rios, com exposição cada vez mais frequente dos organismos aquáticos. Dependendo do tamanho da partícula e dos traços fisiológicos e comportamentais do organismo, há uma oportunidade para a ingestão desse poluente por animais invertebrados. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ingestão de microplástico, local de retenção, fragmentação, efeitos causados pela ingestão no crescimento, engorda e sobrevivência de *Dilocarcinus pagei*. No Capítulo I introduzimos informações sobre a produção de plástico, conceitos e tipos de microplástico, métodos de análises desse material, a poluição em ambientes aquático e os riscos para a biota de água doce incluindo crustáceos. No Capítulo II testamos o ingestão acidental de microplástico de 0,5 e 1 mm e de 0,5 e 1 %, além de verificar a possibilidade de fragmentar essas partícula ingeridas misturado a uma ração. Comparamos os resultados entre indivíduos adultos e juvenis e entre machos e fêmeas. Utilizamos a microscopia eletrônica de varredura MEV e a espectroscopia vibracional Raman para identificar e confirmar o microplástico utilizado. No Capítulo III avaliamos o efeito da ingestão do microplástico misturado a ração e à macrófita no crescimento de juvenis recém eclodidos por um período de 90 dias, além disso, verificamos também o efeito no ganho ou perda de peso de machos e fêmeas adultos. Concluimos que a ingestão pode causar efeitos negativos no crescimento de juvenis, ganho de peso e sobrevivência de adultos.

Palavras-chave: Crustacea, Trichodactylidae, Brachyura, polietileno.

ABSTRACT

Microplastic particles have been found in great variety and quantity in freshwater environments around the world, including lakes and rivers, with increasing exposure to aquatic organisms. Depending on the particle size and physiological and behavioral traits of the organism, there is an opportunity for this pollutant to be ingested by invertebrate animals. Thus, the objective of this study was to evaluate the microplastic intake, retention site, fragmentation, effects caused by ingestion on *Dilocarcinus pagei* growth, fattening and survival. In Chapter I we introduce information on plastic production, concepts and types of microplastics, methods for analyzing this material, pollution in aquatic environments, and risks to freshwater biota including crustaceans. In Chapter II we tested the accidental microplastic ingestion of 0.5 and 1 mm and 0.5 and 1%, and checked the possibility of fragmenting these ingested particles mixed with a ration. We compared the results between adult and juvenile individuals and between males and females. We used SEM scanning electron microscopy and Raman vibrational spectroscopy to identify and confirm the microplastic used. In Chapter III we evaluated the effect of microplastic ingestion mixed with feed and macrophyte on the growth of newly hatched juveniles over a period of 90 days, and we also verified the effect on weight gain or loss of adult males and females. We conclude that ingestion can have negative effects on juvenile growth, weight gain and adult survival.

Keywords: Crustacea, Trichodactylidae, Brachyura, polyethylene.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

FIGURA 1 - Média e desvio padrão expresso em peso (g) de alimento consumido por *Dilocarcinus pagei* (A) comparação entre machos e fêmeas; (B) comparação entre adultos e juvenis; (C) comparação entre as concentrações de microplásticos adicionados a ração (controle, 0,5 % e 1 %); (D) comparação entre os diferentes tamanhos de fragmentos de microplásticos (controle, 0,5 mm e 1 mm). Colunas seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($p > 0,05$) (Fig. 1A e 1B Mann-Whitney; Fig. 1C e 1D Kruskal-Wallis).42

FIGURA 2 - Médias e desvio padrão do tamanho dos fragmentos de microplásticos (mm^2) ingeridos por *Dilocarcinus pagei*. (A) Comparação entre machos e fêmeas. (B) Comparação entre adultos e juvenis. (C) Comparação entre as partes corpóreas (C=controle, CB= câmara branquial, E= estômago, I= intestino e F= fezes). (D) Comparação entre os intervalos de coleta 2, 4 e 6 h. Colunas seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($p > 0,05$) (Fig. 2A e 2B Mann-Whitney; Fig. 2C e 2D Kruskal-Wallis). 44

FIGURA 3 - Espectros Raman da amostra padrão de fragmentos de microplásticos de polietileno oriundo de sacolas plásticas de cor branca e amostras dos fragmentos encontradas no estômago, intestino e fezes de *Dilocarcinus pagei* durante os experimentos.45

FIGURA 4 - Imagens dos fragmentos ingeridos e coletados de *Dilocarcinus pagei*, obtidos por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). (A) microplásticos antes da ingestão, (B) coletados no estômago, (C) coletados no intestino e (D) coletados nas fezes.46

CAPÍTULO III

FIGURA 1 - Relação entre o tempo de cultivo (dias) e a largura cefalotorácica (mm) do caranguejo *Dilocarcinus pagei*, no tratamento TA (Ração) e TB (ração/microplástico). As linhas de regressão não diferiram significativamente (ANCOVA $F = 2,008$ $GL = 1$, $P < 0,157$). 69

FIGURA 2 - Relação entre o tempo de cultivo (dias) e a largura cefalotorácica (mm) do caranguejo *Dilocarcinus pagei* no TC (Macrófita *E. crassipes*) e TD (Macrófita *E. crassipes* e microplástico). As linhas de regressão diferiram significativamente entre si (ANCOVA $F = 6,49$ $GL = 1$, $P < 0,0113$). 70

FIGURA 3 - Médias e desvio padrão da taxa de crescimento específico de *Dilocarcinus pagei*. A) Comparação entre sexo (machos e fêmeas). B) Comparação entre tamanho (0,5 mm e 1 mm) com o controle. C) Comparação entre concentração (0,5 % e 1 %) com o controle. Colunas seguidas por uma mesma letra não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$). 72

LISTA DE TABELA

CAPÍTULO III

TABELA 1 - Tamanho médio de LC (mm) dos juvenis de *Dilocarcinus pagei* comparados entre os tratamentos TA e TB durante os 90 dias de experimento por meio do teste t. TA= Ração; TB= Ração/Microplástico; GL= grau de liberdade; T= valor do teste t e P= significância. Médias com valores de P em negrito foram estatisticamente diferentes (P <0,05)..... 68

TABELA 2 - Tamanho médio de LC (mm) dos juvenis de *Dilocarcinus pagei* comparados entre os tratamentos TA e TB durante os 45 dias de experimento por meio do teste t. TC= Macrófita (*E. crassipes*); TD= Macrófita (*E. crassipes*) e microplástico; GL= grau de liberdade; MS= quadrado médio; F= valor do teste F e P= significância. Médias com valores de P seguido de * foram estatisticamente diferentes (P <0,05). 69

TABELA 3 - Peso final e inicial dos caranguejos *Dilocarcinus pagei* registrados durante os 90 dias de experimento. I= peso inicial; F= peso final; DP= desvio padrão; Mim= mínimo; Max= máximo. 71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DP	Desvio padrão
F	Valor do teste F
GL	Grau de liberdade
GP	Ganho de peso
H	Teste de Kruskal-Wallis
LC	Largura do cefalotórax
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
NCM	Número de caranguejos mortos ao final do experimento
P	Valor da significancia
PE	Peso úmido total
PE _f	Peso úmido final
PE _i	Peso úmido inicial
pH	potencial Hidrogeniônico
S1	Tamanho no início do experimento
S2	Tamanho no final do experimento
T	Total de caranguejos no tratamento
t1	Primeiro dia em que os caranguejos foram medidos após 5 dias.
TA	Ração
t2	Fim do experimento
TB	Microplástico misturado à ração
TC	Folhas de macrófitas
TD	Microplástico misturado à folha de macrófitas
TM	Taxa de mortalidade
X ²	Teste de Qui-quadrado
Z	Teste Mann-Whitney

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	13
Considerações Gerais	13
1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Produção de plástico e o meio ambiente	14
1.2 Definição e classificação de microplásticos	15
1.3 Métodos de detecção e caracterização de microplásticos	16
1.4 Riscos e impactos na fauna aquática	18
1.5 Presença de microplásticos em ecossistemas de água doce	19
1.6 Considerações finais: risco de contaminação no caranguejo <i>Dilocarcinus pagei</i>	21
REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO II	33
Ingestão e fragmentação de microplásticos pelo caranguejo de água doce <i>Dilocarcinus pagei</i> Stimpson, 1861 (Brachyura, Trichodactylidae)	33
RESUMO	34
ABSTRACT	35
1 INTRODUÇÃO	36
2 MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1 Coleta do caranguejo	38
2.2 Obtenção do microplástico	38
2.3 Consumo de microplástico de diferentes tamanhos e concentrações	39
2.4 Local de retenção e fragmentação do microplástico	39
2.5 Microscopia eletrônica de varredura MEV	40
2.6 Espectroscopia vibracional Raman	40
2.7 Análises estatísticas	41
3 RESULTADOS	42
3.1 Consumo de microplástico em diferentes tamanhos e concentrações	42
3.2 Local de retenção e fragmentação do microplástico	43
3.3 Espectroscopia vibracional Raman	44
4 DISCUSSÃO	47
5 CONCLUSÃO	52

REFERÊNCIAS	53
CAPÍTULO III	59
A presença de fragmentos de microplásticos de polietileno no crescimento do caranguejo <i>Dilocarcinus pagei</i> Stimpson, 1861 (Brachyura, Trichodactylidae)	59
1 INTRODUÇÃO	62
2 MATERIAL E MÉTODOS	64
2.1 Coleta dos caranguejos	64
2.2 Obtenção dos fragmentos de microplásticos	64
2.3 Experimento 1 – Efeito da ingestão de microplástico na sobrevivência e crescimento de juvenis de <i>Dilocarcinus pagei</i>	65
2.4 Experimento 2 - Consumo de diferentes tamanhos e concentrações de fragmentos de microplástico no desenvolvimento de <i>Dilocarcinus pagei</i>	66
3 RESULTADOS	68
3.1 Experimento 1	68
3.2 Experimento 2	70
4 DISCUSSÃO	73
5 CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXO A – Autorização para atividade com finalidade científica- SISBIO/ICEMBIO	83

CAPÍTULO I

Considerações Gerais

1 INTRODUÇÃO

1.1 Produção de plástico e o meio ambiente

A descoberta da baquelite, considerado o primeiro plástico sintético em 1907 por Hendrik Baekeland, revolucionou a ciência dos polímeros e a vida moderna, introduzindo vários polímeros e formulações plásticas em nosso cotidiano, muitos dos quais ainda estão disponíveis no mercado atualmente (SHASHOUA, 2008).

Com crescimento contínuo há mais de 50 anos, a produção global de plásticos em 2012 foi de 288 milhões de toneladas (PLASTICSEUROPE, 2013) e em 2018 esse número chegou a 359 milhões de toneladas. A Ásia é o maior produtor (51 %) seguido pelos países do NAFTA (18 %) e Europa (17 %). Os polímeros mais comumente produzidos e, portanto, mais encontrados são o polipropileno (PP) 19,3 %, polietileno (PE) 17,5 %, policloreto de vinila (PVC) 10 %, polietileno tereftalato (PET) 7,7 % e poliestireno (PS) 6,4 % (PLASTICSEUROPE, 2019). Desse total de plástico produzido anualmente, cerca 39 % são convertidos em embalagens e o segundo maior uso é na construção civil (19,8 %) (PLASTICSEUROPE, 2019).

O baixo peso e a alta durabilidade são duas características que fazem do plástico um material tão útil à sociedade, porém, são descartados de forma inapropriada, causando danos significativos ao meio ambiente (RYAN et al., 2009). A elevada durabilidade combinada com a baixa taxa de reciclagem, má gestão de resíduos e uso marítimo, produziu uma parcela significativa dos plásticos que entra e persiste nos ecossistemas marinhos (BARNES et al., 2009). Atualmente, estima-se que entre 1,15 a 2,41 milhões de toneladas de resíduos plásticos são transferidos para o oceano todos os anos, partindo principalmente de rios (LEBRETON et al., 2017).

Segundo Lebreton et al. (2017) os 20 principais rios poluidores estão localizados principalmente na Ásia e representam 67 % do total global. O Rio Chinês Yangtze representa a maior bacia hidrográfica e que contribui com uma entrada anual de 0,33 (variação de 0,31 a 0,48) milhão de toneladas de plástico que são descarregados no Mar da China Oriental. As bacias do Rio Ganges, entre a Índia e Bangladesh, tem uma contribuição calculada de 0,12 (faixa de 0,10 a 0,17) milhão de toneladas por ano (LEBRETON et al., 2017).

O tamanho da população e a qualidade dos sistemas de gestão de resíduos de cada local são os principais fatores que determinam qual a contribuição de cada país na produção

de resíduos disponíveis para se tornarem detritos plásticos no ambiente marinho (JAMBECK et al., 2015). Ausências de infraestrutura na gestão de resíduos podem promover uma elevada quantidade de resíduos plásticos que são despejados no oceano a partir de continente. O aumento estimado desses resíduos plásticos a serem descartados no ecossistema marinho a partir do ecossistema terrestre está em torno de 15 e 40 % até o ano de 2025 (JAMBECK et al., 2015).

Segundo Lambert e Wagner (2018), muitos desses materiais plásticos não são estacionários, sendo transportados entre os ecossistemas, como por exemplo, do continente para o ambiente dulcícola e deste para o ambiente marinho. O tempo de permanência pode variar em cada ambiente. O fluxo do continente para o ambiente dulcícola fluvial dependem de condições climáticas, distância em relação ao curso d'água e o tipo de cobertura do solo. (LAMBERT; WAGNER, 2018).

Os primeiros registros de partículas plásticas encontradas no meio ambiente foram realizados na década de 70. No ano de 1972, os pesquisadores E. J. Carpenter e K. L. Smith foram os primeiros pesquisadores a detectarem a presença de partículas de polietileno (pellets) na superfície do Oceano Atlântico Norte (CARPENTER; SMITH, 1972).

Esse mesmo grupo de pesquisadores verificou posteriormente a ingestão dessas partículas de polietileno (pellets) por peixes, alertando sobre a entrada desses fragmentos na cadeia alimentar aquática (CARPENTER et al., 1972).

1.2 Definição e classificação de microplásticos

Thompson et al. (2004) usaram inicialmente o termo microplástico para descrever os pedaços microscópicos de plásticos em sedimentos marinhos e na coluna d'água de regiões europeias. A partir desse momento, diversos autores passaram a usar esse termo (NG; OBBARD, 2006; BROWNE; GALLOWAY; THOMPSON, 2007).

Atualmente, os microplásticos são amplamente definidos como polímeros sintéticos com tamanho inferior a 5 mm (ARTHUR; BAKER; BAMFORD, 2009; THOMPSON et al., 2009; ANDRADY, 2011). Frias e Nash (2019) propuseram uma definição para microplásticos como qualquer partícula sólida sintética ou de matriz polimérica, de forma regular ou irregular e com tamanho variando de 1 µm a 5 mm, podendo ser de origem primária ou secundária de fabricação e insolúveis em água.

A classificação do microplástico em primários e secundários está relacionado a origem de fabricação. Os primários são aqueles fabricados com um tamanho inferior a 5 mm e encontrados principalmente em tecidos, medicamentos e produtos de cuidados pessoais, como esfoliantes faciais e corporais (COLE et al., 2011; BROWNE, 2015). Os microplásticos secundários são derivados de fragmentação de grandes detritos plásticos devido a processos como a fotodegradação, interações físicas, químicas e biológicas (THOMPSON et al., 2009; GALGANI et al., 2013).

Os tipos mais comuns de microplásticos registrados na literatura em todo o mundo são os pellets, fragmentos e as fibras (FRIAS et al., 2018). Na última década, a presença dos microplásticos passou a ser considerada como um novo poluente e registrou-se um grande aumento de investimentos em escala global neste novo campo de pesquisa (FRIAS; NASH, 2019).

1.3 Métodos de detecção e caracterização de microplásticos

A falta de padronização nos métodos de isolamento para os diversos microplásticos encontrados na biota, principalmente nas partes internas, cavidades e tecidos corporais, ou ainda emaranhados aderidos externamente ao corpo, representa um dos maiores desafios para as pesquisas sobre esse poluente (O'CONNOR et al., 2019).

O processo de identificação dessas partículas consiste em análises baseadas em duas etapas: extração/purificação e quantificação e/ou identificação. Os microplásticos devem primeiro ser separados da matriz inicial para melhorar e simplificar o processo de quantificação e/ou identificação (LI; LIU; CHEN, 2018).

Ao contrário da extração dos microplástico de sedimentos que se baseia exclusivamente na separação por densidade, nos organismos aquáticos os métodos de extração são baseados principalmente na digestão úmida com ácidos, bases ou até mesmo peróxido de hidrogênio (PICO; ALFARHAN; BARCELO, 2019), mas podem também ser separados por diferença de concentração do meio por flutuação, adicionando sal (geralmente cloreto de sódio e iodeto de sódio) com posterior filtração e separação dos fragmentos por tamanho pelo método de peneiramento utilizando peneiras de vários tamanhos (ROCHA-SANTOS; DUARTE, 2015).

Entre os vários métodos de extração de fragmentos de microplásticos das amostras biológicas, os mais recentes são a digestão enzimática (COLE et al., 2014; LÖDER et al., 2017; COURTENE-JONES et al., 2017) e os tratamentos químicos com oxidantes, ácidos, bases, devido ao seu menor custo de aquisição e fácil recuperação para novas extrações (KLEIN et al., 2018).

Estudos recentes envolvendo a extração de microplástico em invertebrados de água doce (*Chironomus* spp.) foi realizado utilizando ácidos minerais fortes, como o ácido nítrico (HNO_3) (NEL; DALU; WASSERMAN, 2018). No entanto, o ácido nítrico foi relatado como causador de degradação e danos aos polímeros sensíveis por exemplo, poliamida (PA) e poliestireno (PS) por Claessens et al. (2013). Dependendo do órgão ou organismo em análise são usadas bases como alternativa (por exemplo, 10% de KOH) (FOEKEMA et al., 2013; WANG et al., 2017) ou oxidantes (por exemplo, 30% de H_2O_2) (ANDERSON et al., 2017).

Os métodos de extração dos microplásticos podem também ser realizados de forma mais simples utilizando apenas a água destilada e com posterior secagem em estufa a 70 °C durante a noite, em seguida, os microplásticos são separados da matéria orgânica usando uma pinça (SILVA-CAVALCANTI et al., 2017).

Nas extrações de fragmentos de microplásticos de amostras biológicas, os métodos mais recomendados e utilizados são a observação visual pós-dissecação ou a triagem que não utilizam produtos químicos. Esses métodos são os mais utilizados para identificar e separar os microplásticos presentes na biota de água doce, particularmente onde é necessário que restos alimentares sejam mantidos intactos (O'CONNOR et al., 2019).

A dissecação seguida pelo enxágue do trato gastrointestinal com água é um protocolo também muito utilizado, podendo ser realizado em estudos de campo, durante a captura dos organismos, sem o risco de gerar resíduos químicos (FAURE et al., 2015; SILVA-CAVALCANTI et al., 2017; VENDEL et al., 2017; HORTON et al., 2018).

Para garantir uma avaliação confiável na identificação precisa dos fragmentos de microplásticos, é necessário que o polímero seja identificado quimicamente por técnicas espectroscópicas, como a Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) (LARES et al., 2018; TAGG et al., 2015), Raman (COLLARD et al., 2015, IMHOF et al., 2016) ou técnicas de pirólise-GC-MS (MCCORMICK et al., 2016; HENDRICKSON; MINOR; SCHREINER, 2018). No entanto, a maioria dos estudos ainda identifica e quantifica os microplásticos por inspeção visual e nesses casos, utilizam-se

imagens de resolução adequada capturadas por microscópios ópticos (PICO; ALFARHAN; BARCELO, 2019).

A espectroscopia FTIR é frequentemente usada para a análise qualitativa de microplásticos (menores que 10 μm), pois permite uma identificação rápida e com padrões de espectros de plásticos conhecidos (QIU et al., 2016). Essa investigação espectroscópica é realizada em todas as partículas isoladas sem nenhuma seleção visual antes da análise. Com relação à espectroscopia FTIR, a técnica de refletância total atenuada é bastante utilizada (ATR) (PICO; ALFARHAN; BARCELO, 2019). Essa técnica (ATR-micro-FTIR) melhora a resolução espacial com a combinação da microscopia. Essa é uma das técnicas mais confiáveis produzindo espectros de alta qualidade (MENDOZA; BALCER, 2019).

A espectroscopia Raman também é bastante utilizada (COLE et al., 2013, COLLARD et al., 2015, IMHOF et al., 2016, QIU et al., 2016). A espectroscopia Raman como técnica analítica de superfície permite o estudo de partículas grandes e visualmente classificadas. A técnica micro-Raman permite a análise espectral de filtros inteiros em uma resolução espacial abaixo de 1 μm (IMHOF et al., 2016, ZHAO et al., 2017). O uso da espectroscopia micro-RAMAN também é recomendado com ressalvas, pois esse método tem interferência dos sinais de pigmentos (MENDOZA; BALCER, 2019).

A cromatografia gasosa de pirólise acoplada à espectrometria de massa (GC / MS) é outra técnica registrada na literatura (FABBRI, 2001; FRIES et al., 2013), que baseia-se na degradação térmica de microplásticos para sua análise, e, portanto, é destrutiva do material da amostra (MENDOZA; BALCER, 2019).

1.4 Riscos e impactos na fauna aquática

Os microplásticos, por apresentarem tamanhos reduzidos, podem estar disponíveis para a ingestão por uma variedade de táxons incluindo zooplâncton (DESFORGES et al., 2015; COLE et al., 2013), moluscos (AVIO et al., 2015; BROWNE et al., 2008), peixes (LUSHER et al., 2013; NELMS et al., 2018), aves (AMELINEAU et al., 2016), e mamíferos marinhos (LUSHER et al., 2015; NELMS et al., 2018).

Além dos diversos grupos de animais já investigados, a ingestão e os efeitos desses microplásticos também já foram registrados para algumas espécies de crustáceos como: os cladóceros *Daphnia magna* Straus, 1820, estudado por Jemec et al. (2016) e Rosenkranz et

al. (2009), *Daphnia galeata* Sars, 1863, por Cui, Kim e An (2017) e o anfípode *Talitrus saltator* (Montagu, 1808) por Iannilli et al. (2015).

Crustáceos decápodos, como os caranguejos do gênero *Carcinus*, são os que possuem mais registros de contaminação, como a espécie *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758) estudado por Farrell e Nelson (2013) e Watts et al. (2014, 2015, 2016) e a espécie *Carcinus aestuarii* Nardo, 1847 verificado por Piarulli et al. (2019). Outros braquiúros também foram estudados, como a espécie asiática *Eriocheir sinensis* Milne Edwards, 1853 por Wójcik-Fudalewska, Normant-Saremba e Anastácio (2016) e o caranguejo *Panopeus herbstii* Milne Edwards, 1834 por Waite, Donnelly e Walters (2018).

Camarões e lagostins também já foram estudados quanto à contaminação por microplásticos, como o lagostim *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758) por Murray e Cowie, (2011) e os camarões das espécies *Crangon crangon* (Linnaeus, 1758) por Devriese et al. (2015) e *Aristeus antennatus* (Risso, 1816) por Carreras-Colom et al. (2018).

Os experimentos de Farrell e Nelson (2013) identificaram os microplásticos no intestino do caranguejo de costão rochoso *Carcinus maenas* por ingestão indireta de mexilhões (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758). Watts et al. (2014) mostraram que essa espécie de caranguejo não só ingere os microplásticos juntamente com os alimentos, mas também acumulam partículas na cavidade branquial, podendo causar prejuízos ao animal. Nos estudos de Watts et al. (2016), seus resultados descrevem os efeitos fisiológicos dos microplásticos e a resiliência fisiológica dessas espécie quanto à função osmorregulatória e respiratória, após exposição aguda tanto a plásticos antropogênicos como à partículas naturais nos caranguejos *Carcinus maenas*. Um teste de toxicidade de 21 dias com o caranguejo *Eriocheir sinensis* sugeriu que a taxa de ganho de peso, taxa de crescimento específico e índice hepatossomático diminuíram com o aumento da concentração de microplásticos (YU et al., 2018).

1.5 Presença de microplásticos em ecossistemas de água doce

Os detritos plásticos são amplamente reconhecidos como um importante poluente ambiental marinho (CARVALHO; NETO, 2016), também são encontrados frequentemente na água doce e podem apresentar grande quantidade de partículas e fibras. Poucos esforços investigativos têm sido realizados com objetivo de monitorar os microplásticos nos diversos tipos de ambientes limnéticos (LI; LIU; CHEN, 2018).

De acordo com Klein et al. (2018), a água doce pode ser considerada uma fonte de contaminação de microplásticos, principalmente quando oriunda de estações de tratamento de águas residuais. Esses mesmos autores mencionaram que os cursos d'água (rios) agem como meio de transferência e os lagos como um tanque que deposita as partículas de microplásticos. Essa variação de corpos d'água pode diferir da dinâmica do ambiente marinho, que são influenciados apenas pelas correntes marinhas. (KLEIN et al., 2018).

A origem dos microplásticos depende do tipo de material e a atividade em que foi utilizado. Segundo Dris et al. (2015), a degradação do plástico descartável utilizado como material de embalagem, os abrasivos industriais e a quebra de certas fibras sintéticas das roupas por processo de lavagem influenciam na quantidade de microplásticos formados.

Segundo Lambert e Wagner (2018), menos de 4 % dos estudos relacionados a microplásticos estão associados aos ambientes dulcícolas. Assim, a pesquisa sobre a poluição por plásticos em água doce é um campo relativamente novo, com a maior parte dos estudos realizados em países economicamente mais desenvolvidos da Europa e da América do Norte (LEBRETON et al., 2017).

Entre os estudos disponíveis para os ambientes de águas continentais, há registros de contaminação de microplásticos em lagos (FAURE et al., 2012; ERIKSEM et al., 2013; FREE et al., 2014; FISCHER et al., 2016; BLETTLER et al., 2017; SIGHICELLI et al., 2018;), rios (RECH et al., 2014; EERKES-MEDRANO et al., 2015; RECH et al., 2015; HORTON et al., 2017^a; FORREST et al., 2019) e alguns raros registros para a fauna dulcícola (FAURE, 2012; IMHOF et al., 2013; SANCHEZ et al., 2014).

Nos últimos 10 anos, diversos ambientes aquáticos tem sido estudados quanto a presença de plásticos e sua contaminação na fauna brasileira. Os estuários brasileiros aparecem como os mais estudados, com destaque para o Estuário de Goiana (POSSATTO et al., 2011; DANTAS; BARLETTA; COSTA, 2012; RAMOS; BARLETTA; COSTA, 2012), Estuário do Rio da Prata (PAZOS et al., 2017) e Estuário do Rio Amazonas (PEGADO et al., 2018), seguido pelos registros em rios como o Rio Pajeú (SILVA-CAVALCANTI et al., 2017), Rio Xingu (ANDRADE et al., 2019) e na transição do ambiente marinho, com estudos na Baía de Guanabara (CARVALHO; NETO, 2016) e Praia de Corvina (FILHO; MONTEIRO, 2019).

Segundo Andrade et al. (2019), a poluição plástica na área estuarina da região amazônica já afeta a fauna aquática, com evidências de ingestão de plástico por peixes de

água doce e estuarinos com hábitos alimentares diversos (PEGADO et al., 2018; ANDRADE et al., 2019). Estes resíduos plásticos provavelmente são originários de apetrechos de pesca perdidos e descartados, enquanto outros plásticos são oriundos de lixo descartado em toda a bacia hidrográfica e transportado pelo rio (ANDRADE et al., 2019).

Pesquisadores estimam que o Rio Amazonas possa transportar 38.900 (entre 32.200 e 63.800) toneladas por ano de lixo plástico, tornando-o o 7º maior rio poluidor do mundo (LEBRETON et al., 2017). Existe pouca informação sobre a dinâmica desses resíduos plásticos, principalmente no fluxo, a distribuição e os impactos desse material na Amazônia. Os dados publicados sobre microplásticos na bacia amazônica são limitados a estudos sobre ingestão acidental de peixes marinhos (PEGADO et al., 2018) e peixes de água doce (ANDRADE et al., 2019) além de registro dos efeitos biológicos desse poluente no peixe ciclídeo (*Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin, 1904) realizados em ambiente controlado (WEN et al., 2018^a, WEN et al., 2018b).

A frequência de ocorrência de microplásticos no trato gastrointestinal de peixes estuarinos amazônicos é elevada, representando 30% de todas as espécies analisadas (PEGADO et al., 2018). Para Andrade et al. (2019) embora tenham examinado o conteúdo estomacal de espécies apenas da família Serrasalminidae, houve registro de que a frequência de ocorrência desse poluente também é elevada. Ambos os estudos ressaltam que a presença de microplástico na ictiofauna podem estar impactando as populações da região amazônica.

1.6 Considerações finais: risco de contaminação no caranguejo *Dilocarcinus pagei*

Dilocarcinus pagei é uma espécie de caranguejo endêmicas da América do Sul tropical apresentando ampla distribuição geográfica (MAGALHÃES et al., 2005). Na região amazônica, ocorre tipicamente nas áreas de várzea dos rios e lagos, em remansos e em áreas pantanosas, desenvolvendo-se muito bem em águas lânticas, principalmente nos sistemas hídricos de água branca, onde é frequentemente encontrada associada à vegetação aquática (MAGALHÃES, 2016).

Esta espécie de braquiúro se adapta em regiões próximas às áreas urbanizadas, onde foi provavelmente introduzida por ações antrópicas, como no reservatório da represa hidrelétrica de Marimondo-Furnas, no Rio Grande (Estado de São Paulo) (MAGALHÃES, 2016) e Bacia do Alto Rio Paraná (MAGALHÃES et al., 2005). No entanto, não existem

registros de contaminação, nem sobre os possíveis efeitos da presença dos microplásticos nesta espécie.

Todavia, essas partículas de microplásticos vêm sendo encontradas em grande variedade e quantidade em ambientes de água doce em todo o mundo, incluindo lagos e rios, com exposição cada vez mais frequente dos organismos aquáticos (HORTON et al., 2017b). Dependendo do tamanho da partícula e dos traços fisiológicos e comportamentais do organismo, há uma oportunidade para a ingestão desse poluente por animais invertebrados (HORTON et al., 2017b). Estudos que avaliem os riscos de contaminação nesta espécie de crustáceo são importantes, tendo em vista que esse problema pode trazer consequências já observadas em outros organismos, como notáveis alterações histológicas e respostas inflamatórias em nível celular (VON MOOS et al., 2012), alterações nas funções ecofisiológicas (BROWNE et al., 2013), estresse fisiológico (ROCHMAN et al., 2013), redução da alimentação combinada com esgotamento das reservas de energia e falso saciamento (WRIGHT et al., 2013). Assim, o presente estudo traz informações importantes sobre os efeitos no crescimento e sobrevivência que possam ocorrer a partir da ingestão de microplásticos e a função do caranguejo *Dilocarcinus pagei* em relação a fragmentação desse poluente.

REFERÊNCIAS

- AMELINEAU, F.; BONNET, D.; HEITZ, O.; MORTREUX, V.; HARDING, A. M. A.; KARNOVSKY, N.; WALKUSZ, W.; FORT, J.; GREMILLET, D. Microplastic pollution in the Greenland Sea: Background levels and selective contamination of planktivorous diving seabirds. **Environmental Pollution**, v. 219, p. 1131-1139, 2016.
- ANDERSON, P. J.; WARRACK, S.; LANGEN, V.; CHALLIS, J. K.; HANSON, M. L.; RENNIE, M. D. Microplastic contamination in lake Winnipeg, Canada. **Environmental Pollution**, v. 225, p. 223-231, 2017.
- ANDRADE, M. C.; WINEMILLER, K. O.; BARBOSA, P. S.; FORTUNATI, A.; CHELAZZI, D.; CINCINELLI, A.; GIARRIZZO, T. First account of plastic pollution impacting freshwater fishes in the Amazon: Ingestion of plastic debris by piranhas and other serrasalmids with diverse feeding habits. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 766-773, 2019
- ANDRADY, A.L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 8, p. 1596-1605, 2011.
- ARTHUR, C.; BAKER, J. E.; BAMFORD, H. A. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris , **University of Washington Tacoma**, Tacoma, WA, USA. P. 1-17. 2009.
- AVIO, C. G.; GORBI, S.; MILAN, M.; BENEDETTI, M.; FATTORINI, D.; D'ERRICO, G.; PAULETTO, M.; BARGELLONI, L.; REGOLI, F. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. **Environmental Pollution**, v. 198, p. 211-222, 2015.
- BARNES, D. K.; GALGANI, F.; THOMPSON, R. C.; BARLAZ, M. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 364, n. 1526, p. 1985-1998, 2009.
- BLETTLER, M. C.; ULLA, M. A.; RABUFFETTI, A. P.; GARELLO, N. Plastic pollution in freshwater ecosystems: macro-, meso-, and microplastic debris in a floodplain lake. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 11, p. 581-581, 2017.
- BROWNE, M. A.; GALLOWAY, T.; THOMPSON, R. Microplastic—an emerging contaminant of potential concern? **Integrated Environmental Assessment and Management: An International Journal**, v. 3, n. 4, p. 559-561, 2007.

BROWNE, M. A.; DISSANAYAKE, A.; GALLOWAY, T. S.; LOWE, D. M.; THOMPSON, R. C. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 13, p. 5026-5031, 2008.

BROWNE, M.A.; NIVEN, S.J.; GALLOWAY, T.S.; ROWLAND, S.J.; THOMPSON, R.C. Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. **Current Biology**, v. 23, n. 23, p. 2388-2392, 2013.

BROWNE, M. A. Sources and pathways of microplastics to habitats. In: BERGMANN, M.; GUTOW, L.; KLAGES, M. (Eds.) **Marine Anthropogenic Litter**. Springer, Cham, 2015. p. 229-244.

CARRERAS-COLOM, E.; CONSTENLA, M.; SOLER-MEMBRIVES, A.; CARTES, J. E.; BAEZA, M.; PADRÓS, F.; CARRASSÓN, M. Spatial occurrence and effects of microplastic ingestion on the deep-water shrimp *Aristeus antennatus*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 133, p. 44-52, 2018.

CARPENTER, E. J.; SMITH, K. L. Plastics on the Sargasso Sea surface. **Science**, v. 175, n. 4027, p. 1240-1241, 1972.

CARPENTER, E.J.; ANDERSON, S.J.; HARVEY, G.R.; MIKLAS, H.P.; PECK, B.B. Polystyrene spherules in coastal waters. **Science**, v. 178, n. 4062, p. 749-750, 1972.

CARVALHO, D.G.; NETO, J. A. B. Microplastic pollution of the beaches of Guanabara Bay, Southeast Brazil. **Ocean & Coastal Management**, v. 128, p. 10-17, 2016.

CLAESSENS, M.; VAN CAUWENBERGHE, L.; VANDEGEHUCHTE, M. B.; JANSSEN, C. R. New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. **Marine Pollution Bulletin**, v. 70, n. 1-2, p. 227-233, 2013.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T. S. Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 12, p. 2588-2597, 2011.

COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; GALLOWAY, T.S. Microplastic ingestion by zooplankton. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 12, p. 6646-6655, 2013.

COLE, M.; WEBB, H.; LINDEQUE, P.K.; FILEMAN, E.S.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T.S. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. **Scientific Reports**, v. 4, n. 4528, p. 1-8, 2014.

COLLARD, F.; GILBERT, B.; EPPE, G.; PARMENTIER, E.; DAS, K. Detection of anthropogenic particles in fish stomachs: an isolation method adapted to identification by Raman spectroscopy. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 3, p. 331-339, 2015.

COURTENE-JONES, W.; QUINN, B.; MURPHY, F.; GARY, S. F.; NARAYANASWAMY, B. E. Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods for the analysis of ingested microplastics. **Analytical Methods**, v. 9, n. 9, p. 1437-1445, 2017.

CUI, R.; KIM, S. W.; AN, Y. J. Polystyrene nanoplastics inhibit reproduction and induce abnormal embryonic development in the freshwater crustacean *Daphnia galeata*. **Scientific Reports**, v. 7, n. 12095, p. 1-10, 2017.

DANTAS, D. V.; BARLETTA, M.; DA COSTA, M. F. The seasonal and spatial patterns of ingestion of polyfilament nylon fragments by estuarine drums (*Sciaenidae*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 2, p. 600-606, 2012.

DESFORGES, J. P. W.; GALBRAITH, M.; ROSS, P. S. Ingestion of microplastics by zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 3, p. 320-330, 2015.

DEVRIESE, L. I.; VAN DER MEULEN, M. D.; MAES, T.; BEKAERT, K.; PAUL-PONT, I.; FRÈRE, L.; ROBBENS, J.; VETHAAK, A. D. Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. **Marine Pollution Bulletin**, v. 98, n. 1-2, p. 179-187, 2015.

DRIS, R.; IMHOF, H.; SANCHEZ, W.; GASPERI, J.; GALGANI, F.; TASSIN, B.; LAFORSCH, C. Beyond the ocean: contamination of freshwater ecosystems with (micro-) plastic particles. **Environmental Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 539-550, 2015.

EERKES-MEDRANO, D.; THOMPSON, R. C.; ALDRIDGE, D. C. Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. **Water Research**, v. 75, p. 63-82, 2015.

ERIKSEN, M.; MASON, S.; WILSON, S.; BOX, C.; ZELLERS, A.; EDWARDS, W.; FARLEY, H.; AMATO, S. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 77, n. 1-2, p. 177-182, 2013.

FABBRI, D. Use of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to study environmental pollution caused by synthetic polymers: a case study: the Ravenna Lagoon. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 58, p. 361-370, 2001.

FAURE, F.; CORBAZ, M.; BAECHER, H.; NEUHAUS, V.; DE ALENCASTRO, L. Pollution due to plastics and microplastics in Lake Geneva and in the Mediterranean Sea. **Archives des Sciences**, v. 65, p. 157-164, 2012.

FAURE, F.; DEMARS, C.; WIESER, O.; KUNZ, M.; DE ALENCASTRO, L. F. Plastic pollution in Swiss surface waters: nature and concentrations, interaction with pollutants. **Environmental Chemistry**, v. 12, n. 5, p. 582-591, 2015.

FARRELL, P.; NELSON, K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). **Environmental Pollution**, v. 177, p. 1-3, 2013.

FILHO, J. E. M.; MONTEIRO, R. C. P. Widespread microplastics distribution at an Amazon macrotidal sandy beach. **Marine Pollution Bulletin**, v. 145, p. 219-223, 2019.

FISCHER, E. K.; PAGLIALONGA, L.; CZECH, E.; TAMMINGA, M. Microplastic pollution in lakes and lake shoreline sediments—A case study on Lake Bolsena and Lake Chiusi (central Italy). **Environmental Pollution**, v. 213, p. 648-657, 2016.

FOEKEMA, E. M.; DE GRUIJTER, C.; MERGIA, M. T.; VAN FRANEKER, J. A.; MURK, A. J.; KOELMANS, A. A. Plastic in north sea fish. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 15, p. 8818-8824, 2013.

FORREST, S. A.; HOLMAN, L.; MURPHY, M.; VERMAIRE, J. C. Citizen science sampling programs as a technique for monitoring microplastic pollution: results, lessons learned and recommendations for working with volunteers for monitoring plastic pollution in freshwater ecosystems. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 191, n. 3, p. 172-172, 2019.

FREE, C. M.; JENSEN, O. P.; MASON, S. A.; ERIKSEN, M.; WILLIAMSON, N. J.; BOLDGIV, B. High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 1, p. 156-163, 2014.

FRIAS, J.; NASH, R.; PAGTER, E.; O'CONNOR, I. Standardised protocol for monitoring microplastics in sediments. **JPI-Oceans BASEMAN Project**. p 1–23, 2018.

FRIAS, J. P. G. L.; NASH, R. Microplastics: Finding a consensus on the definition. **Marine Pollution Bulletin**, v. 138, p. 145-147, 2019.

FRIES, E.; DEKIFF, J. H.; WILLMEYER, J.; NUELLE, M. T.; EBERT, M.; REMY, D. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 15, n. 10, p. 1949-1956, 2013.

GALGANI, F.; HANKE, G.; WERNER, S. D. V. L.; DE VREES, L. (2013). Marine litter within the European marine strategy framework directive. **ICES Journal of Marine Science**, v. 70, n. 6, p. 1055-1064, 2013.

HENDRICKSON, E.; MINOR, E. C.; SCHREINER, K. Microplastic abundance and composition in western Lake Superior as determined via microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR. **Environmental Science & Technology**, v. 52, n. 4, p. 1787-1796, 2018.

HORTON, A. A.; SVENDSEN, C.; WILLIAMS, R. J.; SPURGEON, D. J.; LAHIVE, E. Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK—Abundance, sources and methods for effective quantification. **Marine Pollution Bulletin**, v. 114, n. 1, p. 218-226, 2017a.

HORTON, A. A.; WALTON, A.; SPURGEON, D. J.; LAHIVE, E.; SVENDSEN, C. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 127-141, 2017b.

HORTON, A. A.; JÜRGENS, M. D.; LAHIVE, E.; VAN BODEGOM, P. M.; VIJVER, M. G. The influence of exposure and physiology on microplastic ingestion by the freshwater fish *Rutilus rutilus* (roach) in the River Thames, UK. **Environmental Pollution**, v. 236, p. 188-194, 2018.

IANNILLI, V.; DI GENNARO, A.; LECCE, F.; SIGHICELLI, M.; FALCONIERI, M.; PIETRELLI, L.; POETA, G.; BATTISTI, C. Microplastics in *Talitrus saltator* (Crustacea, Amphipoda): new evidence of ingestion from natural contexts. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 28, p. 28725-28729, 2018.

IMHOF, H.K.; IVLEVA, N.P.; SCHMID, J.; NIESSNER, R.; LAFORSCH, C. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. **Current Biology**, v. 23, n. 19, p. 867-868, 2013.

IMHOF, H. K.; LAFORSCH, C.; WIESHEU, A. C.; SCHMID, J.; ANGER, P. M.; NIESSNER, R.; IVLEVA, N. P. Pigments and plastic in limnetic ecosystems: A qualitative and quantitative study on microparticles of different size classes. **Water Research**, v. 98, p. 64-74, 2016.

JAMBECK, J.R.; GEYER, R.; WILCOX, C.; SIEGLER, T.R.; PERRYMAN, M.; ANDRADY, A.L.; NARAYAN, R.; LAW, K.L. Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, v. 347, n. 6223, p. 768-771, 2015.

JEMEC, A.; HORVAT, P.; KUNEJ, U.; BELE, M.; KRŽAN, A. Uptake and effects of microplastic textile fibers on freshwater crustacean *Daphnia magna*. **Environmental Pollution**, v. 219, p. 201-209, 2016.

KLEIN, S.; DIMZON, I. K.; EUBELER, J.; KNEPPER, T. P. Analysis, occurrence, and degradation of microplastics in the aqueous environment. In: Wagner, M.; Lambert, S.; Lambert, M. W. **Freshwater Microplastics**, Springer, Cham, 2018. p. 51-67.

LAMBERT, S.; WAGNER, M. Microplastics are contaminants of emerging concern in freshwater environments: an overview. In: _____. **Freshwater Microplastics**. Springer, Cham, 2018. p. 1-23.

LARES, M.; NCIBI, M. C.; SILLANPÄÄ, M.; SILLANPÄÄ, M. Occurrence, identification and removal of microplastic particles and fibers in conventional activated sludge process and advanced MBR technology. **Water Research**, v. 133, p. 236-246, 2018.

LEBRETON, L. C.; VAN DER ZWET, J.; DAMSTEEG, J. W.; SLAT, B.; ANDRADY, A.; REISSER, J. River plastic emissions to the world's oceans. **Nature Communications**, v. 8, n. 15611. p. 1-10, 2017.

LI, J.; LIU, H.; CHEN, J. P. Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. **Water Research**, v. 137, p. 362-374, 2018.

LÖDER, M. G. J.; IMHOF, H. K.; LADEHOFF, M.; LÖSCHEL, L. A.; LORENZ, C.; MINTENIG, S.; PIEHL, S.; PRIMPKE, S.; SCHRANK, I.; LAFORSCH, C.; GERDTS, G. Enzymatic purification of microplastics in environmental samples. **Environmental Science & Technology**, v. 51, n. 24, p. 14283-14292, 2017.

LUSHER, A. L.; MCHUGH, M.; THOMPSON, R. C. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. **Marine Pollution Bulletin**, v. 67, n. 1-2, p. 94-99, 2013.

LUSHER, A. L.; HERNANDEZ-MILIAN, G.; O'BRIEN, J.; BERROW, S.; O'CONNOR, I.; OFFICER, R. Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: the True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. **Environmental Pollution**, v. 199, p. 185-191, 2015.

MAGALHÃES, C.; BUENO, S. L. S.; BOND-BUCKUP, G.; VALENTI, W. C.; DA SILVA, H. L. M.; KIYOHARA, F.; MOSSOLIN, E.C.; ROCHA, S. S. Exotic species of freshwater decapod crustaceans in the state of São Paulo, Brazil: records and possible causes of their introduction. **Biodiversity & Conservation**, v. 14, n. 8, p. 1929-1945, 2005.

MAGALHÃES, C. Avaliação dos Caranguejos tricodactídeos (Decapoda: Trichodactylidae). In: Pinheiro, M.A.A. Boos, H. (Org.). **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014**. Porto Alegre, RS:Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016.p. 420-440.

MCCORMICK, A. R.; HOELLEIN, T. J.; LONDON, M. G.; HITTIE, J.; SCOTT, J. W.; KELLY, J. J. Microplastic in surface waters of urban rivers: concentration, sources, and associated bacterial assemblages. **Ecosphere**, v. 7, n. 11, p. 1-22, 2016.

MENDOZA, L. M. R.; BALCER, M. Microplastics in freshwater environments: A review of quantification assessment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 113, p. 402-408, 2019.

MURRAY, F.; COWIE, P.R. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 6, p. 1207-1217, 2011.

NEL, H. A.; DALU, T.; WASSERMAN, R. J. Sinks and sources: Assessing microplastic abundance in river sediment and deposit feeders in an Austral temperate urban river system. **Science of the Total Environment**, v. 612, p. 950-956, 2018.

NELMS, S. E.; GALLOWAY, T. S.; GODLEY, B. J.; JARVIS, D. S.; LINDEQUE, P. K. Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environmental Pollution*, v. 238, p. 999-1007, 2018.

NG, K. L.; OBBARD, J. P. Prevalence of microplastics in Singapore's coastal marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, n.7, p. 761-767, 2006.

O'CONNOR, J. D.; MAHON, A. M.; RAMSPERGER, A. F.; TROTTER, B.T.; REDONDO-HASSELERHARM, P. E.; KOELMANS, A. A.; Lally, H.T.; MURPHY, S. Microplastics in Freshwater Biota: A Critical Review of Isolation, Characterization, and Assessment Methods. **Global Challenges**, n. 1800118, p 7-10, 2019.

PAZOS, R. S.; MAIZTEGUI, T.; COLAUTTI, D. C.; PARACAMPO, A. H.; GÓMEZ, N. Microplastics in gut contents of coastal freshwater fish from Río de la Plata estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 122, n. 1-2, p. 85-90, 2017.

PEGADO, T. S. S.; SCHMID, K.; WINEMILLER, K. O.; CHELAZZI, D.; CINCINELLI, A.; DEI, L.; GIARRIZZO, T. First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 133, p. 814-821, 2018.

PIARULLI, S.; SCAPINELLO, S.; COMANDINI, P.; MAGNUSSON, K.; GRANBERG, M.; WONG, J. X.; SCIUTTO, G.; PRATI, S.; MAZZEO, R.; BOOTH M. A.; AIROLDI, L. Microplastic in wild populations of the omnivorous crab *Carcinus aestuarii*: A review and a regional-scale test of extraction methods, including microfibrils. **Environmental Pollution**, v. 251, p. 117-127, 2019.

PICO, Y.; ALFARHAN, A.; BARCELO, D. Nano-and microplastic analysis: Focus on their occurrence in freshwater ecosystems and remediation technologies. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 113, p. 409-425, 2019.

PLASTICSEUROPE. Plastics – The Facts 2013: An Analysis of European Latest Plastics Production, Demand and Waste Data. **Plastics Europe**, Brussels, Belgium, p. 1-40, 2013.

PLASTICSEUROPE. Plastics - The Facts 2019: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data. **Plastics Europe**, Brussels, Belgium p. 1-39, 2019.

POSSATTO, F. E.; BARLETTA, M.; COSTA, M. F.; DO SUL, J. A. I.; DANTAS, D. V. Plastic debris ingestion by marine catfish: an unexpected fisheries impact. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 5, p. 1098-1102, 2011.

QIU, Q.; TAN, Z.; WANG, J.; PENG, J.; LI, M.; ZHAN, Z. Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 176, p. 102-109, 2016.

RAMOS, J. A.; BARLETTA, M.; COSTA, M. F. Ingestion of nylon threads by Gerreidae while using a tropical estuary as foraging grounds. **Aquatic Biology**, v. 17, n. 1, p. 29-34, 2012.

RECH, S.; MACAYA-CAQUILPÁN, V.; PANTOJA, J. F.; RIVADENEIRA, M. M.; MADARIAGA, D. J.; THIEL, M. Rivers as a source of marine litter—A study from the SE Pacific. **Marine Pollution Bulletin**, v. 82, n. 1-2, p. 66-75, 2014.

RECH, S.; MACAYA-CAQUILPÁN, V.; PANTOJA, J. F.; RIVADENEIRA, M. M.; CAMPODÓNICO, C. K.; THIEL, M. Sampling of riverine litter with citizen scientists—findings and recommendations. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 6, p. 1-18, 2015.

ROCHA-SANTOS, T.; DUARTE, A. C. A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 65, p. 47-53, 2015.

ROCHMAN, C. M.; HOH, E.; KUROBE, T.; THE, S.J. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. **Scientific Reports**, v. 3, n. 3263, p. 1-7, 2013.

ROSENKRANZ, P.; CHAUDHRY, Q.; STONE, V.; FERNANDES, T. F. A comparison of nanoparticle and fine particle uptake by *Daphnia magna*. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 28, n. 10, p. 2142-2149, 2009.

RYAN, P. G.; MOORE, C. J.; VAN FRANEKER, J. A.; MOLONEY, C. L. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 1999-2012, 2009.

SANCHEZ, W.; BENDER, C.; PORCHER, J. M. Wild gudgeons (*Gobio gobio*) from French rivers are contaminated by microplastics: preliminary study and first evidence. **Environmental Research**, v. 128, p. 98-100, 2014.

SIGHICELLI, M.; PIETRELLI, L.; LECCE, F.; IANNILLI, V.; FALCONIERI, M.; COSCIA, L.; DI VITO, S.; SIMONE, N.; ZAMPETTI, G. Microplastic pollution in the surface waters of Italian Subalpine Lakes. **Environmental Pollution**, v. 236, p. 645-651, 2018.

SILVA-CAVALCANTI, J. S.; SILVA, J. D. B.; DE FRANÇA, E. J.; DE ARAÚJO, M. C. B.; GUSMÃO, F. Microplastics ingestion by a common tropical freshwater fishing resource. **Environmental Pollution**, v. 221, p. 218-226, 2017.

SHASHOUA, Y. Historical Development of Plastics. In: _____. **Conservation of Plastics: materials science, degradation and preservation**. Butterworth-Heinemann, Oxford, 2008, p. 19-36.

TAGG, A. S.; SAPP, M.; HARRISON, J. P.; OJEDA, J. J. Identification and quantification of microplastics in wastewater using focal plane array-based reflectance micro-FT-IR imaging. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 12, p. 6032-6040, 2015.

THOMPSON, R. C.; OLSEN, Y.; MITCHELL, R. P.; DAVIS, A.; ROWLAND, S. J.; JOHN, A. W.; MCGONIGLE, D.; RUSSELL, A. E. Lost at sea: where is all the plastic?. **Science**, v. 304, n. 5672, p. 838-838, 2004.

THOMPSON, R. C.; MOORE, C. J.; VOM SAAL, F. S.; SWAN, S. H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2153-2166, 2009.

VENDEL, A. L.; BESSA, F.; ALVES, V. E. N.; AMORIM, A. L. A.; PATRÍCIO, J.; PALMA, A. R. T. Widespread microplastic ingestion by fish assemblages in tropical estuaries subjected to anthropogenic pressures. **Marine Pollution Bulletin**, v. 117, n. 1-2, p. 448-455, 2017.

VON MOOS, N.; BURKHARDT-HOLM, P.; KÖHLER, A. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 20, p. 11327-11335, 2012.

WAITE, H. R.; DONNELLY, M. J.; WALTERS, L. J. Quantity and types of microplastics in the organic tissues of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* from a Florida estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 129, n. 1, p. 179-185, 2018.

WANG, Z. M.; WAGNER, J.; GHOSAL, S.; BEDI, G.; WALL, S. SEM/EDS and optical microscopy analyses of microplastics in ocean trawl and fish guts. **Science of the Total Environment**, v. 603, p. 616-626, 2017.

WATTS, A. J. R.; LEWIS, C.; GOODHEAD, R. M.; BECKETT, S. J.; MOGER, J.; TYLER, C. R.; GALLOWAY, T. S. Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 15, p. 8823-8830, 2014.

WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; CORR, S.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. Ingestion of plastic microfibers by the crab *Carcinus maenas* and its effect on food consumption and energy balance. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 24, p. 14597-14604, 2015.

WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. Effect of microplastic on the gills of the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 10, p. 5364-5369, 2016.

WEN, B.; JIN, S.R.; CHEN, Z.Z.; GAO, J.Z.; LIU, Y.N.; LIU, J.H.; FENG, X.S. Single and combined effects of microplastics and cadmium on the cadmium accumulation, antioxidant defence and innate immunity of the discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*). **Environmental Pollution**, v. 243, p. 462-471, 2018a.

WEN, B.; ZHANG, N.; JIN, S.-R.; CHEN, Z.-Z.; GAO, J.-Z.; LIU, Y.; LIU, H.-P.; XU, Z. Microplastics have a more profound impact than elevated temperatures on the predatory performance, digestion and energy metabolism of an Amazonian cichlid. **Aquatic Toxicology**, v. 195, p. 67-76, 2018b.

WÓJCIK-FUDALEWSKA, D.; NORMANT-SAREMBA, M.; ANASTÁCIO, P. Occurrence of plastic debris in the stomach of the invasive crab *Eriocheir sinensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, n. 1-2, p. 306-311, 2016.

WRIGHT, S.L.; ROWE, D.; THOMPSON, R.C.; GALLOWAY, T.S. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. **Current Biology**, v. 23, n. 23, p. R1031-R1033, 2013.

YU, P.; LIU, Z.; WU, D.; CHEN, M.; LV, W.; ZHAO, Y. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. **Aquatic Toxicology**, v. 200, p. 28-36, 2018.

ZHAO, S.; DANLEY, M.; WARD, J. E.; LI, D.; MINCER, T. J. An approach for extraction, characterization and quantitation of microplastic in natural marine snow using Raman microscopy. **Analytical Methods**, v. 9, n. 9, p. 1470-1478, 2017.

CAPÍTULO II

Ingestão e fragmentação de microplásticos pelo caranguejo de água doce *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 (Brachyura, Trichodactylidae)

RESUMO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a ingestão de microplástico, local de retenção e a probabilidade de fragmentação durante a digestão. Para verificar o consumo de microplásticos em diferentes tamanhos e concentrações, os animais foram acondicionados em caixas plásticas individualmente. Em média, 0,5 g de ração de origem animal balanceada foi disponibilizada durante um período de 5 dias misturado ao microplástico. Duas concentrações (0,5 % e 1 %) e duas classes de tamanho (0,5 e 1 mm) de microplástico foram testadas. Os animais foram agrupados em macho e fêmea e juvenis. Para avaliar o local de retenção das partículas e a capacidade de fragmentação, os caranguejos foram submetidos a ensaios alimentares com duração de 6 h. Para cada animal foi adicionado 0,5 % de microplástico de 0,5 mm misturado a 0,5 g de ração. Após uma única oferta de alimento, a cada 2 h, 5 animais de cada unidade experimental foram sacrificados. Fragmentos encontrados após a ingestão foram medidos, para o cálculo da diferença do tamanho médio da partícula inicial e final encontradas após ingestão. Não houve diferença significativa quando comparado à quantidade de alimento consumido entre macho e fêmea e entre adultos e juvenis. O consumo de alimento diminuiu com aumento da concentração e com o aumento do tamanho das partículas plásticas, mas somente na condição de 1 % de microplástico na ração houve alteração estatisticamente distinta dos demais tratamentos. Um total de 164 fragmentos foram encontrados no estômago, 170 no intestino, 149 nas fezes e 69 na câmara branquial. Não houve diferença estatística quando comparadas as médias do tamanho dos fragmentos entre adultos e juvenis e macho e fêmea. Quando comparado média dos tamanhos da amostra de controle com a média dos fragmentos encontrados na câmara branquial, estômago, intestino e fezes, esta foi maior que as demais, com exceção da câmara branquial. Os fragmentos encontrados nas fezes foram estatisticamente menores que aqueles encontrados no estômago e na câmara branquial. A média de tamanho dos microplásticos foi maior na amostra de controle, e quando comparada entre os períodos em que foram coletados, a mesma diferiu significativamente dos fragmentos coletados após 4 h e 6 h, enquanto que os fragmentos encontrados após 2h diferiram apenas daqueles encontrados após 6h de experimento. Concluiu-se que o caranguejo *Dilocarcinus pagei* é capaz de fragmentar os microplásticos ingeridos com o alimento, ocorrendo acúmulo em diferentes partes do corpo (estômago, intestino e câmara branquial) e após 6h, esses fragmentos são eliminados pelas fezes com um tamanho menor que aquele ingerido.

Palavra-chave: Polietileno, Crustacea, Fragmentos, Plástico.

ABSTRACT

The present study aims to evaluate microplastic intake, retention site and the probability of fragmentation during digestion. To verify the consumption of microplastics in different sizes and concentrations, the animals were individually wrapped in plastic boxes. On average, 0.5 g of balanced animal feed was made available over a 5 day period mixed with the microplastic. Two concentrations (0.5% and 1%) and two size classes (0.5 and 1 mm) of microplastic were tested. The animals were grouped in male and female and juveniles. To evaluate the particle retention site and fragmentation capacity, the crabs were subjected to 6 h food trials. To each animal was added 0.5% of 0.5 mm microplastic mixed with 0.5 g of feed. After a single food supply, every 2 h, 5 animals from each experimental unit were sacrificed. Fragments found after ingestion were measured to calculate the difference in mean initial and final particle size found after ingestion. There was no significant difference when compared to the amount of food consumed between male and female and between adults and juveniles. Food consumption decreased with increasing concentration and with increasing size of plastic particles, but only in the condition of 1% microplastic in the diet there was a statistically distinct change from other treatments. A total of 164 fragments were found in the stomach, 170 in the gut, 149 in the feces and 69 in the gill chamber. There was no statistical difference when comparing the mean fragment size between adults and juveniles and male and female. When compared the average of the control sample sizes with the average of the fragments found in the gill chamber, stomach, intestine and feces, it was larger than the others, except for the gill chamber. The fragments found in the feces were statistically smaller than those found in the stomach and gill chamber. The average size of the microplastics was larger in the control sample, and when compared between the periods in which they were collected, it differed significantly from fragments collected after 4 h and 6 h, while fragments found after 2h differed only from those found after 6h of experiment. It is concluded that the *Dilocarcinus pagei* crab is capable of fragmenting the microplastics ingested with the food, accumulating in different parts of the body (stomach, intestine and gill chamber) and after 6h, these fragments are eliminated by faeces smaller than the size ingested.

Keywords: Polyethylene, Crustacea, Fragments, Plastic

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa sobre poluição por plásticos em água doce é um campo relativamente novo e a maioria dos esforços tem sido realizada em países industrializados da Europa e da América do Norte (LEBRETON et al., 2017). Esses estudos revelam que os microplásticos estão presentes em lagos (FAURE et al., 2012; ERIKSEN et al., 2013; FREE et al., 2014; FISCHER et al., 2016; BLETTLER et al., 2017; SIGHICELLI et al., 2018) e rios, (RECH et al., 2014; EERKES-MEDRANO et al., 2015; RECH et al., 2015; HORTON et al., 2017a;) e podem ser ingeridos pela fauna aquática dulcícola (IMHOF et al., 2013; SANCHEZ et al., 2014).

O pequeno tamanho dos microplásticos facilitam a ingestão por uma variedade de táxons, iniciando por organismos menores como o zooplâncton (DESFORGES et al., 2015, COLE et al., 2013), moluscos (AVIO et al., 2015; BROWNE et al., 2008), aves (AMELINEAU et al., 2016), peixes (LUSHER et al., 2013; NELMS et al., 2018) e mamíferos marinhos (LUSHER et al., 2015; NELMS et al., 2018). Mesmo com vários estudos recentes, poucas informações estão disponíveis sobre os efeitos desses fragmentos nos crustáceos e a função desses organismos na fragmentação desse poluente.

A ingestão e os efeitos desses microplásticos já foram relatados em crustáceos decápodes. Farrell e Nelson (2013) identificaram fragmentos de microplásticos no intestino do caranguejo de costão rochoso *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758), adquiridos por ingestão indireta de mexilhões (*Mytilus edulis* Linnaeus, 1758). Watts et al. (2014) mostraram que essa espécie de caranguejo não só ingere os microplásticos juntamente com os alimentos, mas também acumulam partículas na cavidade branquial, podendo causar prejuízos ao animal. Nos estudos de Watts et al. (2016), seus resultados ilustram a extensão dos efeitos e resiliência fisiológicas em relação a manutenção da função osmorregulatória e respiratória após exposição aguda tanto a plásticos antropogênicos como de partículas naturais no caranguejo *Carcinus maenas*. A ocorrência de detritos plásticos também foi detectada no estômago do caranguejo estuarino *Eriocheir sinensis* H. Milne Edwards, 1853 por Wójcik-Fudalewska, Normant-Saremba e Anastácio (2016).

A família Trichodactylidae é composta por cerca de 50 espécies semiterrestres, distribuídos nas Américas Central e do Sul, desde o sul do México até a Argentina (YEO et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2016). *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861, é uma espécie

abundante na região amazônica, ocorre tipicamente nas áreas de várzea dos rios e lagos dos sistemas hídricos de água branca, onde é frequentemente encontrada associada à vegetação aquática, em remansos e em áreas pantanosas, desenvolvendo-se muito bem em águas lânticas (MAGALHÃES, 2016). Não há ainda registros sobre a contaminação, nem sobre os possíveis efeitos da presença dos microplásticos em ambientes de água doce nesta espécie, apesar de ser comumente encontrada próxima a áreas urbanas em todo o território brasileiro. Com a frequente ocorrência dessas partículas de microplásticos em grande variedade e quantidade em ambientes de água doce em todo o mundo, incluindo lagos e rios, é importante verificar a exposição e os efeitos nos organismos aquáticos. Dependendo do tamanho da partícula e dos traços fisiológicos e comportamentais do organismo, há uma oportunidade para a ingestão dessas partículas por animais invertebrados (HORTON et al., 2017b). Desta forma, torna-se importante a realização de trabalhos para verificar os efeitos dessa contaminação, pois já existem registros de consequências negativas como: de alterações histológicas e respostas inflamatórias a nível celular (VON MOOS et al., 2012), alterações nas funções ecofisiológicas (BROWNE et al., 2013), estresse fisiológico (ROCHMAN et al., 2013), redução da alimentação, com esgotamento das reservas de energia e falso saciamento (WRIGHT et al., 2013). Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a ingestão de microplástico, local de retenção e a fragmentação deste material usando como modelo exemplares do caranguejo *Dilocarcinus pagei* capturados em área de várzea amazônica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no município de Itacoatiara (AM), no Instituto de Ciências Exatas e Tecnologias-ICET/UFAM, durante os anos de 2018 e 2019 e os animais utilizados foram capturados em uma área de várzea denominada Poranga (03°07'11,4" S - 58°27'13,0" W). As coletas foram desenvolvidas de acordo com a legislação brasileira, com autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/SISBIO-Número da autorização: 62670).

2.1 Coleta do caranguejo

As coletas foram realizadas no mês de agosto de 2018, com captura de machos e fêmeas de diferentes tamanhos. Em laboratório os caranguejos foram identificados quanto a espécie de acordo com as características morfológicas descritas por Magalhães (2003). Os exemplares foram separados por sexo e mensurados quanto à largura do cefalotórax (LC) com auxílio de um paquímetro de precisão 0,05 mm e pesados em uma balança semi-analítica digital (0,001 g).

Para a definição das categorias de animais adultos e juvenis adotou-se a LC proposta por Davanso et al. (2016) para esta espécie, que foi de 28,7 mm de início maturidade sexual morfológica para machos e 24,2 mm para fêmeas, respectivamente.

2.2 Obtenção do microplástico

As partículas de microplástico utilizadas para todos os experimentos foram provenientes de sacolas plásticas brancas de polietileno fragmentadas manualmente com auxílio de tesoura. Os fragmentos formados foram submetidos ao conjunto de peneiras para padronização do tamanho. Duas concentrações (0,5 % e 1 %) e duas classes de tamanho de microplástico (0,5 mm e 1 mm) foram testadas, de forma que os animais não detectassem a presença dos plásticos junto ao alimento oferecido. As partículas de microplástico

padronizadas por tamanho foram incorporadas a ração de peixe comercial (35 % proteína bruta) para serem posteriormente fornecidas aos animais.

2.3 Consumo de microplástico de diferentes tamanhos e concentrações

Para verificar o consumo de microplásticos em diferentes tamanhos e concentrações, um total de 150 animais foram utilizados e separados entre machos e fêmeas, adultos e juvenis que foram distribuídos em unidades experimentais composta por 10 animais e colocados em caixas plásticas individuais (14x37x34 cm). Um grupo controle foi alimentado com ração sem adição de microplástico.

Alimentos com peso médio de 0,5 g de ração padronizados foram disponibilizados aos animais por um período de 6 h, com incorporação dos microplásticos de acordo com cada tratamento. No momento da alimentação a água era totalmente drenada para que não houvesse decomposição da ração e separação das partículas de microplásticos na caixa. Após 6 h da disposição do alimento, os restos de ração eram removidos para aferição do consumo (total ou parcial) com base na diferença do peso inicial e final. Esse experimento durou 5 dias.

2.4 Local de retenção e fragmentação do microplástico

Para avaliar o local de retenção das partículas e a capacidade de fragmentação, os caranguejos foram submetidos a ensaios alimentares com duração de 6 h. Os animais foram acondicionados individualmente em caixas semelhantes as utilizadas anteriormente.

Foram utilizados um total de 135 animais entre machos e fêmeas de ambas as categorias (adultos e juvenis), separados em unidades experimentais contendo 15 animais, distribuídos de acordo com os tempos (2, 4 e 6 h) após a ingestão em que seriam sacrificados, com a finalidade de verificar a quantidade de plástico em cada estrutura morfológica do trato digestivo (estômago e intestino). A câmara branquial e as fezes também foram coletadas e separadas para a análise dos fragmentos.

Os alimentos ofertados foram padronizados na concentração de 0,5 % de microplástico de 0,5 mm de tamanho. Os fragmentos foram incorporados a 0,5 g de ração para cada animal. Após uma única oferta de alimento, a cada 2 h, um total de 5 animais

selecionados aleatoriamente de cada unidade experimental foram sacrificados para análise da localização dos microplásticos e a extensão dentro do trato digestivo. Todos os fragmentos de microplásticos encontrados no estômago, intestino, fezes e na câmara branquial foram separados e quantificados com auxílio de um estereomicroscópio e colocados em microtubos para posterior análise química e mensuração.

A fragmentação foi analisada pela diferença do tamanho médio dos fragmentos de microplásticos ofertados inicialmente (próximos a 0,5 mm) e daqueles encontrados após a ingestão. Os fragmentos de microplásticos de tamanho 0,5 mm, não eram totalmente uniformes e por isso, foi calculado o comprimento e largura médio para determinar a área (mm^2) desses fragmentos que foram adicionados à ração. Os microplásticos ofertados inicialmente foram considerados como controle e um total de 150 desses fragmentos foram mensurados para efeito de comparação. O comprimento e largura dos fragmentos ingeridos e coletados de cada animal foram mensurados com uso de um sistema de análise de imagem (Moticam 2300 3.0M Pixel) acoplado ao estereomicroscópio (0,01 mm). Os dados desses fragmentos de microplásticos foram separados e identificados por partes (estômago, intestino, fezes e câmara branquial).

2.5 Microscopia eletrônica de varredura MEV

Os fragmentos de microplásticos obtidos no processo digestivo de *Dilocarcinus pagei* foram também analisados por imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) através de um equipamento FEG-SEM JEOL JSM - 7401F da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (USP) para identificar se houve algum início de ação física e/ou química nas bordas dos fragmentos durante a digestão junto com o alimento oferecido. As amostras foram acondicionadas em porta amostras contendo uma fita condutora de Cu e recobertos com Au pela técnica de pulverização catódica (*sputtering*).

2.6 Espectroscopia vibracional Raman

A análise espectroscópica Raman foi também empregada no presente estudo. Apenas com o uso de imagens se torna difícil a confirmação da identificação do fragmento plástico, pois esses materiais orgânicos tendem a se deformar ao passar pelo sistema digestivo, muitas vezes se tornando muito diferente da forma original.

Os espectros Raman foram obtidos a partir dos fragmentos de microplásticos antes de incorporar a ração (utilizado como padrão) e comparados com aqueles que foram removidos do conteúdo estomacal, intestinal, fezes e câmara branquial. Todas as medidas de SERS foram realizadas em Espectrômetro Raman Confocal Horiba Jobin Yvon T64000 de alta resolução espectral e espacial em configuração de microscópio, com ondas de excitação de 633 nm, tempo de exposição de 1 s e lente objetiva de amplificação 10 vezes. A área de mapeamento foi de $1,50 \mu\text{m} \times 1,50 \mu\text{m}$.

2.7 Análises estatísticas

As médias de consumo obtidas com base na diferença entre o peso final e inicial do alimento e o tamanho dos fragmentos encontrados após ingestão foram submetidas ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, indicando que os dados não apresentavam distribuição normal e por isso, optou-se por testes não paramétricos.

As médias de consumo (g) de alimento foi comparado entre machos e fêmeas e entre adultos e juvenis por meio do teste de Mann-Whitney. Para comparação entre as concentrações (0,5 % e 1 %) e o controle e entre os tamanhos (1 mm e 0,5 mm) e controle foi utilizado teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

Foi utilizado o teste Qui-Quadrado em tabela de contingência para comparar a porcentagem de fragmentos de microplásticos coletadas ente machos e fêmeas, adultos e juvenis, entre locais de retenção (estômago, intestino, fezes e câmara branquial) e entre os tempos após ingestão (2 h, 4 h, e 6 h). Para comparar os tamanhos (mm^2) dos fragmentos de microplásticos obtidos entre machos e fêmeas e entre adultos e juvenis foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para comparar o tamanhos dos fragmentos encontrados em cada parte corpórea com controle foi usado o teste de Kruskal-Wallis, seguindo o mesmo procedimento para comparar o tamanho dos fragmentos encontrados em cada horário após alimentação (2 h, 4 h e 6 h) e o controle. Para todas as análises, foi adotado um nível de significância 5 % ($p < 0,05$) e realizadas através software STATISTICA®.

3 RESULTADOS

3.1 Consumo de microplástico em diferentes tamanhos e concentrações

O consumo de ração não apresentou diferença significativa ($Z = -0,1309$; $P = 0,8957$) quando comparada a quantidade ingerida por machos e fêmeas totais (Figura 1A) e na comparação entre e adultos e juvenis totais ($Z = 0,3568$; $P = 0,7212$) (Figura 1B).

O consumo de alimento diminuiu com aumento da concentração dos fragmentos de microplásticos ($H = 58,899$; $GL = 2$; $P = 0,0000$) (Figura 1C), mostrando um padrão para todos animais utilizados no presente estudo.

O consumo de alimento entre os tamanho dos fragmentos de microplástico ofertados apresentou diferença apenas nas partículas maiores indicando um menor consumo para o tamanho de 1 mm ($H = 83,48$; $GL = 2$; $P = 0,0000$) (Figura 1D).

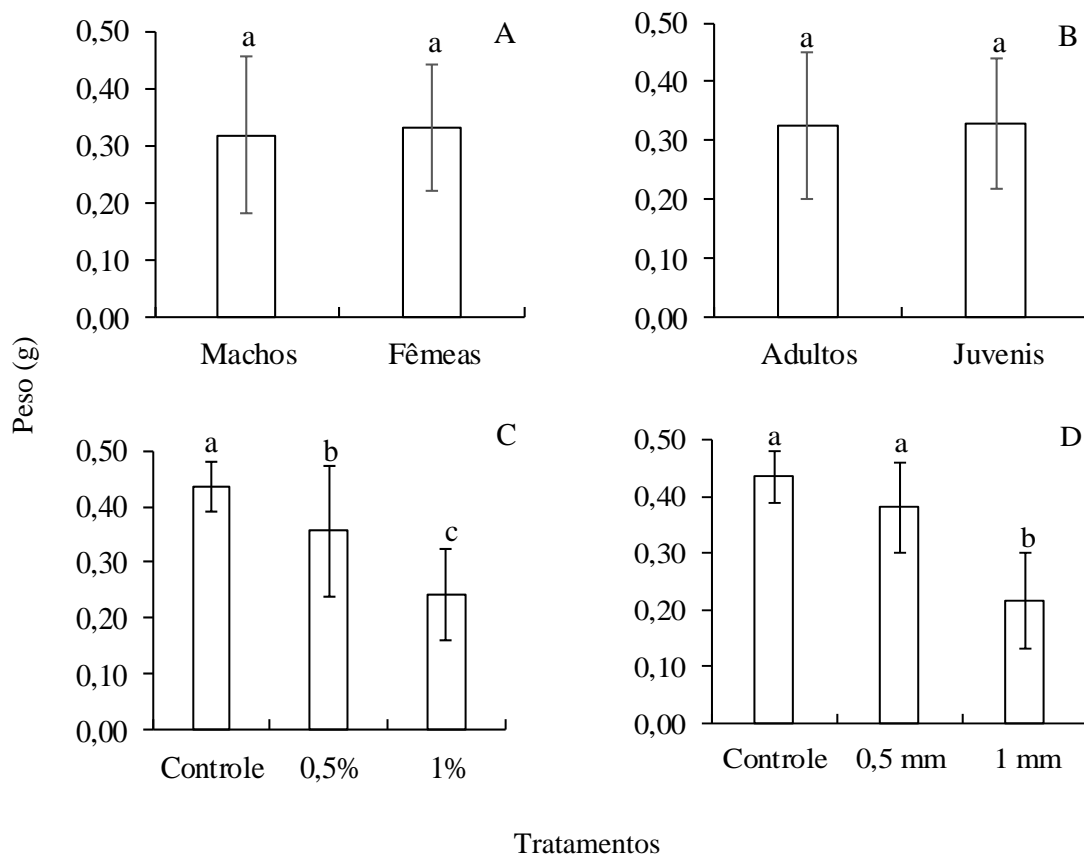


FIGURA 1 - Média e desvio padrão expresso em peso (g) de alimento consumido por *Dilocarcinus pagiei* (A) comparação entre machos e fêmeas; (B) comparação entre adultos e juvenis; (C) comparação entre as concentrações de microplásticos adicionados a ração (controle, 0,5 % e 1 %); (D) comparação entre os diferentes tamanhos de fragmentos de microplásticos (controle, 0,5 mm e 1 mm). Colunas seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($p > 0,05$) (Fig. 1A e 1B Mann-Whitney; Fig. 1C e 1D Kruskal-Wallis).

3.2 Local de retenção e fragmentação do microplástico

Vários fragmentos de microplásticos foram encontrados, nas fêmeas foi obtida a maior quantidade 196 (53,7 %) e nos machos 169 (33,9 %) do total de 365, mas não diferiram estatisticamente ($X^2= 1,332$; GL= 1; P= 0,2757). Nos caranguejos adultos a quantidade encontrada 365 (66,1 %) foi estatisticamente maior que a dos juvenis 187 (33,9 %) ($X^2= 38,71$; GL= 1; P< 0,0001).

Os fragmentos totais encontrados nas partes corpóreas de *Dilocarcinus pagei* após a ingestão, distribuídos da seguinte forma: 164 (29,7 %) no estômago; 170 (30,8 %) no intestino, 149 (27 %) nas fezes e 69 (12,5 %) na câmara branquial, diferindo estatisticamente entre si ($X^2= 40,807$; GL= 3; P< 0,0001). Com relação ao tempo após ingestão, em 2 h foram encontrados 165 (29,9 %) fragmentos, em 4 h 206 (37,3 %) e após 6 h 181 (32,8), no entanto, não houve diferença significativa na comparação ($X^2= 3,463$; GL= 2; P= 0,177).

Além de revelar o local que estas partículas percorreram, observou-se que, em 6 h de alimentação, não foi possível que os caranguejos se livrassem de todo o microplástico ingerido, tendo em vista que em 6 h de experimento, 49,17 % dos fragmentos coletados estavam dentro do sistema gastrointestinal do animal, 28,73 % nas fezes e 22,10 % estavam na cavidade branquial ($X= 15,63$; GL= 2; P= 0,0004).

Com relação ao tamanho médio dos fragmentos de microplásticos encontrados nas partes corpóreas, não houve diferença estatística entre machos e fêmeas ($Z= 0,6443$; P= 0,5444) (Figura 2A) e na comparação de adultos e juvenis ($Z= -1,8336$; P= 0,0667) (Figura 2B).

A fragmentação considerada com base na diferença entre o tamanho dos fragmentos de microplásticos ofertados (controle) e os ingeridos encontrados no estômago (E), intestino (I) e fezes (F) apresentou diferença significativa ($H= 42,657$; GL= 4; P= 0,0000) (Figura 2C), indicando uma redução de tamanho conforme a passagem pelo trato digestivo. Apenas os fragmentos encontrados na câmara branquial (CB) não apresentaram diferença de tamanho com os do controle.

A média de tamanho dos fragmentos de microplástico foi maior nas amostras de controle e apresentou um padrão de redução de tamanho conforme o tempo de permanência no trato digestivo de *Dilocarcinus pagei*. Os fragmentos de microplásticos apresentaram

diferença significativa na redução do tamanho somente após 4 h de digestão ($H= 41,966$; $GL= 3$; $P= 0,0000$) (Figura 2D).

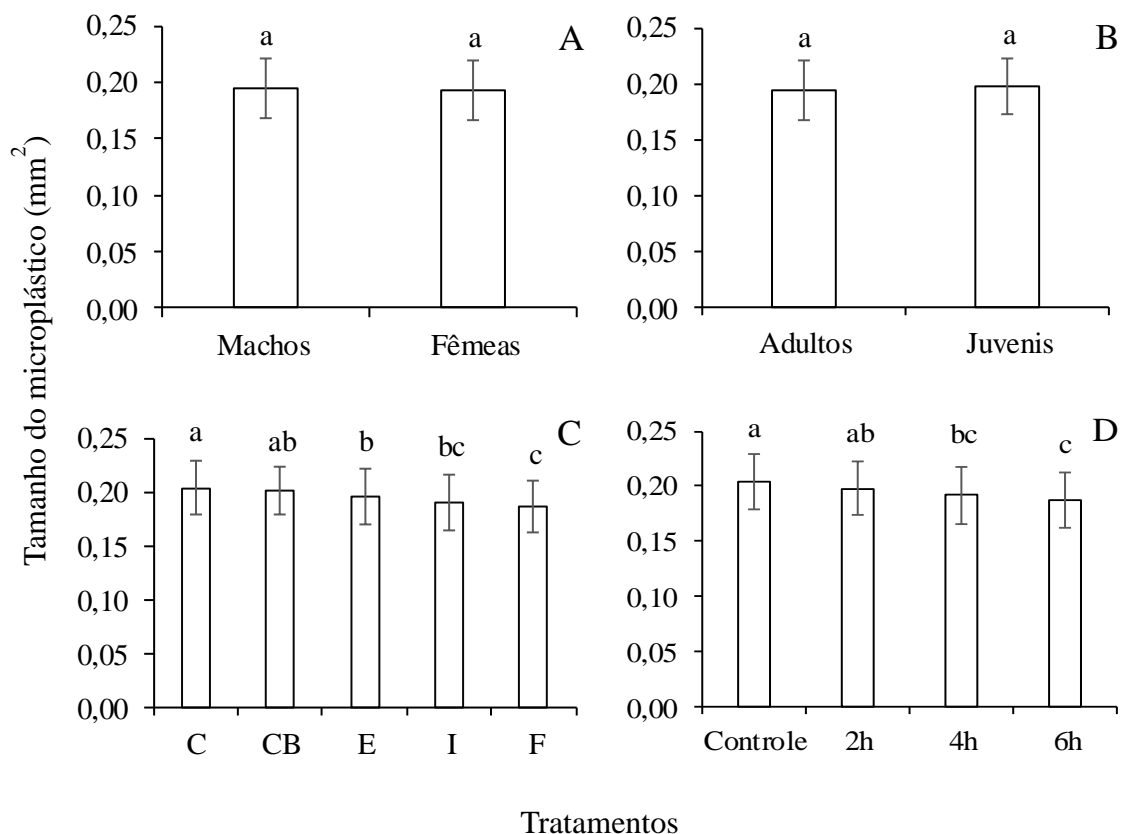


FIGURA 2 - Médias e desvio padrão do tamanho dos fragmentos de microplásticos (mm^2) ingeridos por *Dilocarcinus pagei*. (A) Comparação entre machos e fêmeas. (B) Comparação entre adultos e juvenis. (C) Comparação entre as partes corpóreas (C=controle, CB= câmara branquial, E= estômago, I= intestino e F= fezes). (D) Comparação entre os intervalos de coleta 2, 4 e 6 h. Colunas seguidas por uma mesma letra não diferem entre si ($p>0,05$) (Fig. 2A e 2B Mann-Whitney; Fig. 2C e 2D Kruskal-Wallis).

3.3 Espectroscopia vibracional Raman

Os microplásticos encontrados nas partes corpóreas de *Dilocarcinus pagei* foram submetidos à análise pela técnica de espectroscopia vibracional Raman com intuito de identificar se os fragmentos analisados realmente eram oriundos dos microplásticos oferecidos e são mostrados na Figura 3. A amostra de polietileno padrão possui um conjunto de sinais concentrados no intervalo de número de onda entre 1000 e 3000 cm^{-1} e estão associados às ligações C-C e C-H presentes na amostra (GALL et al., 1972). Na região de menor número de onda (1062 e 1132 cm^{-1}) encontram-se os estiramentos antissimétricos e

simétricos das ligações C-C do esqueleto orgânico, enquanto que na região de número de onda mais elevado (2842 e 2882 cm^{-1}) aparecem os estiramentos simétricos e assimétricos da porção H-C-H da macromolécula. Na porção intermediária de número de onda (1295, 1412, 1441 e 1463 cm^{-1}) estão presentes outros modos vibracionais dos grupos $-\text{CH}_2$: *twisting* (torção), *wagging* (balanço), *bending* (deformação angular) e *rocking* (rotação) (GALL et al., 1972; SATO et al., 2002).

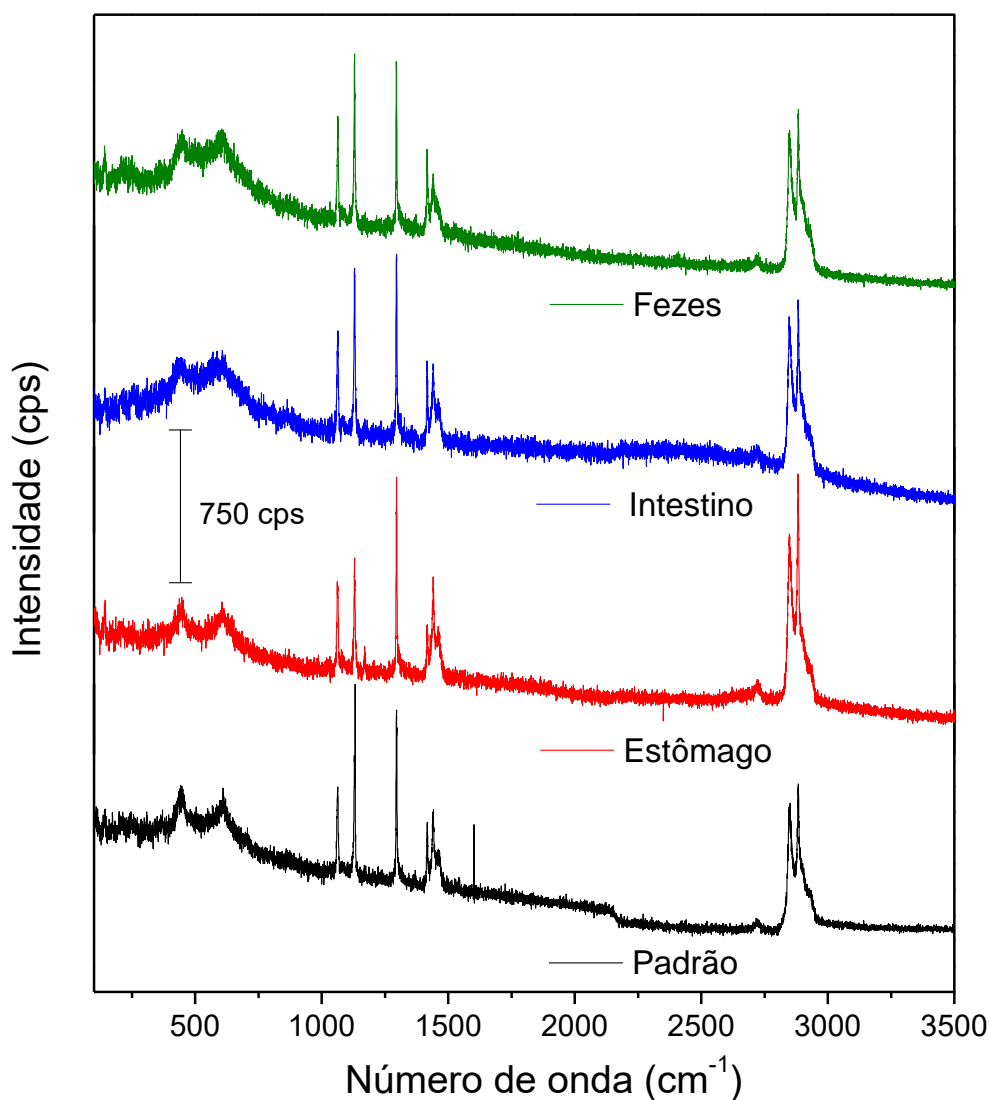


FIGURA 3 - Espectros Raman da amostra padrão de fragmentos de microplásticos de polietileno oriundo de sacolas plásticas de cor branca e amostras dos fragmentos encontradas no estômago, intestino e fezes de *Dilocarcinus pagei* durante os experimentos.

Os fragmentos observados pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) evidenciaram os efeitos físicos e/ou químicos causados nos microplásticos após passagens pelo estômago (Figura 4-B), intestino (Figura 4-C) e fezes (Figura 4-D) ao ser comparado às

imagens dos fragmentos antes de serem ingeridos (Figura 4-A). As imagens de fragmentos coletados em diferentes porções revelam pequenas fragmentações e dobras nas bordas.

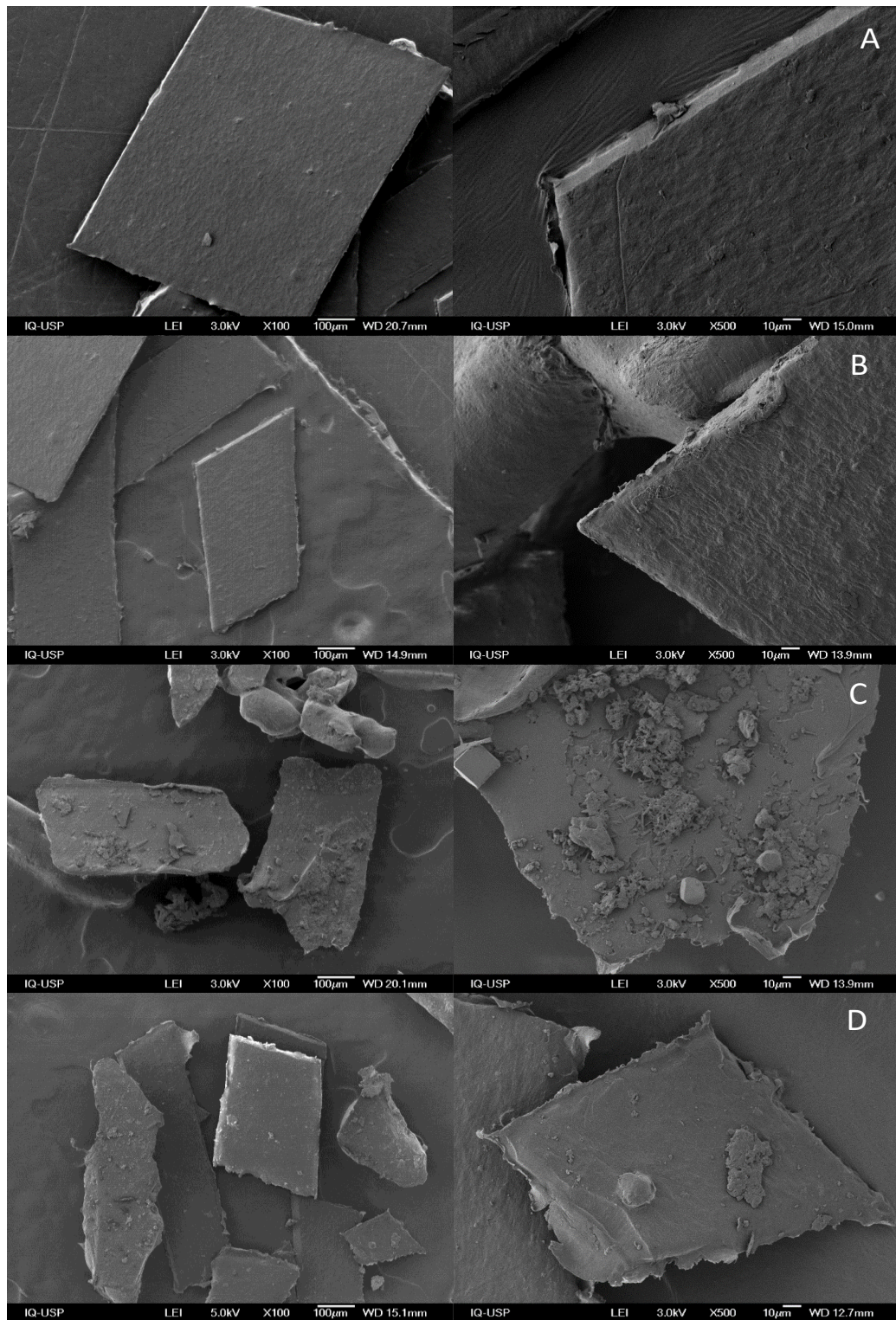


FIGURA 4 - Imagens dos fragmentos ingeridos e coletados de *Dilocarcinus pagei*, obtidos por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV). (A) microplásticos antes da ingestão, (B) coletados no estômago, (C) coletados no intestino e (D) coletados nas fezes.

4 DISCUSSÃO

Os espécimes de *Dilocarcinus pagei* utilizados nos experimentos foram capazes de ingerir os fragmentos de microplásticos de 0,5 a 1 mm, em concentração de 0,5 a 1 %, durante os 5 dias de experimento, indicando que estes indivíduos não foram capazes de discriminar totalmente e separar os fragmentos de microplásticos incorporados a ração. Esse padrão de ingestão com baixa seletividade corrobora estudos anteriores envolvendo crustáceos marinhos e estuarinos, onde a ingestão de microplástico em laboratório também foi observada nos caranguejos *Carcinus maenas* (FARRELL; NELSON, 2013; WATTS et al., 2014; WATTS et al., 2016), *Minuca rapax* (Smith, 1870) por Brennecke et al. (2015), *Necora puber* (Linnaeus, 1767) por Crooks, Parker e Pernetta (2019) e na lagosta *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758) por Murray e Cowe (2011). Dada a similaridade entre os espectros do fragmento de microplástico padrão e aqueles coletados em diferentes porções após ingestão pelos caranguejos *Dilocarcinus pagei*, conclui-se que todos os microplásticos coletados se referem ao polietileno disponibilizado inicialmente.

Os fragmentos de microplásticos utilizados neste trabalho foram de polietileno de cor branca, oriundo de sacola plástica comumente usada no comércio da região. Este material é considerado um dos polímeros mais abundantes no meio ambiente (WAGNER et al., 2014). O polietileno de baixa densidade, quando entra no ecossistema aquático, apresenta maior probabilidade de flutuar e permanecer na coluna d'água, podendo ficar aderido aos bancos de macrófitas e exposto as condições ambientais como a radiação solar e iniciar o processo de fragmentação nesse local. O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é uma espécie onívora comumente encontrada associada à vegetação aquática (MAGALHÃES, 2016) e pode ser exposta a contaminação desses fragmentos de microplásticos, pois se alimenta de itens de origem animal e vegetal (WILLINER; COLLINS, 2002).

O caranguejo *Dilocarcinus pagei* apresentou uma pequena detecção pela presença dos fragmentos de microplásticos. O tamanho e a concentração desses fragmentos influenciaram nas taxas de consumo. No ambiente natural, dificilmente essa espécie iria consumir alimentos com presença de microplásticos maiores que 1 mm e que muitas vezes a preferência alimentar pode induzir a maior ingestão de microplástico. Cole et al. (2013) observou que a presença de algas promoveu a maior contaminação de microplásticos nos copépodes *Acartia clausi* Giesbrecht, 1889, que só ingeriam os microplásticos na presença de algas.

De acordo com os experimentos de Watts et al. (2015) com o lagostim *Nephrops norvegicus*, o microplástico foi disponibilizado incorporado a carne de peixe, semelhantes ao realizado no presente estudo, porém, com o uso de ração de peixe. Watts et al. (2015) verificaram uma redução no consumo proporcional ao aumento da concentração e do tamanho das partículas de microplástico, padrão similar ao observado para *Dilocarcinus pagei*. Esses autores explicam que o maior tamanho e quantidade de microplásticos tornam o alimento desagradável, pois a presença dos fragmentos de microplásticos agem como fibras rígidas, causando a diminuição do consumo.

No presente estudo não foi verificado nenhuma mortalidade durante o experimento, mesmo com a ingestão dos fragmentos de microplásticos de diversos tamanhos e concentrações. Para o camarão *Palaemonetes pugio* (Holthuis, 1949) estudado por Gray e Weinstein (2017), observou-se que em apenas 3 h de exposição aos fragmentos de microplásticos, a mortalidade dos camarões variou de 0 % a 55 %, mostrando que existe uma variação de sensibilidade em relação a presença desses materiais. Em outro experimento com o molusco *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) exposto a diversas concentrações de microplástico durante 91 dias, houve redução na sobrevivência com o aumento da abundância das micropartículas (RIST et al., 2016). Os organismos predominantemente aquáticos aparentam ser mais susceptíveis quanto à sobrevivência na presença dos fragmentos de microplásticos, pois podem prejudicar a respiração branquial. O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é uma espécie semiterrestre adaptada aos períodos de seca e cheia nas regiões de várzea amazônica (MAGALHÃES, 2016) e por isso, pode ser mais resistente à presença de fragmentos de microplásticos quando comparado aos organismos exclusivamente aquáticos.

A presença de partículas nas câmaras branquiais indica que o tamanho do microplástico utilizado pode facilmente entrar no sistema de ventilação destes animais caso não sejam ingeridas e estejam flutuando próximo ao seu corpo. Assim, além da ingestão por meio da alimentação, a ventilação pode ser considerada como uma via de absorção de microplásticos pela espécie assim como visto para *C. maenas* (WATTS et al., 2014; WATTS et al., 2016) e para *Palaemonetes pugio* (GRAY; WEINSTEIN, 2017). Isto porque os caranguejos bombeiam água sobre suas brânquias para consumo de oxigênio e os fragmentos de microplásticos podem ficar alojados durante esse processo (WATTS et al., 2014). Não existem estudos que relatem um possível efeito destas partículas retidas nesta região para esta espécie *Dilocarcinus pagei*, no entanto, para *C. maenas* foi visto que a inalação aguda de

microesferas de poliestireno nas câmaras branquiais leva a uma pequena alteração no consumo de oxigênio e na regulação de íons (WATTS et al., 2016).

Os caranguejos vivem em ambientes aquáticos, onde são expostos a muitos organismos microbianos incrustantes e apresentam o comportamento de limpeza das suas brânquias frequentemente (BAUER, 1989), o que favorece a ajudá-los na remoção dos microplásticos e outras impurezas. No presente estudo a menor quantidade de fragmentos de microplásticos foram encontrados nas brânquias e tal fato pode ser decorrente da inalação acidental, pois os fragmentos apresentavam o tamanho similar ao que foram adicionados a ração.

O processo digestivo do caranguejo *Dilocarcinus pagei* contribuiu para a redução do tamanho dos fragmentos de microplásticos após 6 h de ingestão. Partículas ingeridas foram encontradas no estômago, intestino, fezes e câmara branquial, com resultado similar ao observado para outros crustáceos. Watts et al. (2014) observaram que os microplásticos ingeridos foram retidos nos tecidos corporais dos caranguejos por até 14 dias após a ingestão e até 21 dias após a respiração pelas brânquias. O caranguejo *Dilocarcinus pagei* apresentou 49,17 % de fragmentos de microplásticos ingeridos junto com a ração após 6 h, o que indica uma rápida eliminação quando comparado com o caranguejo marinho *Carcinus maenas*.

As maiores quantidades de partículas foram encontradas no estômago e intestino de *Dilocarcinus pagei*. O estômago de todos os animais acumulou 29,7 % das partículas encontradas nas primeiras 2 h após a ingestão e corroboram os resultados observados por Farrel e Nelson (2013), com as partículas de 5 mm de diâmetro encontradas em maior quantidade no estômago.

No intestino de *Dilocarcinus pagei* foi encontrado 30,8 % dos fragmentos de microplásticos após um período de 6 h da ingestão e a presença nesse local pode causar danos ao animal, como já relatado em outras literaturas. De acordo com Yu et al. (2018), as concentrações são mais altas no intestino, porque os fragmentos de microplásticos não foram digeridos no estômago e o intestino é considerado uma região de absorção de nutrientes onde naturalmente os alimentos permanecem por mais tempo. Crooks, Parker e Pernetta (2019) descreveram o mesmo padrão para *Necora puber*, que também apresentou o maior número de partículas retidas no intestino, no entanto, essa maior quantidade foi observada após 1 h de consumo. Além disso, o tempo de retenção intestinal de microplástico pode induzir a falsa saciedade, tempos de alimentação reduzidos e estimulação de uma resposta inflamatória no

intestino (WRIGHT et al., 2013; GRAY; WEINSTEIN, 2017; WÓJCIK-FUDALEWSKA; NORMANT-SAREMBA; ANASTÁCIO, 2016).

O caranguejo *Dilocarcinus pagei* foi capaz de diminuir o tamanho dos fragmentos de microplásticos ingeridos após 4 h de alimentação devido à presença desse material no intestino e nas fezes terem um tamanho menor que aquele anterior a ingestão. A capacidade de fragmentar e diminuir o microplástico não é novidade entre crustáceos, uma vez que existem relatos para a espécie *Euphausia superba* Dana, 1850 que se mostrou capaz de alterar o tamanho físico dos microplásticos ingeridos (31,5 µm) em pedaços com menos de 1 µm de diâmetro (DAWSON et al., 2018). Em *C. maenas*, as microfibras de polipropileno foram alteradas significativamente por sua passagem pelo intestino anterior, sendo excretadas com tamanho e comprimento total menor do que antes da ingestão (WATTS et al., 2015).

A fragmentação dos microplásticos pelo caranguejo *Dilocarcinus pagei* pode ser explicada pela morfologia e funcionamento de seu sistema digestivo, tendo em vista que a alimentação de caranguejos é um processo complexo que envolve ações integradas de estruturas internas e externas que finalmente culminam na absorção de nutrientes. Uma avaliação morfológica em *Trichodactylus borellianus* (Nobili, 1896), um caranguejo onívoro representante da mesma família de *D. pagei* revelou que este apresenta mandíbulas que tem função de corte, auxiliando na ancoragem e fragmentação dos alimentos. Os fragmentos de alimentos ingeridos são mastigados por um moinho gástrico equipado com cúspides afiadas (CARVALHO et al., 2017).

Watts et al. (2015) observaram uma diminuição no tamanho das partículas ingeridas e mencionaram que o moinho gástrico dos crustáceos não evoluiu para quebrar polímeros sintéticos flexíveis. Esse mecanismo combinado com a movimentação do estômago cardíaco pode facilitar a quebra de fibras de microplástico. De acordo com Dawson et al. (2018), o aumento da fragmentação do plástico observado em condições de baixa exposição a esse material sugere que a fragmentação digestiva pode ser mais comum no ambiente do que a registrada na literatura atual. Nos experimentos controlados, a exposição dos animais aos fragmentos de microplásticos é de altas concentrações e por isso, a maioria dos trabalhos não registram a redução do tamanho dessas partículas (WATTS et al., 2015; YU et al., 2018; CROOKS; PARKER; PERNETTA, 2019).

Resultados divergentes aos observados no presente estudo quanto à fragmentação dos microplásticos foram observados para a lagosta *N. norvegicus*, onde ocorreu um enrolamento

de fibras plásticas no trato digestivo, mencionando que a ação de movimentação do moinho gástrico resultou no enrolamento dos fragmentos de microplásticos, causando um aumento do tamanho das partículas ingeridas e assim, promovendo uma obstrução do intestino médio em direção ao intestino posterior (MURRAY; COWIE, 2011). No período curto de experimento não foi verificada nenhuma morte associada a esse tipo de situação. No entanto, a presença de fragmentos de microplásticos nas fezes menores que aqueles ingeridos indica que o caranguejo *Dilocarcinus pagei* pode ser considerado um agente decompositor dentro da cadeia trófica aquática.

Os fragmentos de microplásticos encontrados nas câmaras branquiais de *Dilocarcinus pagei* não sofreram qualquer tipo de abrasão mecânica, permanecendo praticamente do mesmo tamanho no momento em que foram ofertados junto com a ração. A presença destes fragmentos pode ser considerada acidental, pois no momento da ingestão observou-se que os pequenos fragmentos de microplásticos misturados à ração ficaram aderidos nos maxilípedes durante a manipulação do alimento. Estes fragmentos de microplásticos aderidos podem ter entrado na câmara branquial junto com o fluxo de água durante o processo de respiração. Como *Dilocarcinus pagei* é uma espécie comum em áreas de várzeas amazônicas e estão expostos aos mais diferentes tipos de materiais inertes na água (principalmente grãos de silte e argila) e nesse sentido, o sistema de limpeza das brânquias de *Dilocarcinus pagei* pode eliminar os fragmentos de microplásticos e não afetar o sistema respiratório, sem causar problemas para o animal. Tal informação pode ser justificada pela ausência de mortalidade dos indivíduos utilizados nos experimentos, causada pela exposição dos fragmentos de microplásticos. Mais estudos de longa duração são necessários para verificar a existência de efeitos negativos durante longos períodos de exposição.

5 CONCLUSÃO

O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é capaz de fragmentar os microplásticos ingeridos com o alimento com acúmulo em diferentes partes do corpo (estômago, intestino e câmara branquial) e após 6 h esses fragmentos são eliminados pelas fezes com um tamanho menor que aquele ingerido.

REFERÊNCIAS

- AMELINEAU, F.; BONNET, D.; HEITZ, O.; MORTREUX, V.; HARDING, A. M. A.; KARNOVSKY, N.; WALKUSZ, W.; FORT, J.; GREMILLET, D. Microplastic pollution in the Greenland Sea: Background levels and selective contamination of planktivorous diving seabirds. **Environmental Pollution**, v. 219, p. 1131-1139, 2016.
- AVIO, C. G.; GORBI, S.; MILAN, M.; BENEDETTI, M.; FATTORINI, D.; D'ERRICO, G.; PAULETTO, M.; BARGELLONI, L.; REGOLI, F. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. **Environmental Pollution**, v. 198, p. 211-222, 2015.
- BAUER, R. T. Decapod crustacean grooming: functional morphology, adaptive value, and phylogenetic significance. **Crustacean Issues**, v. 6, p. 49-73, 1989.
- BLETTLER, M. C.; ULLA, M. A.; RABUFFETTI, A. P.; GARELLO, N. Plastic pollution in freshwater ecosystems: macro-, meso-, and microplastic debris in a floodplain lake. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 11, p. 581-581, 2017.
- BRENNECKE, D.; FERREIRA, E. C.; COSTA, T. M.; APPEL, D.; DA GAMA, B. A.; LENZ, M. Ingested microplastics (> 100 µm) are translocated to organs of the tropical fiddler crab *Uca rapax*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 96, n. 1-2, p. 491-495, 2015.
- BROWNE, M. A.; DISSANAYAKE, A.; GALLOWAY, T. S.; LOWE, D. M.; THOMPSON, R. C. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 13, p. 5026-5031, 2008.
- BROWNE, M.A.; NIVEN, S.J.; GALLOWAY, T.S.; ROWLAND, S.J.; THOMPSON, R.C. Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. **Current Biology**, v. 23, n. 23, p. 2388-2392, 2013.
- CARVALHO, D. A.; VIOZZI, M. F.; COLLINS, P. A.; WILLINER, V. Functional morphology of comminuting feeding structures of *Trichodactylus borellianus* (Brachyura, Decapoda, Trichodactylidae), an omnivorous freshwater crab. **Arthropod Structure & Development**, v. 46, n. 4, p. 472-482, 2017.
- COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; GALLOWAY, T.S. Microplastic ingestion by zooplankton. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 12, p. 6646-6655, 2013.
- COLLARD, F.; GILBERT, B.; EPPE, G.; PARMENTIER, E.; DAS, K. Detection of anthropogenic particles in fish stomachs: an isolation method adapted to identification by

Raman spectroscopy. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 3, p. 331-339, 2015.

CROOKS, N.; PARKER, H.; PERNETTA, A. P. Brain food? Trophic transfer and tissue retention of microplastics by the velvet swimming crab (*Necora puber*). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 519, p. 1-6, 2019.

DAVANSO, T. M.; TADDEI, F. G.; HIROSE, G. L.; COSTA, R. C. Sexual maturity, handedness and sexual dimorphism of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* in Southeastern Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 3, p. 269-279, 2016.

DAWSON, A. L.; KAWAGUCHI, S.; KING, C. K.; TOWNSEND, K. A.; KING, R.; HUSTON, W. M.; NASH, S. M. B. Turning microplastics into nanoplastics through digestive fragmentation by Antarctic krill. **Nature Communications**, v. 9, n. 1001, p. 1-8, 2018.

DESFORGES, J. P. W.; GALBRAITH, M.; ROSS, P. S. Ingestion of microplastics by zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 3, p. 320-330, 2015.

EERKES-MEDRANO, D.; THOMPSON, R. C.; ALDRIDGE, D. C. Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. **Water Research**, v. 75, p. 63-82, 2015.

ERIKSEN, M.; MASON, S.; WILSON, S.; BOX, C.; ZELLERS, A.; EDWARDS, W.; FARLEY, H.; AMATO, S. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. **Marine Pollution Bulletin**, v. 77, n. 1-2, p. 177-182, 2013.

FARRELL, P.; NELSON, K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). **Environmental Pollution**, v. 177, p. 1-3, 2013.

FAURE, F.; CORBAZ, M.; BAECHER, H.; NEUHAUS, V.; DE ALENCASTRO, L. Pollution due to plastics and microplastics in Lake Geneva and in the Mediterranean Sea. **Archives des Sciences**, v. 65, p. 157-164, 2012.

FREE, C. M.; JENSEN, O. P.; MASON, S. A.; ERIKSEN, M.; WILLIAMSON, N. J.; BOLDGIV, B. High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. **Marine Pollution Bulletin**, v. 85, n. 1, p. 156-163, 2014.

FISCHER, E. K.; PAGLIALONGA, L.; CZECH, E.; TAMMINGA, M. Microplastic pollution in lakes and lake shoreline sediments—A case study on Lake Bolsena and Lake Chiusi (central Italy). **Environmental Pollution**, v. 213, p. 648-657, 2016.

GALL, M. J.; HENDRA, P. J.; PEACOCK, O. J.; CUDBY, M. E. A.; WILLIS, H. A. The laser-Raman spectrum of polyethylene: the assignment of the spectrum to fundamental modes of vibration. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy**, v. 28, n. 8, p. 1485-1496, 1972.

GRAY, A. D.; WEINSTEIN, J. E. Size and shape dependent effects of microplastic particles on adult daggerblade grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 36, n. 11, p. 3074-3080, 2017.

HORTON, A. A.; SVENDSEN, C.; WILLIAMS, R. J.; SPURGEON, D. J.; LAHIVE, E. Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK—Abundance, sources and methods for effective quantification. **Marine Pollution Bulletin**, v. 114, n. 1, p. 218-226, 2017a.

HORTON, A. A.; WALTON, A.; SPURGEON, D. J.; LAHIVE, E.; SVENDSEN, C. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 127-141, 2017b.

IMHOF, H.K.; IVLEVA, N.P.; SCHMID, J.; NIESSNER, R.; LAFORSCH, C. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. **Current Biology**, v. 23, n. 19, p. 867-868, 2013.

IMHOF, H. K.; LAFORSCH, C.; WIESHEU, A. C.; SCHMID, J.; ANGER, P. M.; NIESSNER, R.; IVLEVA, N. P. Pigments and plastic in limnetic ecosystems: A qualitative and quantitative study on microparticles of different size classes. **Water Research**, v. 98, p. 64-74, 2016.

LEBRETON, L. C.; VAN DER ZWET, J.; DAMSTEEG, J. W.; SLAT, B.; ANDRADY, A.; REISSER, J. River plastic emissions to the world's oceans. **Nature Communications**, v. 8, n. 15611, p. 1-10, 2017.

LUSHER, A. L.; MCHUGH, M.; THOMPSON, R. C. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. **Marine Pollution Bulletin**, v. 67, n. 1-2, p. 94-99, 2013.

LUSHER, A. L.; HERNANDEZ-MILIAN, G.; O'BRIEN, J.; BERROW, S.; O'CONNOR, I.; OFFICER, R. Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: the True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. **Environmental Pollution**, v. 199, p. 185-191, 2015.

MARKWORT, L.; KIP, B. Micro-Raman imaging of heterogeneous polymer systems: General applications and limitations. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 61, n. 2, p. 231-254, 1996.

MAGALHÃES, C.; CAMPOS, M. R.; COLLINS, P. A.; MANTELATTO, F. L. Diversity, distribution and conservation of freshwater crabs and shrimps in South America. In: Kawai T, Cumberlidge N, editors. **A Global Overview of the Conservation of Freshwater Decapod Crustaceans**. Berlin: Springer. 2016. p. 303-322.

MAGALHÃES, C. Avaliação dos Caranguejos tricodactídeos (Decapoda: Trichodactylidae). In: Pinheiro, M.A.A. Boos, H. (Org.). **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014**. Porto Alegre, RS:Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016.p. 420-440.

MAGALHÃES, C. Brachyura: Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. In: Melo, G. A. S. (Ed.). **Manual de identificação dos crustáceos decápodos de água doce do Brasil**. Edições Loyola, São Paulo, Brasil, 2003.p.143-287.

MURRAY, F.; COWIE, P. R. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 6, p. 1207-1217, 2011.

NELMS, S. E.; GALLOWAY, T. S.; GODLEY, B. J.; JARVIS, D. S.; LINDEQUE, P. K. Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. **Environmental Pollution**, p. 1-9, 2018.

QIU, Q.; TAN, Z.; WANG, J.; PENG, J.; LI, M.; ZHAN, Z. Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 176, p. 102-109, 2016.

RECH, S.; MACAYA-CAQUILPÁN, V.; PANTOJA, J. F.; RIVADENEIRA, M. M.; MADARIAGA, D. J.; THIEL, M. Rivers as a source of marine litter—A study from the SE Pacific. **Marine Pollution Bulletin**, v. 82, n. 1-2, p. 66-75, 2014.

RECH, S.; MACAYA-CAQUILPÁN, V.; PANTOJA, J. F.; RIVADENEIRA, M. M.; CAMPODÓNICO, C. K.; THIEL, M. Sampling of riverine litter with citizen scientists—findings and recommendations. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 6, p. 335-335, 2015.

RESCH-SEDLMEIER, G.; SEDLMEIER, D. Release of digestive enzymes from the crustacean hepatopancreas: effect of vertebrate gastrointestinal hormones. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 123, n. 2, p. 187-192, 1999.

RIST, S. E.; ASSIDQI, K.; ZAMANI, NP.; APPEL, D.; PERSCHKE, M.; HUHN, M.; LENZ, M. Suspended micro-sized PVC particles impair the performance and decrease survival in the Asian green mussel *Perna viridis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 111, n. 1-2, p. 213-220, 2016.

ROCHMAN, C. M.; HOH, E.; KUROBE, T.; THE, S.J. Ingested plastic transfers hazardous chemicals to fish and induces hepatic stress. **Scientific Reports**, v. 3, n. 3263, p. 1-7, 2013.

SANCHEZ, W.; BENDER, C.; PORCHER, J. M. Wild gudgeons (*Gobio gobio*) from French rivers are contaminated by microplastics: preliminary study and first evidence. **Environmental Research**, v. 128, p. 98-100, 2014.

SATO, H.; SHIMOYAMA, M.; KAMIYA, T.; AMARI, T.; ŠAŠIĆ, S., NINOMIYA, T.; Siesler, H. W.; OZAKI, Y. Raman spectra of high-density, low-density, and linear low-density polyethylene pellets and prediction of their physical properties by multivariate data analysis. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 86, n. 2, p. 443-448, 2002.

SIGHICELLI, M.; PIETRELLI, L.; LECCE, F.; IANNILLI, V.; FALCONIERI, M.; COSCIA, L.; DI VITO, S.; SIMONE, N.; ZAMPETTI, G. Microplastic pollution in the surface waters of Italian Subalpine Lakes. **Environmental Pollution**, v. 236, p. 645-651, 2018.

VON MOOS, N.; BURKHARDT-HOLM, P.; KÖHLER, A. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 20, p. 11327-11335, 2012.

WAGNER, M.; SCHERER, C.; ALVAREZ-MUÑOZ, D.; BRENNHOLT, N.; BOURRAIN, X.; BUCHINGER, S.; FRIES, E.; GROSOBOIS, C.; KLASMEIER, J.; MARTI, T.; RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; URBATZKA, R.; VETHAAK, A.D.; WINTHER-NIELSEN, M.; REIFFERSCHIED, G.; Microplastics in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. **Environmental Sciences Europe**, v. 26, n. 12, p. 1-9, 2014.

WATTS, A. J. R.; LEWIS, C.; GOODHEAD, R. M.; BECKETT, S. J.; MOGER, J.; TYLER, C. R.; GALLOWAY, T. S. Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 15, p. 8823-8830, 2014.

WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; CORR, S.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. Ingestion of plastic microfibers by the crab *Carcinus maenas* and its effect on food consumption and energy balance. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 24, p. 14597-14604, 2015.

WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. Effect of microplastic on the gills of the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 10, p. 5364-5369, 2016.

WILLINER, V.; COLLINS, P.A. Daily rhythm of feeding activity of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei pagei* in the Rio Pilcomayo National Park, Formosa, Argentina. In: Escobar-Briones, E. e Álvarez, F. (Eds.). **Modern approaches to the study of Crustacea**. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Dordrecht, 2002. pp. 171-178.

WÓJCIK-FUDALEWSKA, D.; NORMANT-SAREMBA, M.; ANASTÁCIO, P. Occurrence of plastic debris in the stomach of the invasive crab *Eriocheir sinensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, n. 1-2, p. 306-311, 2016.

WRIGHT, S.L.; ROWE, D.; THOMPSON, R.C.; GALLOWAY, T.S. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. **Current Biology**, v. 23, n. 23, p. 1031-1033, 2013.

YEO, D.C.J.; NG, P.K.L.; CUMBERLIDGE, N.; MAGALHÃES, C.; DANIELS, S.R.; CAMPOS, M.R. Global diversity of crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) in freshwater. **Hydrobiologia**, v. 595, n. 1, p. 275-286, 2008.

YU, PING U, P.; LIU, Z.; WU, D.; CHEN, M.; LV, W.; ZHAO, Y. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. **Aquatic Toxicology**, v. 200, p. 28-36, 2018.

CAPÍTULO III

A presença de fragmentos de microplásticos de polietileno no crescimento do caranguejo *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 (Brachyura, Trichodactylidae)

RESUMO

O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é uma espécie aquática comum na região norte e centro-oeste do Brasil, encontrado associado à vegetação em áreas alagadas, próximo a áreas urbanas e conseqüentemente, exposto aos fragmentos de microplásticos. Investigar os efeitos causados pela ingestão de microplástico no crescimento, engorda e sobrevivência de juvenis e adultos de *Dilocarcinus pagei* são importantes para conservação da espécie. Para testar os efeitos dos fragmentos de microplásticos no crescimento e engorda dessa espécie optou-se por experimentos em laboratório com a adição dessas partículas no alimento fornecido por um período de 90 dias. O primeiro experimento foi desenvolvido para verificar o efeito dos microplásticos no crescimento de juvenis recém-eclodidos. Dois tipos de alimentos (ração e folhas de macrófitas *Eichrroonia crassipes*) foram misturados à microplásticos considerando os seguintes tratamentos: (TA) ração; (TB) ração mais microplástico; (TC) folha de macrófitas; (TD) folhas de macrófitas mais microplástico. A taxa de crescimento foi analisada pela largura cefalotorácica (LC) registrado a cada 5 dias. O segundo experimento foi feito para verificar o ganho ou perda de peso em indivíduos adultos (machos e fêmeas). Para isso foram utilizados dois tamanhos de microplástico (0,5 mm e 1 mm) e duas concentrações (0,5 % e 1 %), além da unidade controle sem adição de microplástico. O crescimento foi considerado com base no peso úmido (PE) de cada animal, registrado a cada 2 dias. A taxa de mortalidade no primeiro experimento não diferiu estatisticamente entre os tratamentos e foi de 62,5 % em TA, seguido de 86,1 % em TB e 100 % em TC e TD. Os animais alimentados somente com ração permaneceram com médias de tamanho maiores até o 70º dia e após esse período, até o 90º dia, os animais do T2 apresentaram maior tamanho. A taxa de mortalidade no segundo experimento foi maior nas fêmeas ($67,7 \pm 24$ %) e menor nos machos ($57,3 \pm 25,2$ %), mas não diferiu estatisticamente. O tratamento do grupo controle apresentou a menor mortalidade ($22,5 \pm 3,5$ %) sendo estatisticamente diferente em comparação com os tratamentos de concentrações de 0,5 % ($65 \pm 14,8$ %) e de 1 % de microplástico (80 ± 00 %) ($P= 0,0001$). Com relação aos tamanhos de fragmentos de microplásticos, verificou-se também o mesmo padrão, com $70 \pm 15,9$ % para os menores (0,5 mm) e 75 ± 10 % para os animais expostos aos fragmentos maiores (1 mm) ($P= 0,0001$). O tratamento controle foi o único onde não houve diminuição no ganho de peso e diferiu ($p < 0,05$) dos outros dois tratamentos contendo 0,5 mm e 1 mm e 0,5 % e 1 % de microplásticos. O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é sensível a adição de microplástico de diferentes tamanhos e concentrações na alimentação, apresentando efeitos negativos no crescimento de juvenis, ganho de peso e sobrevivência de adultos.

Palavras-chave: Crustacea, ingestão, engorda, sobrevivência.

ABSTRACT

The crab *Dilocarcinus pagei* is a common aquatic species in northern and central-western Brazil, found associated with vegetation in flooded areas, close to urban areas and, consequently, exposed to microplastic fragments. Investigating the effects of microplastic ingestion on the growth, fattening and survival of juveniles and adults of *Dilocarcinus pagei* are important for the conservation of this species. In order to test the effects of microplastic fragments on growth and fattening of this species, laboratory experiments were carried out with the addition of these particles to the feed provided for a period of 90 days. The first experiment was developed to verify the effect of microplastics on the growth of newly hatched juveniles. Two types of food (ration and leaves of macrophytes *Eichrroonia crassipes*) were mixed with microplastics considering the following treatments: (TA) ration; (TB) ration more microplastic; (TC) macrophyte leaf; (TD) macrophyte leaf more microplastic. Growth rate was analyzed by cephalothoracic width (LC) recorded every 5 days. The second experiment was performed to verify weight gain or loss in adult individuals (males and females). Two microplastic sizes (0.5 mm and 1 mm) and two concentrations (0.5 % and 1 %) were used, as well as the control unit without the addition of microplastic. Growth was considered based on the wet weight (PE) of each animal, recorded every 2 days. The mortality rate in the first experiment did not differ statistically between treatments and was 62.5 % in TA, followed by 86.1 % in TB and 100 % in TC and TD. The animals fed only with food remained with larger size averages until the 70th day and after this period, until the 90th day, the T2 animals presented larger size. The mortality rate in the second experiment was higher in females (67.7 ± 24 %) and lower in males (57.3 ± 25.2 %), but did not differ statistically. The control group treatment had the lowest mortality (22.5 ± 3.5 %) and was statistically different compared to the 0.5 % (65 ± 14.8 %) and 1% microplastic (80 ± 00 %) ($P = 0.0001$). Regarding the size of microplastic fragments, the same pattern was also found, with 70 ± 15.9 % for smaller (0.5 mm) and 75 ± 10 % for animals exposed to larger fragments (1 mm) ($P = 0.0001$). The control treatment was the only one where there was no decrease in weight gain and differed ($p < 0.05$) from the other two treatments containing 0.5 mm and 1 mm and 0.5 % and 1 % of microplastics. *Dilocarcinus pagei* crab is sensitive to the addition of microplastics of different sizes and concentrations in the diet, with negative effects on juvenile growth, weight gain and adult survival.

Keywords: Crustacea, ingestion, fattening, survive.

1 INTRODUÇÃO

A Família Trichodactylidae é representada por espécies de caranguejos importantes para a biota aquática em estuários, rios e lagos (MARTIN; DAVIS, 2001). Segundo Magalhães (2016) o caranguejo *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 tem sido a espécie mais estudada dentro dessa família quanto a aspectos biológicos e ecológicos. Os estudos mais recentes com populações coletadas na região amazônica foram realizados por Sant'Anna et al. (2014) registraram o comportamento de espécimes adultos. Sant'Anna, Takahashi e Hattori (2015) analisaram efeitos da densidade de estocagem no cultivo e da Silva e Sant'Anna (2019) que verificaram a resistência à dessecação em populações de *Dilocarcinus pagei* capturadas em áreas de várzea.

No Brasil, os tricodactilídeos distribuem-se em quase todo o território nacional, estando ausente apenas em alguns rios temporários do nordeste brasileiro (MAGALHÃES, 2003). *Dilocarcinus pagei* ocorre tipicamente nas áreas de várzea dos rios e lagos dos sistemas hídricos de água branca, onde é frequentemente encontrada associada à vegetação aquática, em remansos e em áreas pantanosas, desenvolvendo-se muito bem em águas lânticas (MAGALHÃES, 2016).

De acordo com Silva-Cavalcante et al. (2017), que registrou a ocorrência dos microplásticos em ecossistemas aquáticos amazônicos, a biota de água doce é vulnerável à contaminação desse tipo de material e a urbanização é um dos principais fatores que contribuem para a poluição dos ambientes dulcícolas. O conhecimento sobre a dinâmica e acumulação, bem como os efeitos dos microplásticos em sistemas de água continentais ainda é pouco explorado quando comparado às informações disponíveis no ambiente marinho (THOMPSON et al., 2009; NIZZETTO et al., 2016; LEBRETON et al., 2017). No entanto, uma estimativa recente mostrou que os resíduos plásticos exportados pelo Rio Amazonas para o Oceano Atlântico podem chegar a 60.000 toneladas/ano (LEBRETON et al., 2017).

Nos últimos 10 anos, diversos ambientes aquáticos têm sido estudados quanto à presença de plásticos e contaminação em organismos no Brasil: estuário de Goiana (POSSATTO et al., 2011; DANTAS; BARLETTA; COSTA, 2012; RAMOS; BARLETTA; COSTA, 2012); rio Pajeú (SILVA-CAVALCANTI et al., 2017); estuário do rio da Prata (PAZOS et al., 2017); estuário do rio Amazonas (PEGADO et al., 2018); rio Xingu (ANDRADE et al., 2019). Poucas informações sobre a presença de plásticos estão disponíveis

em áreas de várzeas amazônicas caracterizadas por águas lânticas que podem ser considerados locais prováveis de acúmulo de resíduos plásticos nos ambientes dulcícolas, principalmente se for considerado que há pouca ou nenhuma coleta seletiva de resíduos sólidos em muitos municípios do interior do Amazonas.

A poluição de microplásticos já ocorre na área estuarina da região amazônica afetando a fauna aquática (ANDRADE et al., 2019), com registro de ingestão de plástico por peixes de água doce e estuarinos com hábitos alimentares diversos (PEGADO et al., 2018; ANDRADE et al., 2019). Estes resíduos plásticos provavelmente são originários de apetrechos de pesca perdidos e descartados, enquanto outros plásticos são oriundos de lixo descartado em toda a bacia hidrográfica e carregados pela corrente dos rios (ANDRADE et al., 2019).

Os microplásticos por apresentarem tamanho reduzido podem estar disponíveis para a ingestão por uma variedade de táxons incluindo os crustáceos. A ingestão e os efeitos desses microplásticos já foram estudados para algumas espécies de braquiúros. Farrel e Nelson (2013) investigaram a transferência trófica de microplásticos de mexilhões para o caranguejo *Carcinus maenas* (Linnaeus, 1758); nesta mesma espécie Watts et al. (2014, 2016) confirmaram que este caranguejo pode absorver microplásticos por meio de inspiração nas brânquias e essa inalação aguda de microesferas de poliestireno nas câmaras branquiais leva a uma pequena alteração no consumo de oxigênio e na regulação de íons. Em estudos com *Eriocheir sinensis* Milne Edwards, 1853, foi confirmada a ingestão de microplástico pela espécie (WÓJCIK-FUDALEWSKA; NORMANT-SAREMBA; ANASTÁCIO, 2016). Waite, Donnelly e Walters (2018) também confirmaram a ingestão de microplástico pelo caranguejo *Panopeus herbstii* Milne Edwards, 1834. Em estudos com a lagosta *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758) foi observado que 83 % do animais coletado possuíam fragmentos de microplástico no seu interior (MURRAY; COWIE, 2011).

Um estudo de toxicidade com 21 dias de duração com o caranguejo *Eriocheir sinensis* apresentou uma diminuição na taxa de ganho de peso, de crescimento específico e índice hepatossomático, com o aumento da concentração de microplásticos (0 µg/L, 40 µg/L, 400 µg/L, 4000 µg/L e 40000 µg/L) (YU et al., 2018). A ausência de informações biológica sobre a exposição e vulnerabilidade dos caranguejos dulcícolas levou a investigar os efeitos causados pela ingestão de microplástico na mortalidade, crescimento e ganho de peso em espécimes adultos e juvenis de *Dilocarcinus pagei* capturados na região de várzea amazônica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os caranguejos utilizados foram capturados em uma área de várzea denominada Poranga (03°07'11,4" S - 58°27'13,0" W) no município de Itacoatiara (AM) durante o período de agosto de 2018 a janeiro de 2019. As coletas foram desenvolvidas de acordo com a legislação brasileira, com autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio/SISBIO- Número da autorização: 62670).

2.1 Coleta dos caranguejos

As coletas de animais de diferentes tamanhos foram feitas com auxílio de puçá. Em laboratório os caranguejos foram identificados por sexo e espécie de acordo com as características morfológicas descritas por Magalhães (2003).

Os caranguejos foram mensurados quanto à largura do cefalotórax com auxílio de um paquímetro de precisão 0,05 mm e pesados em uma balança semi-analítica digital (0,001 g). Os juvenis foram mensurados com auxílio de um esteromicroscópio acoplado a um sistema de análise de imagem (Moticam 2300 3.0M Pixel) com precisão (0,01 mm).

A maturidade sexual morfológica foi verificada com base na largura cefalotorácica (LC), considerado para os machos adultos a partir de 28,7 mm e de 24,2 mm para as fêmeas (DAVANSO et al., 2016).

2.2 Obtenção dos fragmentos de microplásticos

As partículas de microplástico utilizadas para todos os experimentos foram provenientes de sacolas plásticas branca de polietileno de baixa densidade, muito utilizada no comércio local. As sacolas foram fragmentadas manualmente com auxílio de tesoura.

Os fragmentos de microplástico obtidos por corte de tesoura foram submetidos ao conjunto de peneiras para padronização do tamanho. Para todos os experimentos serem realizados foi definido três tamanhos de fragmentos de microplásticos: 0,25 mm, 0,5 mm e 1

mm. A escolha de diferentes tamanhos foi adaptada para o tamanho dos animais utilizados nos experimentos. No experimento 1 utilizou-se juvenis recém-eclodidos para acompanhar o crescimento e sobrevivência. No experimento 2 utilizou-se adultos de ambos os sexos. Todos os fragmentos de microplástico foram incorporados ao alimento e oferecidos na parte seca da caixa de cultivo e fora da água, de modo que os fragmentos de microplásticos não se desprendessem dos alimentos alterando a concentração dessas partículas.

2.3 Experimento 1 – Efeito da ingestão de microplástico na sobrevivência e crescimento de juvenis de *Dilocarcinus pagei*

O efeito da ingestão de microplástico sobre a sobrevivência e crescimento dos caranguejos juvenis foi investigado empregando 288 indivíduos distribuídos entre 4 tratamentos com 4 réplicas (caixas). Os indivíduos foram cultivados por um período de 90 dias desde o momento de sua eclosão, com procedimentos adaptados de Sant’Anna, Takahashi e Hattori (2015). Os juvenis foram mantidos em caixas plásticas (14 cm altura x 41 cm comprimento x 28 cm largura) com capacidade para 10 L e uma densidade de 3 animais L⁻¹. A troca de água e oferta de alimento foi feita a cada 48 h, sob regime de 12 h luz e 12 h de escuro. O pH da água (pH: 6,9 ± 0,2) e temperatura ambiente foram registrados (27,33 ± 0,3 °C).

O experimento foi desenvolvido com quatro tratamentos (alimentação): Tratamento 1 (TA) ração; tratamento 2 (TB) microplástico misturado à ração; tratamento 3 (TC) apenas folha de macrófitas *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Pontederiaceae); tratamento 4 (TC) microplástico misturado a folhas de macrófitas. Os fragmentos de microplástico de polietileno de baixa densidade com 0,25 mm foram incorporados ao alimento fornecido aos animais na proporção 0,01: 1 g (massa microplástico/massa alimento).

A LC (mm) de todos os juvenis de cada tratamento foi medido inicialmente, usando um estereomicroscópio acoplado ao sistema de análise de imagem (MOTICAN 2300), posteriormente foi medido 5 indivíduos de cada caixa a cada 5 dias. A taxa de mortalidade (TM) e a taxa de crescimento específico (G) foram estimadas pelas equações 1 e 2:

$$TM = \frac{NCM \times 100}{T} \quad (1)$$

$$G = \frac{\ln S2 - \ln S1}{t2 - t1} \quad (2)$$

Onde NCM = número de caranguejos mortos ao final do experimento, e T = total de caranguejos no tratamento; S2 = tamanho no final do experimento (90º dia), S1 = tamanho no início do experimento (primeira medição no dia 5), t2 = fim do experimento no dia 90 e t1 = primeiro dia em que os caranguejos foram medidos após 5 dias.

Durante todos os experimentos, os alimentos foram disponibilizados no período noturno, período em que os animais estão à procura de alimento no ambiente natural (SANT'ANNA et al., 2014).

Para análise dos dados foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, onde a normalidade foi confirmada para o tamanho dos animais e descartada para a taxa de crescimento específico.

O teste de Mann-Whitney foi empregado para comparação das médias de crescimento específico entre as rações (TA e TB) e a mesma análise foi aplicada para os dados das macrófitas (TC e TD).

As médias dos tamanhos dos caranguejos entre os tratamentos (TA e TB) e (TC e TD) em cada dia mensurado foram comparada por meio do teste t. O tamanho dos caranguejos durante os 90 dias de experimentos também foi analisado por meio de regressão linear e as inclinações e intercepto de diferentes linhas de regressão foram comparadas através da análise covariância (ANCOVA). Foi utilizado o teste Qui-Quadrado para análise dos dados de mortalidade em tabela de contingência.

2.4 Experimento 2 - Consumo de diferentes tamanhos e concentrações de fragmentos de microplástico no desenvolvimento de *Dilocarcinus pagei*

Neste experimento foram utilizados 160 animais (80 machos e 80 fêmeas) para comparar o efeito de dois tamanhos de fragmentos de microplástico (0,5 mm e 1 mm) e duas concentrações (0,5 % e 1 %) por ingestão. Para comparar os efeitos foi montada uma unidade sem a adição de microplástico (controle). Os animais foram acondicionados individualmente em caixas plásticas (14 cm altura x 37 cm comprimento x 34 cm largura). O alimento foi

disponibilizado a cada 48 h horas por um período de 12 h (após as 18 horas) durante 90 dias. Para cada indivíduo foi ofertado 1 % do peso vivo em ração.

O ganho de peso no decorrer dos 90 dias de cada animal foi mensurado pelo peso úmido total (PE) registrado a cada 2 dias e o crescimento pela largura cefalotorácica (LC). Os espécimes que apresentaram injúrias morfológicas ou falta de pereiópodos foram descartados das análises antes de iniciar o experimento.

O ganho ou perda de peso dos animais foi considerado como um tipo de crescimento do animal e foi medido de acordo com Yu et al. (2018) onde a taxa de mortalidade (TM), ganho de peso (GP) foram calculados pelas equações 1 e 3:

$$TM = \frac{NCM \times 100}{T} \quad (1)$$

$$GP(\%) = \left[\frac{100 \times (PE_f - PE_i)}{PE_i} \right] \quad (3)$$

Onde NCM = número de caranguejos mortos ao final do experimento; T = total de caranguejos no tratamento; PE_f = peso úmido final e PE_i = Peso úmido inicial.

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, com ausência de normalidade confirmada, optando por testes não paramétricos. As médias de ganho de peso foram comparadas entre sexo (macho e fêmea) por meio da análise de Mann-Whitney. O teste Kruskal-Wallis para comparar as medias dos mesmos entre os tamanhos (1 mm e 0,5 mm) e o tratamento de controle, e para comparar entre as concentrações (1 % e 0,5 %) e o tratamento controle. Foi utilizado o teste Qui-Quadrado para análise dos dados de mortalidade em tabela de contingência. Para todas as análises, foi adotado um nível de significância 5 % (p < 0,05) e realizadas através software STATISTICA®.

3 RESULTADOS

3.1 Experimento 1

A taxa de mortalidade média ao final do experimento foi de $62,5 \pm 20,5$ % onde havia apenas ração (TA) e de $86,1 \pm 7,2$ % no experimento onde havia microplástico adicionado a ração (TB), mas não diferiram estatisticamente entre si ($X^2= 1,557$; GL= 1; P= 0,2628). Nos tratamentos em que os animais eram alimentados somente com macrófitas (TC) e macrófitas com adição de microplástico (TD), a mortalidade foi de 100 %.

A taxa de crescimento específico (TCE) dos animais em TA foi de $0,03 \pm 0,01$ %/d, não diferindo estatisticamente ($Z= -1,7291$; P= 0,0837) de TB (TCE= $0,03 \pm 0,003$ %/d). O mesmo padrão foi observado para os animais alimentados com macrófitas (TC), com valor médio de TCE de $0,04 \pm 0,004$ %/d, que foi similar ($Z= 0,8321$; P= 0,4053) ao TCE de TD ($0,04 \pm 0,004$ %/d).

Os animais submetidos ao tratamento TA e TB sobreviveram até o 90° dia. Os animais alimentados somente com ração permaneceram com média de tamanho maior até o 70° dia, após esse período, até o dia 90°, os animais do TB apresentaram maior tamanho. Diferenças entre os tamanhos ocorreram ao longo do cultivo, nos dias 20°, 30°, 40°, 55°, 85° e 90° dias de experimento (TABELA 1).

TABELA 1 - Tamanho médio de LC (mm) dos juvenis de *Dilocarcinus pagei* comparados entre os tratamentos TA e TB durante os 90 dias de experimento por meio do teste t. TA= Ração; TB= Ração/Microplástico; GL= grau de liberdade; T= valor do teste t e P= significância. Médias com valores de P em negrito foram estatisticamente diferentes (P < 0,05).

Dias de Cultivo	TA	TB	GL	T	P
5	3,04 ± 0,32	3,16 ± 0,31	38	-0,464	0,6447
10	3,63 ± 0,47	3,70 ± 0,58	38	0,753	0,4558
15	4,37 ± 0,58	4,32 ± 0,67	38	0,746	0,4599
20	5,17 ± 0,68	4,66 ± 0,66	38	2,446	0,0192
25	5,41 ± 0,74	5,44 ± 0,85	38	-0,139	0,8903
30	6,77 ± 1,08	5,98 ± 0,74	38	2,716	0,0099
35	7,23 ± 1,48	7,10 ± 1,19	38	0,315	0,7542
40	9,73 ± 1,60	7,14 ± 1,26	38	5,689	0,0000
45	9,57 ± 2,19	8,51 ± 2,40	38	1,456	0,1537
50	10,98 ± 1,90	9,81 ± 2,17	38	1,821	0,0765
55	12,12 ± 3,11	10,07 ± 2,58	38	2,272	0,0288
60	11,70 ± 2,59	10,92 ± 3,10	38	0,861	0,3947
65	12,66 ± 1,84	11,86 ± 2,74	35	0,306	0,3063
70	13,01 ± 1,65	12,91 ± 3,40	33	0,107	0,9158
75	13,36 ± 1,99	14,25 ± 3,47	27	-0,876	0,3887
80	13,23 ± 2,09	14,80 ± 2,70	26	-1,740	0,0937
85	13,13 ± 2,40	15,97 ± 3,73	26	-2,152	0,0408
90	13,75 ± 2,55	17,58 ± 3,75	23	-3,003	0,0063

Os animais submetidos aos tratamentos TC e TD sobreviveram até o 45º dia. Durante este período, somente no 15º e 35º dia de experimento houve diferença entre as médias de LC dos replicados (TABELA 2).

TABELA 2 - Tamanho médio de LC (mm) dos juvenis de *Dilocarcinus pagei* comparados entre os tratamentos TA e TB durante os 45 dias de experimento por meio do teste t. TC= Macrófita (*E. crassipes*); TD= Macrófita (*E. crassipes*) e microplástico; GL= grau de liberdade; MS= quadrado médio; F= valor do teste F e P= significância. Médias com valores de P seguido de * foram estatisticamente diferentes ($P < 0,05$).

Dias de Cultivo	TC	TD	GL	T	P
5	2,85 ± 0,21	2,78 ± 0,17	38	1,283	0,2073
10	3,03 ± 0,27	2,91 ± 0,15	38	1,832	0,0748
15	3,91 ± 0,42	3,63 ± 0,28	38	2,468	0,0182
20	4,55 ± 0,50	4,27 ± 0,45	38	1,856	0,0713
25	4,29 ± 0,48	4,36 ± 0,45	38	-0,675	0,5037
30	4,74 ± 0,42	4,84 ± 0,43	36	-0,771	0,4457
35	4,65 ± 0,51	4,29 ± 0,53	33	2,069	0,0464
40	4,55 ± 0,54	4,46 ± 0,55	18	0,374	0,7131
45	4,46 ± 0,05	4,38 ± 0,12	6	1,099	0,3139

As linhas de regressão dos dias de experimento e o tamanho do caranguejo não diferiram entre os tratamentos TA e TB (ANCOVA $F= 2,008$ $GL= 1$, $P < 0,157$) (FIGURA 1).

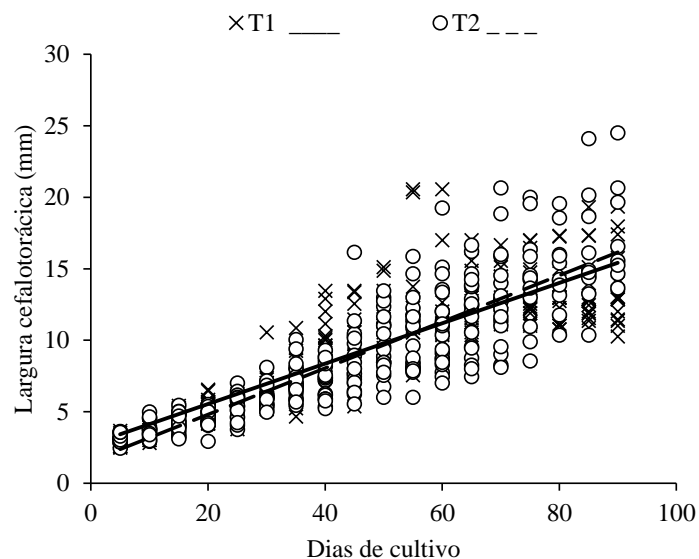


FIGURA 1 - Relação entre o tempo de cultivo (dias) e a largura cefalotorácica (mm) do caranguejo *Dilocarcinus pagei*, no tratamento TA (Ração) e TB (ração/microplástico). As linhas de regressão não diferiram significativamente (ANCOVA $F= 2,008$ $GL= 1$, $P < 0,157$).

Nos tratamentos TC e TD as linhas de regressão dos dias de experimento e o tamanho do caranguejo foram estatisticamente diferentes durante os 45 dias (ANCOVA $F=6,49$ $GL=1$, $P < 0,0113$) (FIGURA 2).

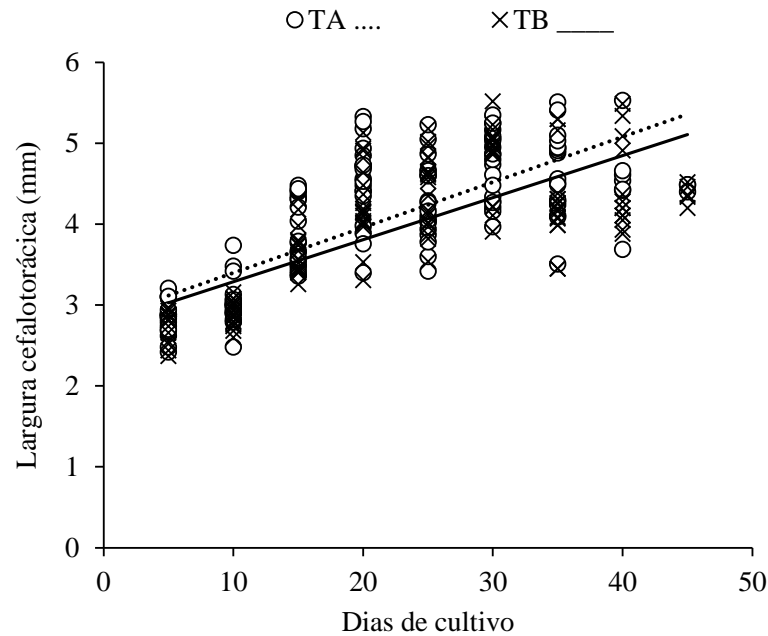


FIGURA 2 - Relação entre o tempo de cultivo (dias) e a largura cefalotorácica (mm) do caranguejo *Dilocarcinus pagei* no TC (Macrófita *E. crassipes*) e TD (Macrófita *E. crassipes* e microplástico). As linhas de regressão diferiram significativamente entre si (ANCOVA $F=6,49$ $GL=1$, $P < 0,0113$).

3.2 Experimento 2

A taxa de mortalidade foi maior nas fêmeas ($67,7 \pm 24$ %) e menor nos machos ($57,3 \pm 25,2$ %), mas não diferiram estatisticamente entre si ($X^2=0,417$; $GL=1$; $P=0,5181$). O tratamento controle resultou na menor mortalidade registrada ($22,5 \pm 3,5$ %) sendo estatisticamente diferente em comparação com os tratamentos com as concentrações de 0,5 % ($65 \pm 14,8$ %) e de 1 % de microplástico (80 ± 00 %) ($X^2=19,747$; $GL=2$; $P=0,0001$). Com relação aos tamanhos de fragmentos de microplásticos verificou-se também o mesmo padrão, com $70 \pm 15,9$ % de mortalidade para os menores fragmentos (0,5 mm) e de 75 ± 10 % para os animais expostos aos fragmentos maiores (1 mm) ($X^2=19,839$; $GL=2$; $P=0,0001$).

O peso dos animais registrados durante os 90 dias de experimento em cada tratamento estão descritos na tabela 3.

TABELA 3 - Peso final e inicial dos caranguejos *Dilocarcinus pagei* registrados durante os 90 dias de experimento. I= peso inicial; F= peso final; DP= desvio padrão; Mim= mínimo; Max= máximo.

	Macho		Fêmea		0,5%		1%		0,5 mm		1 mm		Controle	
	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F	I	F
Média	26,81	25,97	26,53	26,12	26,62	26,06	27,61	25,45	27,55	26,10	26,68	25,41	25,33	26,92
DP	5,44	5,54	6,03	5,89	4,59	4,88	6,32	6,06	6,11	5,96	4,88	5,00	6,18	6,28
Min	14,59	13,04	14,12	15,4	18,17	17,52	14,75	13,04	17,1	15,4	14,75	13,04	14,12	16,26
Max	42,12	39,75	45,15	43,92	37,01	36,72	45,15	43,00	45,15	43,00	38,07	36,33	42,55	43,92

Entre os diferentes tamanhos dos fragmentos de microplásticos ofertados, o ganho de peso foi negativo tanto para os machos quanto para fêmeas e não diferiram estatisticamente entre si ($Z = -1,4026$; $P = 0,1607$) (Figura 3-A).

Na comparação entre o tratamento controle e aqueles que haviam 0,5 % e 1 % de fragmentos de microplástico, o ganho de peso foi positivo apenas no controle e diminuiu com o aumento da concentração ($H = 97,623$; $GL = 2$; $P = 0,000$) (Figura 3-B). Padrão de crescimento (ganho de peso) foi similar ao observados nos tratamentos com diferentes concentrações de microplásticos, com ganho de peso positivo apenas no tratamento controle ($H = 66,819$; $DF = 2$; $P = 0,000$) (Figura 3-C).

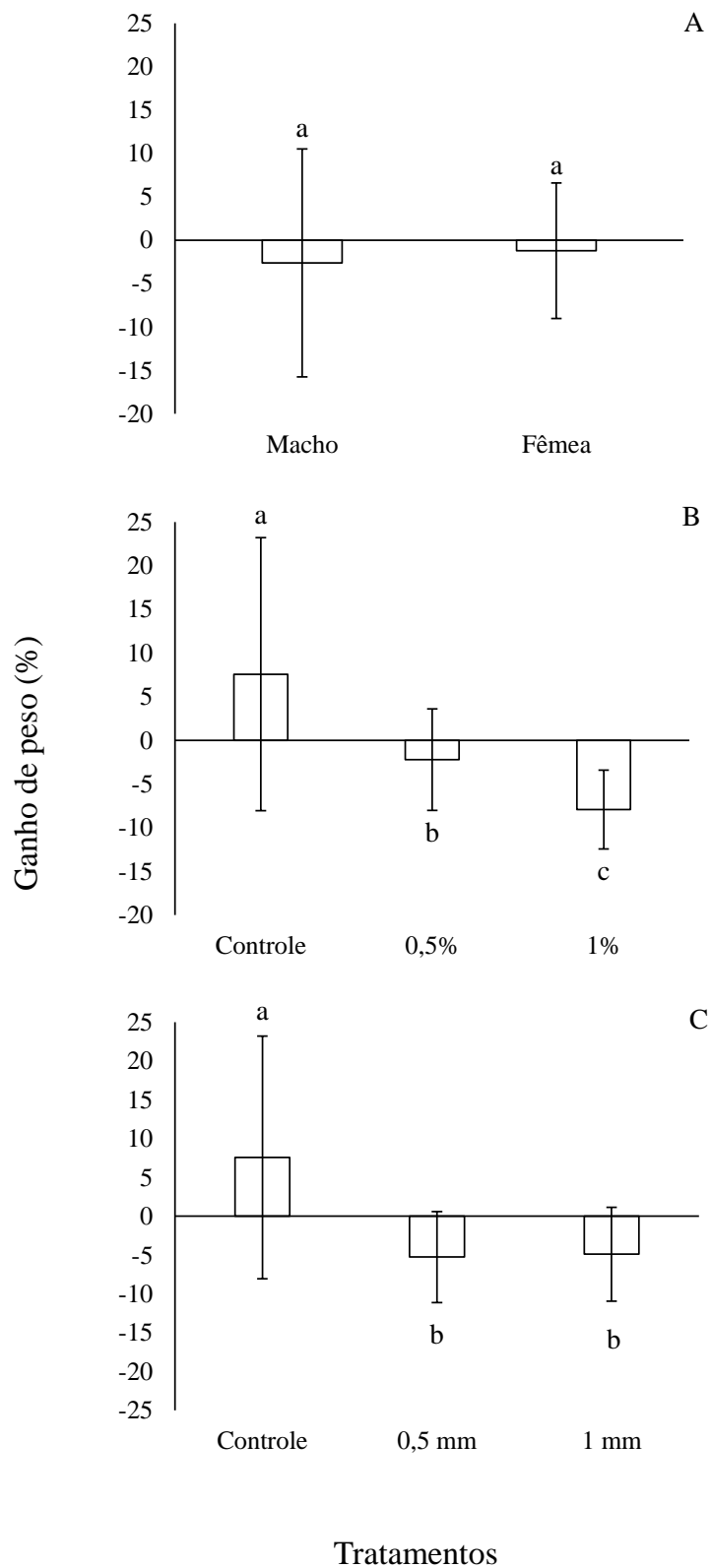


FIGURA 3 - Médias e desvio padrão da taxa de crescimento específico de *Dilocarcinus pagei*. A) Comparação entre sexo (machos e fêmeas). B) Comparação entre tamanho (0,5 mm e 1 mm) com o controle. C) Comparação entre concentração (0,5 % e 1 %) com o controle. Colunas seguidas por uma mesma letra não diferiram significativamente entre si ($P > 0,05$).

4 DISCUSSÃO

Em um cultivo experimental de *Dilocarcinus pagei* realizado por Sant'Anna, Takahashi e Hattori (2015) com variações de três densidades de estocagem, a mortalidade foi superior a 70 % em todos os tratamentos e aumentou com a densidade de caranguejos. Neste trabalho, utilizando-se da densidade ótima encontrada por Sant'Anna, Takahashi e Hattori (2015) de 3 animais/L, a mortalidade dos animais chegou a 100 % nos tratamentos com o uso de macrófitas como fonte de alimentação e a menor (62,5 %) onde havia somente ração. A alta taxa de mortalidade observada nessa espécie pode ser explicada por diversos fatores, como por exemplo a presença de canibalismo durante o cultivo que pode ser resultado da limitação de recursos disponibilizado como descrito pelos mesmos autores. Costa e Nakagaki (2018) descreveram que comportamentos agressivos estão diretamente relacionados à presença de alimento ou abrigo. No presente estudo, a ausência de abrigos e presença de alimentos contendo os fragmentos de microplásticos podem ser considerados fatores importantes que intensificaram os comportamentos agressivos e estimulam uma maior competição, resultando ao longo do experimento uma maior mortalidade do que a registrada por Sant'Anna, Takahashi e Hattori (2015).

No primeiro experimento com os juvenis de *Dilocarcinus pagei*, a mortalidade total dos caranguejos nos tratamentos com alimentação a base de macrófita pode ser decorrente da baixa quantidade de proteína oferecida, pois em comparação ao tratamento com alimento balanceado (ração de peixe) que possuiu 35 % de proteína, as partes aéreas da macrófita *Eichhornia crassipes* em estudos conduzido por da Silva, Nogueira e Esteves (1994) e Henry-Silva e Monteiro (2002) encontraram valores médios de 7,2 % a 13,75 % de proteína do peso seco. Apesar de seu baixo teor proteico quando comparado à ração, essa macrófita foi escolhida baseada em observações pessoais, onde foi visto juvenis de *D. pagei* sempre associado e se alimentando dessa espécie vegetal. Além disso, as raízes da macrófita *Eichhornia crassipes* são locais em potencial para o acúmulo de fragmentos de microplásticos, já que é possível ver vários resíduos plásticos presentes no local.

O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é uma espécie onívora, que incorpora uma importante percentagem de material vegetal na sua dieta (WILLINER; COLLINS, 2002). Os efeitos dos fragmentos de microplásticos adicionados nesse experimento não puderam ser avaliados quanto ao desenvolvimento dos animais devido ao curto período de sobrevivência

(apenas 40 dias). Nesse período inicial não foi registrado diferenças significativas entre os animais alimentados somente com macrófitas (TC) e aqueles alimentados com macrófitas mais fragmentos de microplásticos (TD). Os dados de crescimento neste experimento mostraram que independentemente da presença dos fragmentos de microplásticos, a alimentação apenas com macrófita é deficiente e causa uma elevada mortalidade.

Os espécimes de *Dilocarcinus pagei* alimentados apenas com ração (TA) apresentaram uma taxa de crescimento específico diferenciada nos dias iniciais do cultivo, com o LC médio maior nos tratamentos com ausência dos fragmentos de microplásticos. Após o 70º dia ocorreu uma inversão do padrão, com o LC médio de TA maior que o de TB. Essa situação pode ser explicada quando comparada com as taxas de sobrevivências, considerando que na condição TB houve uma maior taxa de mortalidade principalmente no período final de cultivo, houve uma redução também nas atividades de competição e os indivíduos que sobreviveram e com isso, continuaram a se desenvolver na ausência da competição. O efeito da densidade promovido pela competição de recurso alimentar/espço é um importante fator para a sobrevivência e crescimento dos juvenis de *Dilocarcinus pagei* como já mencionado anteriormente por Sant'Anna, Takahashi e Hattori (2015).

No segundo experimento também foi analisado o efeito da ingestão do microplástico no crescimento em peso e taxa mortalidade nos adultos. A menor ingestão de microplástico de 1 mm e as concentrações de 1 %, causaram a maior taxa de mortalidade, que pode estar diretamente ligada à ingestão destes microplástico, isto porque ao ser ingerido pode haver o acúmulo ou o bloqueio do trato digestivo dos animais aquáticos. Além disso, os fragmentos de microplásticos que atravessam o trato digestivo também podem ou não sofrer fragmentação (de SÁ et al., 2018). Em crustáceos, há relatos para a lagosta *Nephrops norvegicus* de enrolamento de fibras plásticas, sugerindo que a ação do moinho gástrico era a responsável pelo efeito de enovelamento, levando a um aumentado do tamanho do fragmento e o impedindo a sua passagem para o intestino médio em direção ao intestino posterior (MURRAY; COWIE, 2011).

A redução na massa corporal dos indivíduos alimentados com plástico já foi registrada na literatura. Perda de peso significativa foi observada em algumas espécies, como o anelídeo *Arenicola marina* (Linnaeus, 1758) estudado por Besseling et al. (2013) e para a lagosta *Nephrops norvegicus* (WELDEN; COWIE, 2016). Tais observações podem estar associadas aos longos tempos de retenção intestinal de microplásticos que podem induzir a falsa

saciedade, reduzindo dessa forma os tempos de alimentação e a estimulação de uma resposta inflamatória no intestino (WRIGHT et al., 2013).

A perda de peso aumentou com o aumento da concentração e do tamanho do microplástico presente nos alimentos. Assim, sugere-se que a ingestão de quantidade maior e de partículas maiores pode ter causado a perda de peso desses animais. Essas partículas, uma vez ingeridas, podem bloquear as vias intestinais, preencher e causar um efeito de falsa saciedade, resultando em um decréscimo na alimentação e por fim, há perda de peso, além de outros possíveis danos, como por exemplo, inibição do crescimento (WATTS et al., 2015), prejuízo do sistema reprodutivo (LEI et al., 2018), mobilidade diminuída (REHSE; KLOAS; ZARFL, 2016) e até mortalidade (RIST et al., 2016). Estes problemas acontecem porque as fibras retidas podem ficar emaranhadas no trato intestinal ao longo do tempo, levando a um bloqueio intestinal e por consequência, acarretam em morte desses animais. Isso ocorre uma vez que há a limitação na capacidade desses organismos de ingerir e digerir alimentos, podendo representar um fator de risco (COLE et al., 2013). Também é possível que a toxicidade relacionada à ingestão de fibras seja o resultado das estruturas internas serem danificadas à medida que as fibras emaranhadas passam pelo intestino (GRAY; WEINSTEIN, 2017).

Um estudo utilizando o copépode *Centropages typicus* Krøyer, 1849 demonstrou resultados semelhantes a este, onde a taxa de alimentação diminuiu com o aumento da adição de microplásticos (COLE et al., 2013). *Carcinus maenas* também diminuiu a alimentação na presença de microplástico (0,3-1,0 % de plástico por peso) (WATTS et al., 2015). Estudos com crustáceos como os de Cole et al. (2015) e Lee et al. (2013) observaram uma diminuição na sobrevivência e fecundidade dos copépodos marinhos *Calanus helgolandicus* (Claus, 1863) e *Tigriopus japonicus* Mori, 1938 quando expostos à microplásticos do tipo poliestireno (PS).

As fêmeas de *Dilocarcinus pagei* apresentaram menor perda de peso quando comparadas aos machos, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa. O fator de condição ou ganho de peso nos braquiúros é geralmente maior nas fêmeas, como já descrito para esta espécie estudada por Pinheiro e Taddei (2005). As fêmeas apresentam um maior peso decorrente do desenvolvimento gonadal após atingir a maturidade. Esse maior peso do desenvolvimento gonadal pode ter reduzidos os efeitos da perda de peso na presença dos fragmentos de microplásticos, uma vez que os experimentos ocorreram antes do período reprodutivo.

Para avaliar os impactos da presença e exposição dos fragmentos de microplásticos nos ambientes dulcícolas é necessário considerar aspectos da biologia, fisiologia e comportamento dos organismos para prever os danos potenciais desse material poluente. Espécies com menores atividades metabólicas podem ser menos suscetíveis à exposição dos microplásticos do que aquelas com maior demanda de energia (WATTS, 2015). Essa variação de efeitos da exposição pode estar ligada a diversos fatores além do tamanho e concentração dos fragmentos de microplásticos e principalmente os diferentes tipos de microplástico que podem estar presentes no local. Estudos sobre como ocorre a dinâmica desses fragmentos nos corpos d'água são importantes para auxiliar a compreensão de como tais partículas podem afetar os organismos aquáticos bentônicos como o caranguejo *Dilocarcinus pagei*.

5 CONCLUSÃO

O caranguejo *Dilocarcinus pagei* é sensível à adição de microplástico de diferentes tamanhos e concentrações na alimentação, apresentando efeitos negativos no crescimento de juvenis, ganho de peso e sobrevivência de adultos.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. C.; WINEMILLER, K. O.; BARBOSA, P. S.; FORTUNATI, A.; CHELAZZI, D.; CINCINELLI, A.; GIARRIZZO, T. First account of plastic pollution impacting freshwater fishes in the Amazon: Ingestion of plastic debris by piranhas and other serrasalmids with diverse feeding habits. **Environmental Pollution**, v. 244, p. 766-773, 2019.
- BESSELING, E.; WEGNER, A.; FOEKEMA, E. M.; VAN DEN HEUVEL-GREVE, M. J.; KOELMANS, A. A. Effects of microplastic on fitness and PCB bioaccumulation by the lugworm *Arenicola marina* (L.). **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 1, p. 593-600, 2012.
- COSTA, M. M.; NAKAGAKI, J. Evaluation of the Territorial Dispute by the Freshwater Crab *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 (Crustacea, Brachyura, Trichodactylidae), in Laboratory. **Journal of Aquatic Science and Marine Biology**, v. 1, n. 3, p. 01-11, 2018.
- COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; GALLOWAY, T.S. Microplastic ingestion by zooplankton. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 12, p. 6646-6655, 2013.
- COLE, M.; LINDEQUE, P.; FILEMAN, E.; HALSBAND, C.; GALLOWAY, T. S. The impact of polystyrene microplastics on feeding, function and fecundity in the marine copepod *Calanus helgolandicus*. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 2, p. 1130-1137, 2015.
- DANTAS, D. V.; BARLETTA, M.; DA COSTA, M. F. The seasonal and spatial patterns of ingestion of polyfilament nylon fragments by estuarine drums (Sciaenidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 19, n. 2, p. 600-606, 2012.
- DAVANSO, T. M.; TADDEI, F. G.; HIROSE, G. L.; COSTA, R. C. Sexual maturity, handedness and sexual dimorphism of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* in Southeastern Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 3, p. 269-279, 2016.
- DA SILVA, C. J.; NOGUEIRA, F.; ESTEVES, F. A. Composição química das principais espécies de macrófitas aquáticas do Lago Recreio, Pantanal Matogrossense (MT). **Revista Brasileira Biologia**, v. 54, p. 617-622, 1994.
- DA SILVA, E. F.; SANT'ANNA, B. S. Desiccation tolerance of two freshwater crabs of the Amazon: *Dilocarcinus pagei* and *Sylviocarcinus pictus* (Decapoda, Trichodactylidae). **Crustaceana**, v. 92, n. 9, p. 1025-1037, 2019.

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

FARRELL, P.; NELSON, K. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). **Environmental Pollution**, v. 177, p. 1-3, 2013.

GRAY, A. D.; WEINSTEIN, J. E. Size-and shape-dependent effects of microplastic particles on adult daggerblade grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). *Environmental toxicology and chemistry*, v. 36, n. 11, p. 3074-3080, 2017.

HENRY-SILVA, G. G.; MONTEIRO C. A. F. Valor nutritivo de macrófitas aquáticas flutuantes (*Eichhornia crassipes*, *Pistia stratiotes* e *Salvinia molesta*) utilizadas no tratamento de efluentes de aquicultura. **Acta Scientiarum: Biological and Health Sciences**, p. 519-526, 2002.

LEBRETON, L. C.; VAN DER ZWET, J.; DAMSTEEG, J. W.; SLAT, B.; ANDRADY, A.; REISSER, J. River plastic emissions to the world's oceans. *Nature communications*, v. 8, n. 15611. p. 1-10, 2017.

LEE, K. W.; SHIM, W. J.; KWON, O. Y.; KANG, J. H. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 19, p. 11278-11283, 2013.

LEI, L.; WU, S.; LU, S.; LIU, M.; SONG, Y.; FU, Z.; SHI, H.; RALEY-SUSMAN, K.M.; HE, D. Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans*. **Science of the Total Environment**, v. 619, p. 1-8, 2018.

MAGALHÃES, C. Avaliação dos Caranguejos tricodactídeos (Decapoda: Trichodactylidae), Cap. 32: p. 420-440. In: Pinheiro, M.A.A. Boos, H. (Org.). **Livro Vermelho dos Crustáceos do Brasil: Avaliação 2010-2014**. Porto Alegre, RS:Sociedade Brasileira de Carcinologia - SBC, 2016.p. 466.

MAGALHÃES, C. Brachyura: Pseudothelphusidae e Trichodactylidae. In: Melo, G. A. S. (Ed.). **Manual de identificação dos crustáceos decápodos de água doce do Brasil**. Edições Loyola, São Paulo, Brasil, 2003.p.143-297.

MARTIN, J. W.; DAVIS, G. E. An updated classification of the recent Crustacea. **Los Angeles: Natural History Museum of Los Angeles County**, v. 39, p 1-139, 2001.

MURRAY, F.; COWIE, P. R. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 6, p. 1207-1217, 2011.

NIZZETTO, L.; BUSSI, G.; FUTTER, M. N.; BUTTERFIELD, D.; WHITEHEAD, P. G. A theoretical assessment of microplastic transport in river catchments and their retention by soils and river sediments. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 18, n. 8, p. 1050-1059, 2016.

PAZOS, R. S.; MAIZTEGUI, T.; COLAUTTI, D. C.; PARACAMPO, A. H.; GÓMEZ, N. Microplastics in gut contents of coastal freshwater fish from Río de la Plata estuary. **Marine pollution bulletin**, v. 122, n. 1-2, p. 85-90, 2017.

PEGADO, T. DE S. E. S.; SCHMID, K.; WINEMILLER, K.O.; CHELAZZI, D.; CINCINELLI, A.; DEI, L.; GIARRIZZO, T. First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 133, p. 814-821, 2018.

PINHEIRO, M. A. A.; TADDEI, F. G. Growth of the freshwater crab, *Dilocarcinus pagei* Stimpson (Crustacea, Brachyura, Trichodactylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 3, p. 522-528, 2005.

POSSATTO, F. E.; BARLETTA, M.; COSTA, M. F.; DO SUL, J. A. I.; DANTAS, D. V. Plastic debris ingestion by marine catfish: an unexpected fisheries impact. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, n. 5, p. 1098-1102, 2011.

RAMOS, J. A.; BARLETTA, M.; COSTA, M. F. Ingestion of nylon threads by Gerreidae while using a tropical estuary as foraging grounds. **Aquatic Biology**, v. 17, n. 1, p. 29-34, 2012.

REHSE, S.; KLOAS, W.; ZARFL, C. Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*. **Chemosphere**, v. 153, p. 91-99, 2016.

RIST, S. E.; ASSIDQI, K.; ZAMANI, N.P.; APPEL, D.; PERSCHKE, M.; HUHN, M.; LENZ, M. As partículas suspensas de PVC de tamanho reduzido prejudicam o desempenho e diminuem a sobrevivência do mexilhão verde asiático *Perna viridis*. **Boletim da Poluição Marinha**. v. 111, n. 1-2, p. 213-220, 2016.

SANT'ANNA, B. S.; ANDRADE, D. R.; WATANABE, T. T.; HATTORI, G. Y. Behavioral repertoire and substrate choice of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* Stimpson, 1861 (Decapoda, Trichodactylidae). In: Ardovini C. **Crabs: global diversity, behavior and environmental threats**. Nova Science Publishers. New York: 2014, p. 57-73.

SANT'ANNA, B. S.; TAKAHASHI, E. L. H.; HATTORI, G. Y. Experimental culture of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei*: effect of density on the growth. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 3, p. 645-653, 2015.

SILVA-CAVALCANTI, J. S.; SILVA, J. D. B.; DE FRANÇA, E. J.; DE ARAÚJO, M. C. B.; GUSMÃO, F. Microplastics ingestion by a common tropical freshwater fishing resource. **Environmental Pollution**, v. 221, p. 218-226, 2017.

THOMPSON, R. C.; MOORE, C. J.; VOM SAAL, F. S.; SWAN, S. H. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 364, n. 1526, p. 2153-2166, 2009.

WAITE, H. R.; DONNELLY, M. J.; WALTERS, L. J. Quantity and types of microplastics in the organic tissues of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* from a Florida estuary. **Marine Pollution Bulletin**, v. 129, n. 1, p. 179-185, 2018.

WATTS, A. J. R.; LEWIS, C.; GOODHEAD, R. M.; BECKETT, S. J.; MOGER, J.; TYLER, C. R.; GALLOWAY, T. S. Uptake and retention of microplastics by the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science & Technology**, v. 48, n. 15, p. 8823-8830, 2014.

WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; CORR, S.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. Ingestion of plastic microfibers by the crab *Carcinus maenas* and its effect on food consumption and energy balance. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 24, p. 14597-14604, 2015.

WATTS, A. J.; URBINA, M. A.; GOODHEAD, R.; MOGER, J.; LEWIS, C.; GALLOWAY, T. S. Effect of microplastic on the gills of the shore crab *Carcinus maenas*. **Environmental Science & Technology**, v. 50, n. 10, p. 5364-5369, 2016.

WELDEN, N. A.; COWIE, P. R. Long-term microplastic retention causes reduced body condition in the langoustine, *Nephrops norvegicus*. **Environmental Pollution**, v. 218, p. 895-900, 2016.

WILLINER, V.; COLLINS, P.A. Daily rhythm of feeding activity of the freshwater crab *Dilocarcinus pagei* in the Rio Pilcomayo National Park, Formosa, Argentina. In: Escobar-Briones, E. e Álvarez, F. (Eds.). **Modern approaches to the study of Crustacea**. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Dordrecht, 2002. p. 171-178.

WÓJCIK-FUDALEWSKA, D.; NORMANT-SAREMBA, M.; ANASTÁCIO, P. Occurrence of plastic debris in the stomach of the invasive crab *Eriocheir sinensis*. **Marine Pollution Bulletin**, v. 113, n. 1-2, p. 306-311, 2016.

WRIGHT, S.L.; ROWE, D.; THOMPSON, R.C.; GALLOWAY, T.S. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. **Current Biology**, v. 23, n. 23, p. 1031-1033, 2013.

YU, PING U, P.; LIU, Z.; WU, D.; CHEN, M.; LV, W.; ZHAO, Y. Accumulation of polystyrene microplastics in juvenile *Eriocheir sinensis* and oxidative stress effects in the liver. **Aquatic Toxicology**, v. 200, p. 28-36, 2018.

ANEXO A – Autorização para atividade com finalidade científica- SISBIO/ICEMBIO



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: 62670-2	Data da Emissão: 24/05/2019 09:28:51	Data da Revalidação*: 24/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Nelcilene de Almeida pontes	CPF: 016.370.982-35
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	1. Coleta dos espécimes; 2. Biometria e aclimatação; 3. Ensaio experimentais 4. Análise microscópi	03/2018	03/2020

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Marcia Loyana Pedreno Viana	auxiliar de campo e laboratorio	020.231.882-61	Brasileira
2	Gustavo Frigi Perotti	Co-orientador do projeto.	325.956.798-48	Brasileira
3	Hanna Paula	auxiliar de campo e laboratório	016.313.192-99	Brasileira
4	Elione Fernanda Ribeiro Pereira	auxiliar de campo e laboratorio	023.046.622-26	Brasileira
5	Diana Monteiro Pacheco	Co-autora	016.418.982-32	Brasileira

Observações e ressalvas

1	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 (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
2	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.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, 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.
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.
6	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.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa N.º 03/2014. 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: 0626700220190524

Página 1/3



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: 62670-2	Data da Emissão: 24/05/2019 09:28:51	Data da Revalidação*: 24/05/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Nelcilene de Almeida pontes	CPF: 016.370.982-35
Nome da Instituição: Universidade Federal do Amazonas	CNPJ: 04.378.626/0001-97

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Lagoa da poranga	Itacoatiara-AM	Amazônia	Não	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Manutenção temporária (até 24 meses) de invertebrados silvestres em cativeiro	Trichodactylidae	-
2	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Trichodactylidae	200

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Método de captura/coleta (Invertebrados Aquáticos)	Rede de arrasto de fundo (tração motorizada); tangones, portas ou parelha, Puçá, Captura manual, Coleta manual, Puçá, Captura manual
2	Método de marcação (Invertebrados Aquáticos)	Etiquetas e/ou pinos

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	Universidade Federal do Amazonas	Outro

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. 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: 0626700220190524

Página 2/3

