



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

FLÁVIA JULIANA LOBATO DE FRANÇA

**MICROPLÁSTICOS E FENANTRENO: UM ESTUDO DE CASO SOBRE A
ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE METAZOÁRIOS DIMINUTOS**

Recife
2024

FLÁVIA JULIANA LOBATO DE FRANÇA

**MICROPLÁSTICOS E FENANTRENO: UM ESTUDO DE CASO SOBRE A
ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE METAZOÁRIOS DIMINUTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre (a) em Biologia Animal. Área de concentração: Biologia Animal.

Orientador(a): Giovanni Amadeu Paiva dos Santos

Coorientador(a): Tom Moens

Recife

2024

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

França, Flávia Juliana Lobato de
Microplásticos e fenantreno: um estudo de caso da comunidade Metazoários Diminutos. / Flávia Juliana Lobato de França. – 2024.

155 f. : il., fig.; tab.

Orientador: Giovanni Amadeu Paiva dos Santos.
Coorientador: Tom Moens.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, 2024.

Inclui referências.

1. Experimento. 2. Fenantreno. 3. Meiofauna. 4. Microcosmo. 5. Poliestireno. 6. Revisão de literatura. I. Santos, Giovanni Amadeu Paiva dos (Orient.). II. Moens, Tom (Coorient.). III. Título.

590

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-085

FLÁVIA JULIANA LOBATO DE FRANÇA

**MICROPLÁSTICOS E FENANTRENO: UM ESTUDO DE CASO SOBRE A
ESTRUTURA DA COMUNIDADE DE METAZOÁRIOS DIMINUTOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre (a) em Biologia Animal. Área de concentração: Biologia Animal.

Aprovado em: 30/01/2024.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Fabiane Gallucci (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Paraná – UFPR

Dr^a. Taciana Kramer de Oliveira Pinto (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Dr. André Morgados Esteves (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dr. Alexandre Oliveira de Almeida (Suplente Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dr^a. Patrícia Fernandes Neres (Suplente Externa)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

À minha família, amigos e a todos que sempre estiveram presente e que de forma direta ou indireta tornaram este trabalho possível, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, pois só Ele sabe de todos os acontecimentos que me acompanharam nessa trajetória, Ele não desistiu de mim.

Em segundo, a minha família: meus pais (José Flávio Cavalcanti de França Filho e Carlos Bianco da Silva), minhas mães (Joana Maria Lobato e Juliana Maria da Conceição Lobato), minha vovis (Arlete carneiro da Rocha), meus irmãos (Fabiola Jenneffer Lobato de França, José Carlos Marques de farias Junior, José Flávio Cavalcanti de França Neto e Mayanna Bianco da Silva Lobato) e todos aqueles que sempre estiveram ao meu lado, aguentando meu 1kg de chatice. Jamais esquecerei todo apoio, e não vejo como recompensa-los, mas saibam que continuarei tanando.

Continuo aqui ainda agradecendo a minha outra família, quem me conhece sabe que para mim a família não começa e nem acaba com o sangue, então aos meus amigos gostaria de também agradecer. Em especial ao meu amigo e primo Guilherme Oliveira, por me apoiar e me fazer a maior cinéfila de todos os tempos. Ao meu melhor amigo Josival Francisco, que de longe acredito ser uma das poucas pessoas que consigo conversar abertamente sobre absolutamente qualquer coisa.

As minhas amigas, Amanda Priscila Apolinário Soares Ribeiro (Meu Deus, como amo falar esse nome completo) e Thassia Cavalcanti, por me aturarem durante toda a graduação, e por continuarem comigo até hoje (E espero eu, pelo resto de minha vida). As minhas amigas Mayara Lima e Carolina Novaes, que mesmo distantes, estão sempre perto. Aos meus amigos e companheiros de graduação e mestrado, Túlio Freire e Juann Aryell por estarem comigo e compartilharem dos mesmos desesperos, pequenas alegrias e vitórias nessa caminhada, juntos fomos mais fortes, gratidão eterna, amigos.

Aos meus amigos de laboratório e acredito que da vida, Débora França e Renan Belém, por fazerem meus dias no laboratório serem mais alegres, por me apoiarem sempre, por serem amigos de verdade e apontarem quando estou errada, por chorarem comigo e sorrirem comigo. Em especial ao meu querido amigo Renan, que mais que ninguém me faz sentir força quando parece que não tenho mais, que acredita mais em mim do que eu mesma, jamais esquecerei, e todas as vezes que quase esqueço, lembro. Obrigada, amigo, obrigada, amigos.

Agradeço grandemente a Giovanna Lins, Emanuele Firmino, Natally Costa e Thalita Maria, por me ajudarem em todos os processos laboratoriais, e em minha caminhada no mestrado. Vocês foram, e alguns de vocês ainda são parte presente de minha vida, tornara-se mais que companheiras de trabalho, minhas amigas. Obrigada,

meninas. Amo vocês filhotes, amigas!

As minhas parceiras diárias Kailah Rebeca e Emanuele Firmino que moram comigo e escutam todos os dias minhas baboseiras. Obrigada amigas por todas as palavras, conselhos, choros e risos. Nossas filosofias diárias me fazem caminhar e continuar dando um passo de cada vez. Amo vocês!

Agradeço ainda ao meu orientador Giovanni dos Santos por todo apoio nesses anos de mestrado, pela confiança e por tornar possível a realização de um sonho muito antigo que é seguir a carreira acadêmica. Agradeço por me ensinar e por continuar me ensinando até o último segundo. Agradeço também ao meu Coorientador Tom Moens, que me recebeu de braços abertos e que me ensina gentilmente a vislumbrar o ser pesquisador. A ambos, a minha mais sincera gratidão.

Ao laboratório LACIMME e todas as pessoas que estiveram comigo nessa jornada, esse lugar me ensinou muito, me tornou mais forte e de fato me faz imaginar o tipo de pessoa que quero e tento ser. Minha eterna gratidão, LACIMME.

Agradeço também todo o suporte de seu Wilton, ex membro do LACIMME, mas jamais esquecido, por todo apoio técnico, gentileza e humildade. O senhor me ensinou tanto, com tão poucas palavras, mas com atitudes que me fazem querer mudar o mundo. Seu espírito de prestatividade sempre me fez refletir sobre como deveríamos fazer mais, sem esperar nada em troca. Que esse sentimento continue me contagiando, obrigada.

Não poderia também deixar de prestar meus agradecimentos a minha Comunidade do Caranguejo, dali nasci, vivi e sobrevivi, e hoje sou quem sou, em partes, por causa de você, minha comunidade.

Sou imensamente grata também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), por conceder apoio financeiro durante esse processo, pois seria muito mais difícil, sem seu apoio.

Obrigada, a todos!

“É difícil esperar por algo que você sabe que pode não acontecer nunca. Mas é ainda mais difícil desistir quando isso é o que você mais quer “. (Supernatural, 2016-Temporada 12).

RESUMO

Os microplásticos (MP's) representam uma ameaça atual e crescente nos ecossistemas marinhos. Sua capacidade de sedimentar no bentos marinho torna os organismos que ali vivem propensos a impactos diretos desse estressor. Dentre os organismos bentônicos, a meiofauna se destaca por ser uma comunidade com diferentes grupos zoológicos com distintos graus de tolerância, além do curto ciclo de vida e contato íntimo com o substrato. Apesar dos estudos com MP's e meiofauna vir aumentando desde a segunda década do ano 2000, ainda há muita lacuna quanto aos efeitos dos MP's, principalmente porque a maioria dos estudos são monoespecíficos, avaliando geralmente a absorção do MP. Além desse fato, ainda se entende MP como uma partícula inerte, com baixo poder de toxicidade. Nesse contexto, este estudo está dividido em três capítulos, cujos objetivos são: I) avaliar o que sabemos até o momento sobre MP e seus efeitos na meiofauna através de uma revisão de literatura II) investigar os efeitos do MP de curto prazo e III) comparar os efeitos de longo prazo do MP com os do Hidrocarboneto Policíclico Aromático (HPA) fenantreno, tendo em vista que ambos possuem a mesma base de origem. Para a revisão utilizamos como base de dados as plataformas da Web Of Science e Google Scholar, a busca foi realizada com auxílio de operadores booleanos ou Kit de busca até março de 2023. Os efeitos de curto prazo para MP e de longo prazo comparando MP e fenantreno foram realizados em microcosmos experimentais em laboratório com concentrações encontradas naturalmente no ambiente. Incluímos na revisão 132 estudos com MP e grupos individuais ou em comunidade da meiofauna, e conseguimos perceber que há uma tendência na utilização dos polímeros e morfotipos de MP testados, uma vez que poliestireno (PS) de morfotipo microesfera foram os mais investigados, em contrapartida, os dados apontam que polímeros mais densos que o PS são os mais danosos. Apesar de neste estudo usarmos o PS de 1µm de comprimento nos experimentos, vale pontuar que a maioria dos estudos foram avaliados monoespecificamente. Dessa forma, em um curto período de exposição, o MP diminuiu a densidade total da meiofauna, bem como os índices de diversidade. Porém, a menor concentração foi mais danosa do que a maior concentração testada. Além disso, todos os táxons avaliados foram capazes de ingerir MP, com exceção de Tardigrada. No experimento comparativo, o MP foi mais danoso do que o HPA fenantreno, com efeitos mais pronunciados com aumento da concentração e tempo de exposição. Portanto, os MP são danosos a meiofauna, tanto em período curto quanto prolongado, além disso, o MP pode ser tão danoso quanto ou até mais danoso do que compostos químicos, como o HPA fenantreno. E por fim, estudos em nível de comunidade e testando outros polímeros e morfotipos plásticos são recomendados, tendo em vista a tendência observada nos estudos já publicados.

Palavras-chave: Experimento; Fenantreno; Meiofauna; Microcosmo, Poliestireno; Revisão de literatura.

ABSTRACT

Microplastics (MPs) represent a current and growing threat to marine ecosystems. Its ability to settle in marine benthos makes the organisms that live there prone to direct impacts from this stressor. Among benthic organisms, meiofauna stands out for being a community with different zoological groups with different degrees of tolerance, in addition to their short life cycle and intimate contact with the substrate. Although studies on MPs and meiofauna have been increasing since the second decade of 2000, there is still a large gap regarding the effects of MPs, mainly because most studies are monospecific, generally evaluating MP absorption. In addition to this fact, MP is still understood as an inert particle, with low toxicity. In this context, this study aims to investigate the short-term effects of MP and compare the long-term effects of MP with those of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (HPA) phenanthrene, considering that both have the same base of origin. Furthermore, this study also intends to evaluate what we know so far about MP and its effects on the meiofauna through a literature review. For the review, we used the Web Of Science and Google Scholar platforms as a database, the search was carried out with the help of Boolean operators or Search Kit until March 2023. The short-term effects for MP and long-term effects comparing MP and phenanthrene were carried out in experimental microcosms in the laboratory with concentrations found naturally in the environment. We included in the review 132 studies with MP and individual groups or in the meiofauna community, and we were able to see that there is a trend in the use of the polymers and morphotypes of MP tested, since polystyrene (PS) with the microsphere morphotype were the most investigated, on the other hand, the data indicates that polymers denser than PS are the most harmful. Although in this study we used 1µm long PS in the experiments, it is worth noting that most studies were evaluated monospecifically. Thus, in a short period of exposure, MP decreased the total density of meiofauna, as well as diversity indices. However, the lowest concentration was more harmful than the highest concentration tested. Furthermore, all taxa evaluated were capable of ingesting MP, with the exception of Tardigrada. In the comparative experiment, MP was more harmful than HPA phenanthrene, with more pronounced effects with increasing concentration and exposure time. Therefore, MPs are harmful to meiofauna, both in short and long periods, in addition, MP can be as harmful as or even more harmful than chemical compounds, such as HPA phenanthrene. And finally, studies at the community level and testing other polymers and plastic morphotypes are recommended, given the trend observed in studies already published.

Keywords: Experiment; Phenanthrene; Meiofauna; Microcosm, Polystyrene; Literature review.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 – Estamos tendenciando os estudos com microplástico na meiofauna?

Figura 1 –	Fluxograma demonstrando processo de recuperação (1), seleção dos periódicos (2) e análise de dados do presente estudo (3).	29
Figura 2 –	Número de estudos com a meiofauna aquática e semiaquática entre 2012 e março de 2023.	32
Figura 3 –	Mapa de coocorrência de palavras-chaves de estudos publicados até março de 2023 com foco nas interações entre MP's e meiofauna (A) e mapa de coocorrência de palavras-chaves de estudos publicados até março de 2023 com foco nas interações entre MP's e meiofauna temporalmente (B). A) Cluster 1 (Vermelho), Cluster 2 (Amarelo), Cluster 3 (Azul) e Cluster 4 (Verde).	34
Figura 4 –	Quantidade de estudos (%) por tipo de polímero plástico mais investigados na meiofauna exclusivamente aquática.	36
Figura 5 –	Quantidade de estudos (%) por morfotipo de plástico mais investigados na meiofauna exclusivamente aquática.	38
Figura 6 –	Relação entre polímero e morfotipo mais investigado na meiofauna aquática.	39
Figura 7 –	Tamanhos dos microplásticos mais investigados na meiofauna aquática.	40
Figura 8 –	Matriz de contaminação mais investigada na meiofauna aquática.	41
Figura 9 –	Esquema demonstrando quantidade de estudos com interação entre microplásticos e estressores na meiofauna exclusivamente aquática. *Fatores abióticos.	42
Figura 10 –	Relação entre polímero e morfotipo mais investigado na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres.	52
52Figura 11 –	Relação entre tamanho e polímero mais investigados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres.	53
Figura 12 –	Matriz de contaminação mais investigada na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres.	54

Figura 13 – Esquema demonstrando quantidade de estudos com interação entre microplásticos e estressores na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. *Fatores abióticos. 56

CAPÍTULO 2 – Efeitos dos microplásticos de curto prazo na abundância, diversidade e composição da comunidade da meiofauna marinha

- Figura 1 – Média da densidade total da meiofauna (A) e nematoides (B) em ind/10 cm² (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Controle após a estabilização (T0), coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras minúsculas diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental, enquanto as maiúsculas representam a diferença ao longo do tempo. Concentrações em partículas/mL. 91
- Figura 2 – Uma barra multicolorida representa a abundância relativa (%) dos táxons da meiofauna no eixo Y esquerdo, enquanto os pontos com barras representam a riqueza dos táxons no eixo Y direito. Controle de campo (Camb), controle após estabilização (T0), coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao MP. Concentrações em partículas/mL. 92
- Figura 3 – Média do índice de Pielou (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em partículas/mL. 94
- Figura 4 – Média do índice de diversidade de Shannon (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em partículas/mL. 95
- Figura 5 – Escala multidimensional não métrica (nMDS) da composição da comunidade da meiofauna em quatro tratamentos diferentes (C, 10³, 10⁵, 10⁷ part./mL) em três tempos de incubação (T3, T6 e T9). O nMDS é baseado nas densidades dos táxons da meiofauna (transformadas na quarta raiz) e usando a similaridade de Bray-Curtis. Os vetores mostrados são vetores de correlação para os diferentes táxons da meiofauna, onde o tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson. 96
- Figura 6 – Contaminação interna (ingestão) e externa por partículas microplásticas em diversas concentrações. O eixo Y esquerdo representa a porcentagem de partículas internas e externas por 98

indivíduo, enquanto o eixo Y direito ilustra a contagem média (\pm SE) de partículas internas e externas por indivíduo para cada grupo de meiofauna avaliado em cada concentração testada. Concentrações de MP em partículas/mL.

- Figura 7 – Contaminação interna (ingestão-triângulo vermelho) e externa (triângulo azul) por microplástico PS de 1 μ m na concentração de 10⁷ part./mL. na meiofauna marinha. Nauplii (A) Copepoda (B) Tardigrada (C) Acari (D). 99
- Figura 7 – Contaminação interna (ingestão-triângulo vermelho) e externa (triângulo azul) por microplástico PS de 1 μ m na concentração de 10⁷ part./mL. na meiofauna marinha. Turbellaria (E) Gastrotricha (F). 100
- Figura 8 – Quantidade total de partículas internas em Nematoda por região corporal (faríngea, intestino médio e intestino posterior), tratamento e tempo de exposição. A cor da escala de 0 a 1000 representa a quantidade de partículas ingeridas. Cada cor representa a concentração em part./mL. 101
- Figura 9 – Contaminação interna (triângulo vermelho-ingestão) e externa (triângulo azul) em Nematoda ao longo do tempo a uma concentração de 10⁷ part./mL. Três dias após a exposição ao microplástico (Tempo 3), seis dias após a exposição ao microplástico (Tempo 6) e nove dias após a exposição ao microplástico (Tempo 9). 102

CAPÍTULO 3 – Efeito de compostos a base de petróleo- microplásticos (MP's) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's)

- Figura 1 – Densidade da meiofauna por 10 cm² sob exposição ao microplástico. Média da densidade total da meiofauna em ind/10 cm² (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T30) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em partículas/mL. 118
- Figura 2 – Abundância relativa e riqueza de espécies sob exposição ao microplástico. Barra multicolorida representa a abundância relativa (%) no eixo Y esquerdo e pontos com barras de whiskers representa a riqueza (\pm SE) de espécies no eixo Y direito dos grupos da meiofauna em cada tratamento. Cada cor representa um táxon encontrado no experimento. Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T15) dias de exposição ao PS. Concentrações em partículas/mL. 119
- Figura 3 – Estrutura da comunidade sob exposição ao microplástico. Escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) baseado 121

em densidades de grupos de meiofauna (padronizado na raiz quarta, usando o índice de similaridade Bray-Curtis) demonstrando a similaridade da estrutura da comunidade nos diferentes tratamentos (C, 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 part./mL) e tempos (T15 e T30), com vetores da correlação de Person dos taxa da meiofauna encontrados, aonde o tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson. O T15 está representado pelos símbolos preenchidos enquanto no T30 não preenchidos, para 10^7 part./mL a + representa T15 enquanto * T30

- Figura 4 – Densidade total da meiofauna por 10cm² sob exposição ao fenantreno. Média da densidade total da meiofauna em ind/10 cm² (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T30) dias de exposição ao HPA fenantreno. As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em µg/mL. 123
- Figura 5 – Abundância relativa e riqueza de espécies sob exposição ao fenantreno. Barra multicolorida representa a abundância relativa (%) no eixo Y esquerdo e pontos com barras de whiskers representa a riqueza (\pm SE) de espécies no eixo Y direito dos grupos da meiofauna em cada tratamento. Cada cor representa um táxon encontrado no experimento. Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T15) dias de exposição ao fenantreno. Concentrações em µg/mL. 125
- Figura 6 – Estrutura da comunidade sob exposição ao fenantreno. Escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) baseado em densidades de grupos de meiofauna (padronizado na quarta raiz, usando Bray-Curtis) demonstrando a similaridade da estrutura da comunidade nos diferentes tratamentos (C, CS, 0,01; 0,1; 0,5; 1 e 10 µg/mL) e tempos (T15 e T30), com vetores da correlação de Person dos taxa da meiofauna encontrados, aonde o tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson. O T15 está representado pelos símbolos preenchidos enquanto no T30 não preenchidos. 127

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – Estamos tendenciando os estudos ou o uso dos microplásticos na meiofauna?

Tabela 1 –	Resumo dos organismos teste e seus respectivos habitats	32
Tabela 2 –	Efeito do microplásticos em parâmetros da história de vida da meiofauna exclusivamente aquática. O tamanho do círculo representa o número de vezes que o parâmetro foi avaliado enquanto a cor representa a ocorrência de parâmetros afetados (ou seja, quais foram identificadas diferenças significativas entre o controle e o tratamento).	44
Tabela 3 –	Relação entre efeito, tipo de polímero e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna exclusivamente aquática. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados (ou seja, quais foram identificadas diferenças significativas entre o controle e o tratamento).	47
Tabela 4 –	Relação entre efeito, morfotipo e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna exclusivamente aquática. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados (ou seja, quais foram identificadas diferenças significativas entre o controle e o tratamento).	49
Tabela 5 –	Efeito dos microplásticos em parâmetros da história de vida da meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. O tamanho do círculo representa o número de vezes que o parâmetro foi avaliado enquanto a cor representa a ocorrência de parâmetros afetados (ou seja, quais foram identificadas diferenças significativas entre o controle e o tratamento).	57
Tabela 6 –	Relação entre efeito, polímero e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados (ou seja, quais foram identificadas diferenças significativas entre o controle e o tratamento).	60
Tabela 7 –	Relação entre efeito, morfotipo e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados (ou seja, quais foram identificadas diferenças significativas entre o controle e o tratamento).	62

CAPÍTULO 3 – Efeito de compostos a base de petróleo- microplásticos (MP's) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's)

- Tabela 1 – Resultados PERMANOVA E PAIR-WISE para os índices de diversidade (Shannon e Pielou) sob exposição ao microplástico. Valores de P (perm) <0,05 estão sinalizados em negrito. df, grau de liberdade; MS, média quadrada, Res, residual. Concentração de MP em partículas/mL. 120
- Tabela 2 – Resultados PERMANOVA E PAIR-WISE para os índices de diversidade (Shannon e Pielou) sob exposição ao fenantreno. Valores de P (perm) <0,05 estão sinalizados em negrito. df, grau de liberdade; MS, média quadrada, Res, residual. Concentração de fenantreno em µg/mL. 126

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µm	Micrômetro
FA	Fatores abióticos
HDPE	Poliétileno de alta densidade
HPA	Hidrocarboneto Policíclico Aromático
IN	Não informado
LDPE	Poliétileno de baixa densidade
mm	Milímetro
MP	Microplástico
PA	Poliâmida
PAN	Poliacrilato
PE	Poliétileno
PET	Poliétilenotereftalato
POP's	Poluentes orgânicos persistentes
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PUR	Poliuretano
PVC	Policloreto de vinila
TWP's	Partículas de desgaste de pneu

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	19
2.	CAPÍTULO 1 – Estamos tendenciando os estudos ou o uso dos microplásticos na meiofauna?	23
2.1.	Introdução.....	25
2.2.	Materiais e métodos	28
2.2.1.	Fontes de dados e recuperação de estudos	28
2.2.2	Classificação de tamanho, morfotipos e concentração	29
2.2.3	Classificação dos parâmetros avaliados nos estudos	30
2.2.4	Visualização e análise de dados	31
2.3	Resultados	31
2.3.1	Caracterização geral das publicações com análise bibliométrica.....	31
2.3.2	Tendências gerais dos estudos com microplástico na meiofauna exclusivamente aquática	35
2.3.2.1	Frequência de polímero, morfotipo e tamanho estudados na meiofauna aquática	35
2.3.2.2	Matriz de exposição meiofauna exclusivamente aquática.....	40
2.3.3.3	Interação de microplástico com outros estressores	41
2.3.3	Efeito do microplástico na meiofauna exclusivamente aquática.....	42
2.3.4	Tendências gerais dos estudos com microplástico na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres	50
2.3.4.1	Frequência de polímero, morfotipo e tamanho estudados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres	50
2.3.4.2	Matriz de exposição semiaquática e nematoides terrestres	54
2.3.4.3	Interação de microplástico com outros estressores	54
2.3.5	Efeito de microplástico na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres ...	56
2.4	Discussão.....	63
2.5	Conclusão	81
3.	CAPÍTULO 2 – Efeitos de curto prazo dos microplásticos na abundância, diversidade e composição da comunidade da meiofauna marinha.....	83
3.1	Introdução	85
3.2	Materiais e métodos	86
3.3	Resultados	90
3.4	Discussão.....	102
3.5	Conclusão	107

4.	CAPÍTULO 3: Efeito de compostos a base de petróleo na meiofauna marinha- microplásticos (MP's) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's).....	109
4.1	Introdução	111
4.2	Materiais e métodos	113
4.3	Resultados.....	116
4.3.1	Estabilização experimental.....	116
4.3.2	Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do PS na comunidade da meiofauna	117
4.3.3	Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do HPA fenantreno na comunidade da meiofauna.....	122
4.3.4	Comparação da resposta da meiofauna entre os efeitos do microplástico (PS) e HPA (fenantreno).....	128
4.4	Discussão.....	130
4.4.1	Estabilização experimental.....	130
4.4.2	Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do PS na comunidade da meiofauna	130
4.4.3	Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do HPA fenantreno na comunidade da meiofauna.....	133
4.4.4	Comparação da resposta da meiofauna entre os efeitos do microplástico (PS) e HPA (fenantreno).....	135
4.5	Conclusão	138
	4.CONSIDERAÇÕES FINAIS	139
	REFERÊNCIAS	141

1. INTRODUÇÃO GERAL

A medida em que o tempo passa o ser humano ainda continua com o ideal de que a natureza está ao seu serviço, e mesmo que a ideia de sustentabilidade tenha surgido como forma de equilibrarmos desenvolvimento econômico com o ambiental, a exploração dos recursos naturais implica em um grande desequilíbrio ambiental. O petróleo bruto é uma das matérias primas mais requisitadas mundialmente. Ele é constituído de uma mistura de hidrocarbonetos, e através dele vários subprodutos de importância econômica e social, como o óleo diesel, gasolina, piche, plástico e outros subprodutos químicos utilizados na indústria (KUPPUSAMY *et al.*, 2020). Embora o petróleo bruto seja de extrema importância, a sua exploração bem como seu refinamento estão atrelados a duas grandes problemáticas ambientais que impactam diretamente os ecossistemas aquáticos e terrestres: a poluição por plástico e a poluição por hidrocarbonetos.

Uma das problemáticas ambiental mais crescente e talvez a potencialmente mais perigosa atualmente é a poluição por plástico. Isso porque os monômeros que produzem eles são oriundos da nafta, que é uma fração do petróleo bruto (KUPPUSAMY *et al.*, 2020), não degradável. A natureza não biodegradável desses produtos, devido a grande massa molecular e estrutura complexa (RAZA; ABID; BANAT, 2018), confere um grande fardo ambiental, uma vez que eles podem passar várias décadas disponíveis no ambiente. Atrelado a isso, outras características dos plásticos, como durabilidade, flexibilidade e utilidade nas mais variadas atividades reflete na demanda e procura por este produto. Nesse sentido, a produção global de plástico tem aumentado à medida que o tempo passa, em 2020 ultrapassou 370 milhões de toneladas, no ano seguinte chegou a quase 391 milhões de toneladas, e em 2022 ultrapassou 400 milhões de toneladas (PLASTICEUROPE, 2023). Esse ritmo de produção só tende a aumentar, mesmo com as investidas de países na diminuição de produção e reciclagem (PLASTICEUROPE, 2022). Embora esses esforços sejam pertinentes e encorajados, o fato é que o destino final de boa parte desses resíduos acaba sendo inevitavelmente o ambiente aquático (JAMBECK *et al.*, 2015; WAYMAN; NIEMANN, 2021) e terrestre (LI, J.; SONG, Y.; CAI, Y., 2020; YU, L. *et al.*, 2021).

No ambiente aquático ou terrestre esses plásticos vão se fragmentando em partículas menores que cinco milímetros (THOMPSON, R. C. *et al.*, 2004) por ação de agentes químicos ou físicos, gerando outra problemática, os microplástico (MP's). Esta forma de origem dos MP's é conhecida como secundária (MATTSSON;

HANSSONB; CEDERVALLA, [s.d.]; UGWU; HERRERA; GÓMEZ, 2021), mas além da fragmentação de macroplásticos, os MP's podem ser também produzidos em tamanhos inferior a cinco milímetros, portanto, chamados de MP's primários (UGWU; HERRERA; GÓMEZ, 2021), eles são utilizados em produtos de cuidados pessoais (como esfoliantes, hidratantes faciais) (BROWNE *et al.*, 2011; PRATA, 2018). Os MP's são originados a base de polímeros, e cada polímero plástico possui características químico-física distintas, como peso molecular, densidade, flexibilidade e durabilidade (AMELIA *et al.*, 2021). Particularmente, a densidade é uma característica muito importante dos MP's, pois dependendo do meio em que estiverem disponíveis, essa característica facilita sua disposição na superfície ou no fundo. Embora a abundância dos MP's seja extraordinariamente altas na coluna d'água (PABORTSAVA; LAMPITT, 2020), no sedimento aquático ou solo terrestre sua densidade pode ser de 10.000 a 600.000 vezes maior (HOSEINI; BOND, 2022; SCHERER *et al.*, 2020; WENDT-POTTHOFF *et al.*, 2014; XU, B. *et al.*, 2020). Isso pode acontecer por dois motivos: I) os polímeros possuem densidade superior a densidade da água (1g/cm³) II) ou/e pelo processo de bioincrustação de organismos ao MP (GALLOWAY, T. S.; COLE; LEWIS, 2017).

Dentre os polímeros de MP's, o poliestireno (PS) é um dos mais utilizados mundialmente, em embalagens alimentícias, armação de óculos, produtos industriais entre outros (PLASTICEEUROPE, 2022). Isso reflete em sua vasta abundância nos ecossistemas aquáticos(PABORTSAVA; LAMPITT, 2020), mas principalmente no sedimento, devido sua densidade específica superior à da água (1,05 g/cm³), (HOSEINI; BOND, 2022; PABORTSAVA; LAMPITT, 2020; SCHERER *et al.*, 2017). A comunidade científica vem investigando o efeito do PS em diferentes grupos bentônicos, com efeitos deletérios observados em copépodos (LI, Zhaochuan; ZHOU, H.; *et al.*, 2020; QUANBIN *et al.*, 2020), nematoides (FUESER, Hendrik *et al.*, 2019; KANG, T.; KIM, Dongsung; OH, 2021) ostracodas (NUGNES *et al.*, 2022) e na comunidade da meiofauna (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020a; RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2022a).

Os MP's apesar dos efeitos evidenciados ainda são apontados como partículas inertes (ROCHMAN, Chelsea M *et al.*, 2019) e pouco tóxicas, sendo-lhe apenas atribuído danos físicos e mecânicos ou relevante preocupação pela capacidade destes transportarem contaminantes (AMELIA *et al.*, 2021). Porém, estudos com contaminantes com capacidade tóxica conhecida possam talvez elucidar tais questões. Nesse sentido, uma classe de contaminantes químicos de grande relevância ambiental e de mesma origem petrolífera dos MP's, são os

hidrocarbonetos. Devido a exploração em busca de petróleo, a liberação de hidrocarbonetos nos ecossistemas aquáticos é frequentemente ocasionada por derramamento acidental (BARDI *et al.*, 2000). Os casos mais atuais e dramáticos de poluição por hidrocarbonetos ocorreram em 2010 no Golfo do México (COMMAND, 2010), posteriormente em 2013 no Golfo da Tailândia (APIRATIKUL; PONGPIACHAN; HASHMI, 2020) e o mais recente e local, foi o derramamento na costa brasileira, que atingiu mais 1.009 localidades em 11 estados (DISNER; TORRES, 2020). Além dos derramamentos, os hidrocarbonetos chegam aos ambientes aquáticos através das atividades antrópicas, como descargas industriais, transportes marítimos, exploração de gás e óleos entre outros (CERNIGLIA, 1993). Dentre os hidrocarbonetos, os Hidrocarbonetos policíclicos Aromáticos (HPA's) são compostos químicos que possuem tipicamente de dois a seis anéis aromáticos ligados entre si, formados durante a combustão incompleta de petróleo, gás, entre outros (KUPPUSAMY *et al.*, 2020). Esses representam uma ameaça e perigo para os animais aquáticos, tendo em vista seu poder tóxico e de persistência (NADLER, 2017; REN, Xianyun; PAN, L.; WANG, L., 2015).

Dentre os mais de 100 HPA's conhecidos (KUPPUSAMY *et al.*, 2020), 16 são considerados prioritários pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA), pelas suas propriedades e potencial toxicidade (LERDA, 2011). Dentre os 16, o fenantreno, HPA de 3 anéis aromáticos, se destaca por sua hidrofobicidade, toxicidade e persistência ambiental (STRINGER *et al.*, 2012). Ele geralmente é um dos mais abundantes nos ambientes aquáticos (CERNIGLIA, 1993; LOTUFO, 1997), uma vez que faz parte da composição do petróleo. Tende a estar mais presente nos sedimentos tendo em vista sua capacidade de se ligar a partículas orgânicas em suspensão, incluindo microplásticos (AMELIA *et al.*, 2021) e matéria orgânicas (i.e: micro-organismos) (SOCLO; GARRIGUES; EWALD, 2000). Portanto, o fenantreno potencialmente pode prejudicar a fauna bentônica, mas poucos estudos até o momento foram investigados, embora danos comprovados já tenham sido observados na sobrevivência de nematoides (SPANN; GOEDKOOP; TRAUNSPURGER, Walter, 2015), aptidão de copépodos (STRINGER *et al.*, 2012) e na estrutura da comunidade da meiofauna (LOUATI *et al.*, 2014).

Nesse contexto, em que os organismos bentônicos estão propensos a poluição por MP e também HPA, o uso da meiofauna como ferramenta para entendimento de ambos os estressores aqui citados é de extrema pertinência. A meiofauna compreende um conjunto de organismos de diferentes grupos zoológicos, menores que 1 milímetro de comprimento (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). Estes são

excelentes ferramentas na compreensão de impactos antrópicos (SANTOS, A. C. C. *et al.*, 2018), uma vez que possuem um ciclo de vida curto, podendo ser observado o efeito da poluição por diferentes gerações, além de também possuir um contato íntimo com o substrato (GIERE, O, 2009). Além dessas características, a meiofauna representa uma comunidade com diferentes grupos com distintos níveis de tolerância a estressores e não desprezam a interação entre eles (SANTOS, A. C. C. *et al.*, 2018), e portanto, nos oferece uma resposta mais realista do efeito de estressores no ambiente.

Muitos estudos com MP utilizando grupos individuais da meiofauna vem sendo realizado, mas o foco aparentemente se restringe a ingestão de MP (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020b; GUSMAO *et al.*, 2016; HOSS *et al.*, 2022; SCHOPFER *et al.*, 2020), excluindo outros parâmetros importantes na história de vida dos organismos ou mesmo estudos em nível de comunidade, que são particularmente escassos (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022; WAKKAF *et al.*, 2020). E embora haja muitos estudos, não há perspectiva clara sobre quais polímeros, ou quais grupos estão sendo mais afetados pelo MP. Além dessa problemática, ainda não há estudos sobre os efeitos do MP de curto e longo prazo em comunidades aquáticas testando os descritores de comunidade, tornando as interpretações sobre os efeitos do MP muito limitadas a efeitos que ocorrem monoespecificamente. Mais do que isso, existe uma ideia que os MP's são apenas partículas inertes que só se tornam perigosas e preocupantes quando associadas com outros contaminantes, pela capacidade de vetorização, tornando outros compostos biodisponíveis em compartimentos biológicos e ambientais (AMELIA *et al.*, 2021; BUCCI, Kennedy; ROCHMAN, Chelsea M, 2022). Portanto, nessa perspectiva, o objetivo geral deste trabalho foi avaliar o efeito do MP na meiofauna marinha, com foco nos efeitos de curto e longo prazo, além da comparação entre os efeitos individuais do MP PS e HPA fenantreno.

No primeiro capítulo dessa dissertação revisamos os efeitos dos MP's na meiofauna com estudos publicados até março de 2023. No segundo e terceiro capítulo, microcosmos experimentais foram conduzidos. Mais especificamente, no segundo capítulo avaliamos os efeitos de curto prazo do MP na comunidade da meiofauna marinha e investigamos a ingestão de diferentes grupos. Já no terceiro capítulo, nos concentramos em entender os efeitos de longo prazo do MP PS e do HPA fenantreno individualmente e comparativamente, buscando compreender quais efeitos e quais dos estressores são mais danosos e/ou se possuem efeitos semelhantes na comunidade da meiofauna, já que ambos são oriundos do petróleo.

2. CAPÍTULO 1 – ESTAMOS TENDENCIANDO OS ESTUDOS COM MICROPLÁSTICOS NA MEIOFAUNA?

RESUMO

A poluição plástica se tornou uma das maiores problemáticas ambientais mundial por sua persistência e abundância. Devido ao descarte inadequado dos plásticos, parte desses resíduos acabam nos oceanos, onde se fragmentam gerando outra problemática, os microplásticos (MP's). Estes são partículas sólidas, originadas à base de polímeros, menor que cinco milímetros de comprimento. A grande diversidade de polímeros e morfotipos atrelados aos seus principais efeitos vêm sendo testado na fauna bentônica. No bentos, a meiofauna representa um conjunto de metazoários diminutos, base da cadeia trófica e com grande relevância nos estudos com MP, já que é de conhecimento que os MP's são mais abundantes no sedimento. Diante da relevância e aumento dos estudos sobre MP e meiofauna, este estudo teve como objetivo realizar uma revisão dos estudos existentes com microplásticos e meiofauna com foco na relação entre os principais morfotipos, polímeros e parâmetros avaliados versus efeitos. Uma pesquisa bibliográfica até março de 2023 foi realizada utilizando como base de dados as plataformas da Web of Science (WOS) e o Google Scholar. A busca foi realizada com auxílio de operadores booleanos ou Kit de busca. No geral, 132 artigos foram incluídos nesta revisão, dos quais 39 estudos focam na meiofauna aquática, enquanto 93 na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. Para ambos uma tendência geral foi observada na utilização do polímero poliestireno (PS) do tipo microesfera. No entanto, neste estudo ficou evidente que os polímeros menos densos como o PS apesar de serem os mais testados na meiofauna, não são os que mais causam efeitos nos parâmetros biológicos testados. Além desses achados, nossa revisão demonstra que apesar dos endpoints (sobrevivência, reprodução e crescimento) da categoria aptidão serem os mais avaliados nos estudos, os microplásticos não os afeta tanto quanto outros parâmetros, como estresse oxidativo. Logo, nossos achados implicam que há uma tendência na utilização dos polímeros e morfotipos para os estudos com meiofauna. Nossos resultados sugerem a investigação de polímeros mais densos na meiofauna, já que estes vem causando mais danos, além de também serem mais relevantes, já que são mais abundantes do sedimento no que o PS.

Palavras-chave: Aquática; Meiobentos; Poliestireno; Semiaquático; Terrestre; Viés.

ABSTRACT

Plastic pollution has become one of the biggest environmental problems worldwide due to its persistence and abundance. Due to the inadequate disposal of plastics, part of this waste ends up in the oceans, where it fragments, generating another problem, microplastics (MPs). These are solid particles, originating from polymers, smaller than five millimeters in length. The great diversity of polymers and morphotypes linked to their main effects have been widely tested in benthic fauna. In the benthos, the meiofauna represents a group of tiny metazoans, the basis of the trophic chain and with great relevance in studies with MP, as it is known that MPs are more abundant in the sediment. Given the relevance and increase in studies on MP and meiofauna, this study aimed to review existing studies on microplastics and meiofauna focusing on the relationship between the main morphotypes, polymers and evaluated parameters versus effects. A bibliographical search until March 2023 was carried out using the Web of Science (WOS) and Google Scholar platforms as a database. The search was carried out with the help of Boolean operators or Search Kit. Overall, 132 articles were included in this review, of which 39 studies focused on aquatic meiofauna, while 93 on semiaquatic and terrestrial meiofauna. For both, a general trend was observed towards the use of the microspheretype polystyrene (PS) polymer. However, in this study it was evident that less dense polymers such as PS, despite being the most tested in meiofauna, are not those that cause the most effects on the biological parameters tested. In addition to these findings, our review demonstrates that although the fitness category endpoints (survival, reproduction and growth) are the most evaluated in studies, microplastics do not affect them as much as other parameters, such as oxidative stress. Therefore, our findings imply that there is a trend in the use of polymers and morphotypes for studies with meiofauna. Our results suggest the investigation of denser polymers in the meiofauna, as these have been causing more damage, in addition to being more relevant, as they are more abundant in the sediment than PS.

Keywords: Aquatic; Meiobenthos; Polystyrene; Semi-aquatic; Earthly; Bias.

2.1. Introdução

A poluição plástica se tornou uma das maiores problemáticas ambientais do mundo, não apenas científica, mas também pública devido a sua alta persistência e abundância (JI, Z. *et al.*, 2021). O uso do plástico se iniciou em 1920 (AMELIA *et al.*, 2021) e desde então vem sendo massivamente utilizado devido as suas características físico-químicas e custo, incluindo sua alta durabilidade e utilidade mediante diferentes contextos (SUN, Y. *et al.*, 2022). Nesse sentido, a produção global de plástico em 2022 ultrapassou 400 milhões de toneladas (PLASTICEUROPE, 2023). E apesar dos esforços recentes que alguns países vem investindo, como na reciclagem, ou na diminuição da produção do plástico, o fato é que além da alta produção, o destino final de boa parte desses resíduos acabam sendo inevitavelmente o ambiente aquático (JAMBECK *et al.*, 2015; WAYMAN; NIEMANN, 2021) e terrestre (LI, J.; SONG, Y.; CAI, Y., 2020; YU, L. *et al.*, 2021).

Uma problemática ainda maior atrelada a poluição por plástico, são os MP's (MP's). Os MP's são partículas sólidas baseadas em polímeros menor que cinco milímetros de comprimento (THOMPSON, R. C. *et al.*, 2004). Apesar de já existir uma discussão de que os MP's devam ser considerados como um contaminante devido sua grande abundância e persistência ambiental (BUCCI, Kennedy; ROCHMAN, Chelsea M, 2022; ROCHMAN, Chelsea M *et al.*, 2019), além do fato de ser um estressor físico e químico, a comunidade científica ainda o trata como um simples composto ou tipo de material (ROCHMAN, Chelsea M *et al.*, 2019). Contudo, já é certo que este contaminante vem transitando entre os diferentes compartimentos ambientais, e apesar dos ambientes aquáticos serem os mais estudados (WONG, J. K. H. *et al.*, 2020), em comparação com o ambiente terrestre, este último é que vem recebendo as maiores densidades de MP's, com uma quantidade de 4 a 23 vezes maior do que a que entra nos oceanos (XU, B. *et al.*, 2020).

Nos ecossistemas aquáticos apesar da excelente documentação que vai desde a costa ao mar aberto (BARNES *et al.*, 2009), da superfície de rios a profundidade de oceanos (HU, L. *et al.*, 2018; KATAOKA *et al.*, 2019; SCHLINING, K. *et al.*, 2013; WOODALL *et al.*, 2014), sedimento (HOSEINI; BOND, 2022) ou mesmo em lugares remotos, como Antártica (OBBARD, R. W. *et al.*, 2014), é importante ressaltar que esta documentação se torna limitante ao tamanho, já que partículas com um tamanho inferior a 250µm permanecem praticamente desconhecidas (PABORTSAVA; LAMPITT, 2020). Diversos parâmetros biológicos como reprodução, sobrevivência, comportamento entre outros parâmetros importantes na história de vida dos organismos aquáticos, vem sendo

testados com o MP's individualmente (LEI, L.; WU, S.; *et al.*, 2018; LYU *et al.*, 2021; ZHENG, S. *et al.*, 2021). Porém, uma outra preocupação da comunidade científica atrelada aos efeitos dos MP's nos organismos aquáticos está ligada a capacidade de sorção ou interação destes com outros contaminantes. E, fatores abióticos de grande influência nos ecossistemas aquáticos, como temperatura, salinidade e pH (AMELIA *et al.*, 2021; FISNER *et al.*, 2017) podem tornar os efeitos desses MP's mais deletérios.

Apesar de menos foco estar sendo atribuído ao ambiente terrestre, já se sabe que este é o sumidouro de MP's mais importante comparado aos ecossistemas aquáticos (LI, J.; SONG, Y.; CAI, Y., 2020; YU, L. *et al.*, 2021). A negligência de estudos no ambiente terrestre inviabiliza um direcionamento mais adequado para as pesquisas, e além disso, impossibilita que estratégias de manejo possam ser realizadas. Acreditam que isto esteja ligado ao fato de que metodologias padronizadas de estudos em solo ou um método analítico adequado para MP's ainda não esteja disponível (LI, J.; SONG, Y.; CAI, Y., 2020). Porém, o que sabe, é que quando os MP's chegam no solo, eles modificam características do solo, como porosidade e capacidade de retenção de água (ZHAO, S. *et al.*, 2022) e isto afeta diretamente os organismos (KIM, S. W. *et al.*, 2021; SCHÖPFER *et al.*, 2020).

Tendo em visto isso, os MP's são um importante contaminante emergente, que possui características específicas, como um tamanho diminuto, que permite que este possua uma alta mobilidade (QI *et al.*, 2020), com capacidade de chegar a diferentes compartimentos ambientais, incluindo lugares intocados (OBBARD, R. W. *et al.*, 2014). É uma outra característica que não pode ser esquecida, e que implica diretamente na sua disposição nesses compartimentos, é sua densidade. Alguns polímeros plásticos como o poliestireno (PS), policloreto de vinila (PVC) ou tereftalato de estileno (PET) tem uma densidade específica maior que a da água (1g/cm³), implicando em maiores taxas de sedimentação desses plásticos (HAEGERBAEUMER *et al.*, 2019) em comparação a outros com densidades mais baixas que a da água como o polietileno de baixa densidade (LDPE), polietileno de alta densidade (HDPE) ou o polipropileno (PP) que tendem a flutuar na coluna de água (AUTA; EMENIKE; FAUZIAH, 2017) ou serem mais facilmente arrastadas no ambiente terrestre. No entanto, estes mesmos polímeros de baixa densidade podem se tornar mais densos pela interação destes com partículas orgânicas, que pode incluir bactérias ou matéria orgânica, refletindo em sua sedimentação (GALLOWAY, T. S.; COLE; LEWIS, 2017).

Nesse contexto, é importante notar que os sedimentos aquáticos e o solo terrestre estão propensos a receber cargas de MP, e nesse sentido, os organismos que vivem em íntimo contato com partículas de sedimento ou solo ficam expostos a esta contaminação.

A meiofauna compreende um grupo de organismos com diferentes representantes zoológicos com um tamanho inferior a um milímetro de comprimento (DANOVARO, Roberto, 2009; SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). Apesar da terminologia meiofauna muitas vezes ser sinonimizada a terminologia meiobentos (GIERE, O, 2009), estes possuem representantes nos mais variados ecossistemas aquáticos (GIERE, O, 2009; SCHRATZBERGER; INGELS, 2018) terrestre (MÜLLER *et al.*, 2019; TRETT, M. W. *et al.*, 2000), e ainda possuem representantes que transitam e se adequam nos dois ambientes. Estes possuem alta abundância e diversidade em solos e sedimentos de todo o mundo. Estes organismos são muito importantes como ferramenta para compreender os impactos de contaminantes no ambiente (SANTOS, A. C. C. *et al.*, 2018), pois funcionam como excelentes bioindicadores dadas as suas atribuições como um curto ciclo de vida, baixa capacidade de fuga (GIERE, O, 2009) e diversidade funcional e taxonômica (BONGERS, T.; FERRIS, 1999). Além de serem a base da cadeia trófica, realizando atividades bases como bioturbação, transferência de energia a níveis tróficos superiores, mudanças nas propriedades físicas, químicas e biológicas do sedimento ou solo (Schratzberger and Ingels, 2018).

Os MP's vem sendo testado na meiofauna aquática, semiaquática e nematoides terrestre desde a segunda década do ano 2000 (KIYAMA; MIYAHARA; OHSHIMA, 2012; LEE, K.-W. *et al.*, 2013; LIN, D. *et al.*, 2020), e desde então os estudos vem aumentando exponencialmente na medida em que o tempo passa. Diversos parâmetros importantes na história de vida desses organismos foram investigados, como reprodução (HUANG, G. *et al.*, 2023; KIM, H. M. *et al.*, 2019; SHI, W. *et al.*, 2022; YU, Juan *et al.*, 2020; ZHAO, Li *et al.*, 2017) sobrevivência (CASTRO; BERNEGOSI; PINHEIRO; *et al.*, 2022a; JUDY *et al.*, 2019; NUGNES *et al.*, 2022; PARLAPIANO *et al.*, 2022; QIU, Y.; LIU, Yaqi; *et al.*, 2020) comportamento (LIU, H.; KWAK; *et al.*, 2021; QU, Man *et al.*, 2018), além dos efeitos na fisiologia (CHOI; HONG; PARK, J.-W., 2020a; KIM, K. *et al.*, 2022; LI, Dan; JI, J.; *et al.*, 2020; SILVA, S. A. M. *et al.*, 2022; YU, Y. *et al.*, 2020) e na genética (HUANG, C.-W. *et al.*, 2022; KIM, K. *et al.*, 2022; XIE, Dongmei *et al.*, 2022; YU, Y. *et al.*, 2023) desses organismos. Além dos estudos já citados com os MP's testados isoladamente, estudos com a meiofauna também vem sendo conduzido com esse estressor em associação com outros contaminantes, como metais pesados (DONG, S. *et al.*, 2018; SHI, W. *et al.*, 2022; WAKKAF *et al.*, 2020; XIE, Dongmei *et al.*, 2022) ftalato (LI, Zhaochuan; ZHOU, H.; *et al.*, 2020) fatores abióticos (KIYAMA; MIYAHARA; OHSHIMA, 2012; SILVA, C. J. M. *et al.*, 2022) Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HEDFI *et al.*, 2022) e até fármacos (ALLOUCHE *et al.*, 2022; FAJARDO *et al.*, 2022).

Dada a grande importância desse grupo de organismos para os ecossistemas

aquáticos e terrestre, compreender quais os principais efeitos e quais os principais parâmetros estão sendo afetados pelos MP's na meiofauna é de suma importância. Principalmente, tendo em vista a quantidade de estudos que já vem sendo publicada. Conhecer os principais tipos, morfotipos e tamanhos de MP's que vem sendo estudado da meiofauna também é uma tarefa indispensável, uma vez que se faz necessário haver um direcionamento adequado das pesquisas. Tendo em vista isso, este estudo objetiva realizar uma revisão dos estudos existentes com MP's e meiofauna com foco na relação entre os principais morfotipos, polímeros de microplástico e seus efeitos na estrutura da comunidade. O Segundo objetivo é estabelecer os principais grupos de estressores associados a MP's, afim de direcionar e apoiar tomadas de decisões em pesquisas futuras. Em terceiro, realizar uma análise bibliométrica com a finalidade de visualizar a tendência temporal de estudos com microplástico na meiofauna.

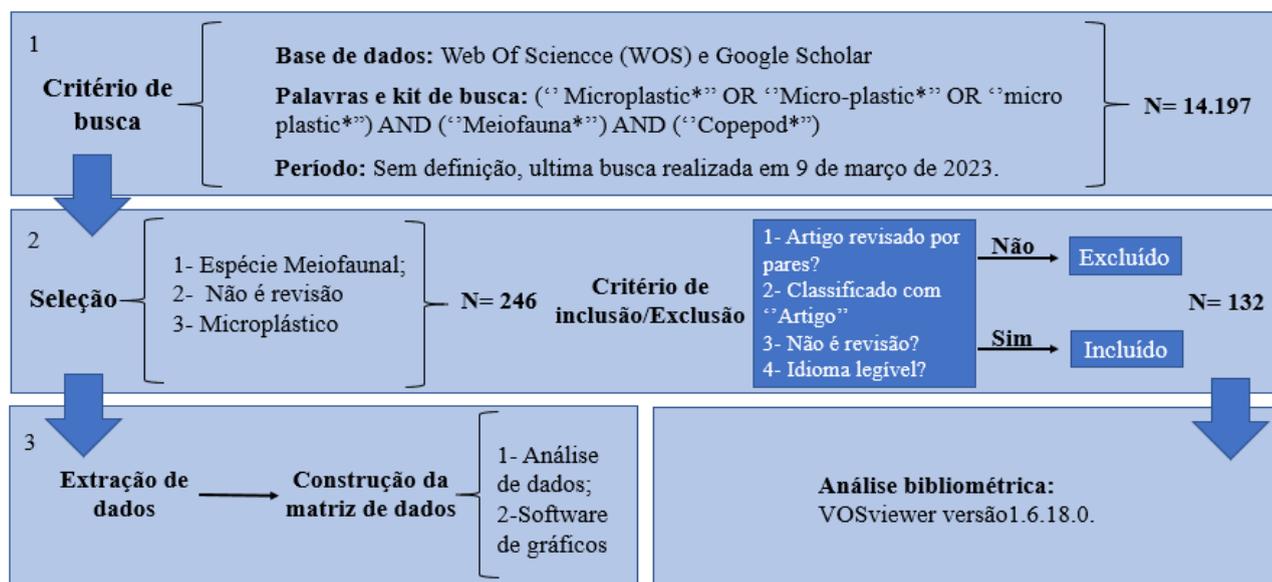
2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Fontes de dados e recuperação de estudos

Uma pesquisa bibliográfica abrangente até março de 2023 foi realizada com foco no efeito do microplástico na meiofauna. Usamos como base de dados as plataformas da Web of Science (WOS) e o Google Scholar. A busca foi realizada com auxílio de operadores booleanos ou Kit de busca, no qual os comandos fixos foram " Microplastics*" AND "Meiofauna"* e suas variações, em combinação com um grupo específico da meiofauna. Para a recuperação dos estudos, alguns critérios de exclusão e inclusão foram levados em consideração. As estratégias de recuperação estão resumidas no fluxograma (Figura 1).

No geral, 246 artigos foram revisados, sendo 132 artigos incluídos nesta revisão com base nos critérios da figura 1 (Ver abaixo). Para cada artigo as seguintes informações foram extraídas: (1) nome do periódico; (2) referência do periódico; (3) ano de publicação; (4) classificação da meiofauna testada (Temporária ou permanente); (5) organismo teste (Grupo taxonômico); (6) espécie; (7) tipo de estudo; (8) habitat; (9) polímero; (10) frequência de morfotipo; (11) tamanho; (12) predominância de cor; (13) fluorescência; (14) concentração testada, (15) matriz de exposição; (16) origem do polímero; (17) associação com estressores; (18) parâmetros avaliados; (19) efeito.

Figura 1: Fluxograma demonstrando processo de recuperação (1), seleção dos periódicos (2) e análise de dados do presente estudo (3).



2.2.2 Classificação de tamanho, morfotipos e concentração

No intuito de investigar os efeitos potenciais do tamanho, morfotipos e concentração dos MP's testados nos estudos, à medida que fomos extraíndo as informações, distribuimos essas em diferentes classificações. Seis classes de tamanhos foram escolhidas com base em estudos com invertebrados aquáticos e diminutos (BERMÚDEZ; SWARZENSKI, 2021): (1) Femto-0,02-0,2 μ m; (2) picoplástico-0,2-2 μ m; (3) nanoplástico-2-20 μ m; (4) micropástico- 20-200 μ m; (5) mesoplástico- 200-2000 μ m; (6) macropástico- 0,2-2cm. Além dessas classificações, quando o estudo não informava o tamanho utilizado, estes foram alocados para classificação de não informados (IN). E quando o estudo testava diferentes tamanhos inespecíficos, estes foram alocados para a categoria de tamanho variável. Com relação aos morfotipos de micropástico, seis categorias foram utilizadas, tendo como base os principais morfotipos encontrados no ambiente (AMELIA *et al.*, 2020): fibra, fragmento, microesfera, pellet, espuma, filme e quando não informados pelos artigos, foram alocados para a categoria IN.

Oito classes de concentrações foram escolhidas para experimentos realizados em matrizes sedimentar ou aquosa, com base em invertebrados (JI, Z. *et al.*, 2021): (1) classe 1 ≤ 1 g kg; (2) classe 2 ≤ 10 g kg; (3) classe 3 ≥ 10 g kg; (4) classe 4 ≤ 1 μ g/mL; (5) classe 5 ≤ 10 μ g/mL; (6) classe 6 ≤ 100 μ g/mL; (7) classe 7 ≤ 1000 μ g/mL; (8) classe 8 ≥ 1000 μ g/mL.

2.2.3 Classificação dos parâmetros avaliados nos estudos

Para avaliar os efeitos dos MP's nos diferentes parâmetros testados pelos estudos, cinco categorias principais foram criadas e divididas em 26 subcategorias (parâmetros finais). Todas os parâmetros finais foram registrados de maneira sistemática e específica, no sentido de que se os autores testaram uma concentração específica para cada parâmetro testado, mudando polímero, tamanho de plástico, entre outros, todas essas informações eram registradas de forma independente. Além dos parâmetros avaliados em cada artigo, o efeito também foi observado. Para cada categoria e parâmetro final identificamos a ocorrência de um efeito significativo. De modo que, quando havia dados disponíveis do grau de significância, conseguimos inferir se houve ou não efeito. Quando havia significância entre controle sem microplástico e o respectivos tratamentos com $p < 0,05$, este foi marcado com "S" na planilha, sinalizando efeito. Quando não havia diferença estatística, foi marcado como "N". Ainda sobre efeito, um grau de proporção de efeito foi atribuído a cada categoria e parâmetro final, e este foi calculado da seguinte forma: por categoria e parâmetro final, o número de ocorrências destes com efeito foi dividido pelo total de ocorrências. A classificação das proporções foram: nenhum efeito (0), pouco efeito recebeu grau de proporção 0,25; médio efeito (0,5), muito efeito (0,75), forte efeito (1). As categorias e parâmetros finais estão listadas abaixo:

- 1) **Estrutura da comunidade:** abundância, índices de diversidade (equitabilidade, riqueza, índice de maturidade, diversidade funcional e taxonômica)
- 2) **Genética/molecular:** expressão gênica, diversidade molecular, apoptose germinativa, dano ao DNA e estresse oxidativo, análise proteômica.
- 3) **Funções comportamentais, sensoriais e neuromusculares** (fisiológicos-CSNM): locomoção, ingestão (taxa de ingestão e permeabilidade intestinal), excreção (defecação, taxa de defecação, compostos finais), sistema nervoso (perda neural, neurônios motores), percepção sensorial (olfativas, gustativas), alimentação (preferência alimentar, consumo de bactéria, bombeamento faríngeo, taxa de alimentação).
- 4) **Metabolismo:** estresse oxidativo (Espécies reativas de oxigênio-ROS), análise metabólica (lipídica, glicosídica), reversa energética, bioacumulação.
- 5) **Aptidão:** crescimento somático (comprimento, largura, biomassa, alteração no peso), reprodução (tamanho da ninhada, fecundidade, número de ovos),

sobrevivência (LC50, tempo de vida útil), tempo de desenvolvimento (emergência, embrionário, pós embrionário), razão sexual, crescimento populacional.

2.2.4 Visualização e análise de dados

Os dados extraídos dos artigos foram plotados no Microsoft Excel 2016. Todos os dados, foram padronizados com base nas classificações listada acima, de modo que uma análise destes pudesse ser realizada. A base dos resultados da presente revisão foi realizada pelo Excel, através da ferramenta “ tabela dinâmica”, no qual pudemos relacionar e quantificar os estudos em cada categoria. A modelagem dos gráficos foi feita no Sigmaplot versão 12.5 ou pelo próprio Excel quando pertinente. Para a análise bibliométrica utilizamos o VOS viewer versão 1.6.18.0. A análise de coocorrência de palavras foi feita para visualizar a correlação e conexões entre as principais temáticas estudadas com microplástico e meiofauna ao longo do tempo. Nesta análise, o tamanho dos nós representa a frequência de ocorrência, enquanto a espessura das linhas que conectam um nó a outro configura a força de associação entre as palavras (ZHAO, S. *et al.*, 2022). A diferentes cores são os grupos ou clusters formados entre as palavras que mais se correlacionam.

2.3 Resultados

2.3.1 Caracterização geral das publicações com análise bibliométrica

Este estudo mostrou que a primeira publicação com microplástico e um dos grandes grupos pertencentes a meiofauna, nematoda, ocorreu no ano de 2012 (Figura 2), quando ainda a comunidade científica nem imaginava o perigo e os efeitos que os MP's primários e secundários já vinham causando nos animais aquáticos e terrestres. Esta publicação em questão, inclusive, nem cita o termo microplástico, se referindo continuamente ao polímero poliestireno (PS) apenas como partícula artificial. As duas próximas publicações, ocorreram em 2013 e 2015, ambas com o taxa Copepoda, saindo a primeira publicação com meiofauna em nível de comunidade, em 2016. As publicações com microplástico e meiofauna só se tornaram significativas quantitativamente em 2019, com 14 publicações (10,60%), sendo mais massivamente explorada no ano seguinte com 39 estudos (29,54%), e anos subsequentes, 2021 e 2022, ambas com 32 publicações (24,24%). No ano de 2023, apesar de ainda no início, 6 (4,54%) estudos foram publicados. Esta revisão foi dividida em duas sessões com base no habitat dos organismos testados: meiofauna aquática e meiofauna semiaquática e nematoides

terrestres (Tabela 1).

Figura 2: Número de estudos com a meiofauna aquática e semiaquática entre 2012 e março de 2023.

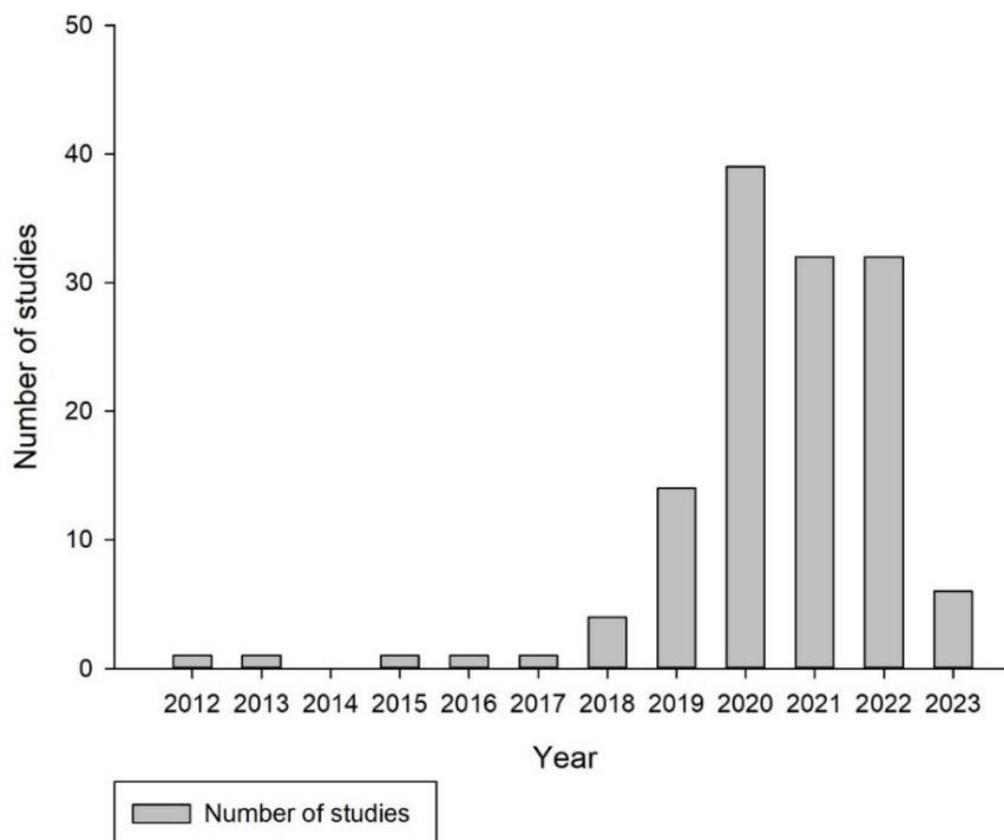


Tabela 1: Resumo dos organismos teste e seus respectivos habitats.

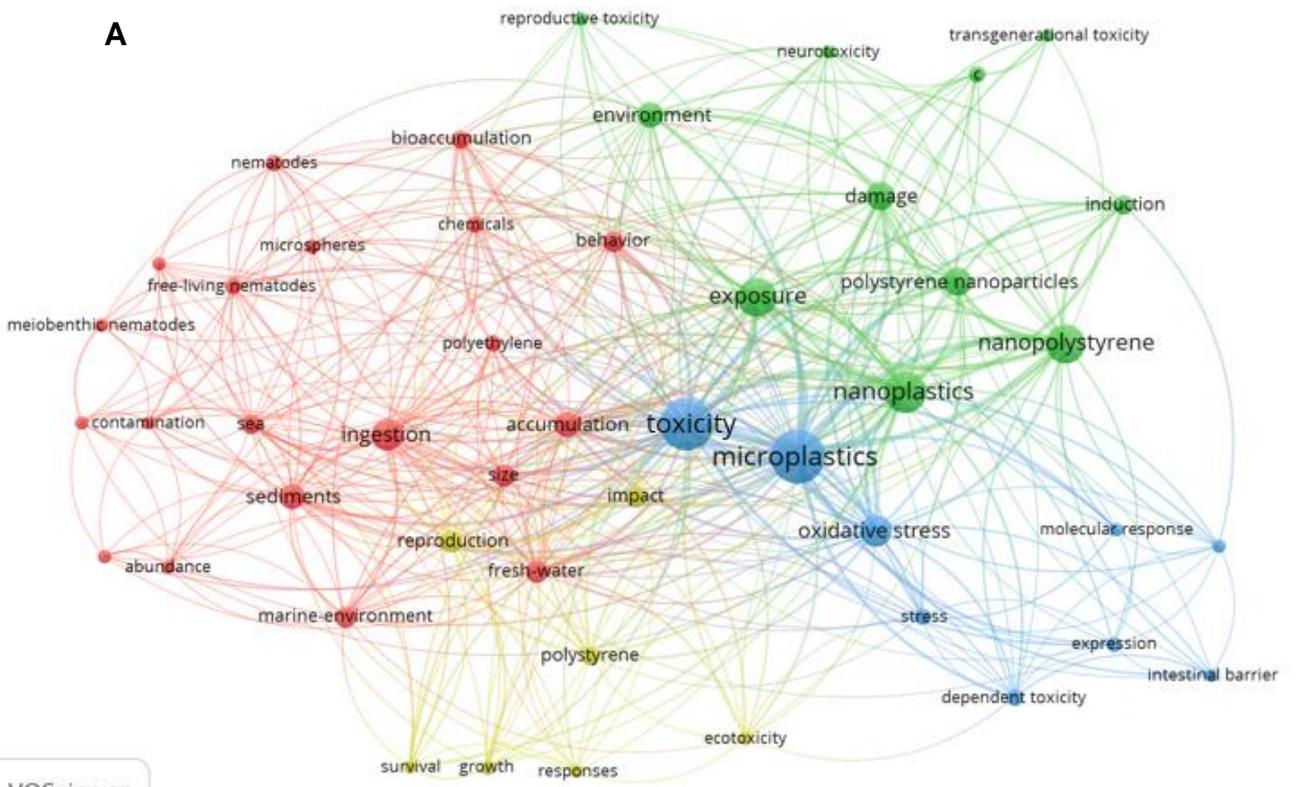
GRUPO	Marinho	Doce	Estuário	Semiaquático	Terrestre	
Copepoda	19	0	0	0	0	
Insecta	0	6	0	0	0	
Meiofauna total	6	3	3	0	0	
Ostracoda	0	1	0	0	0	
Nematoda	1	0	0	88	3	2
				<i>Caenorhabditis</i>		
				<i>elegans</i>		
Total:	26	10	3	91	2	

Na análise bibliométrica de coocorrência de palavras-chaves, obtivemos 653

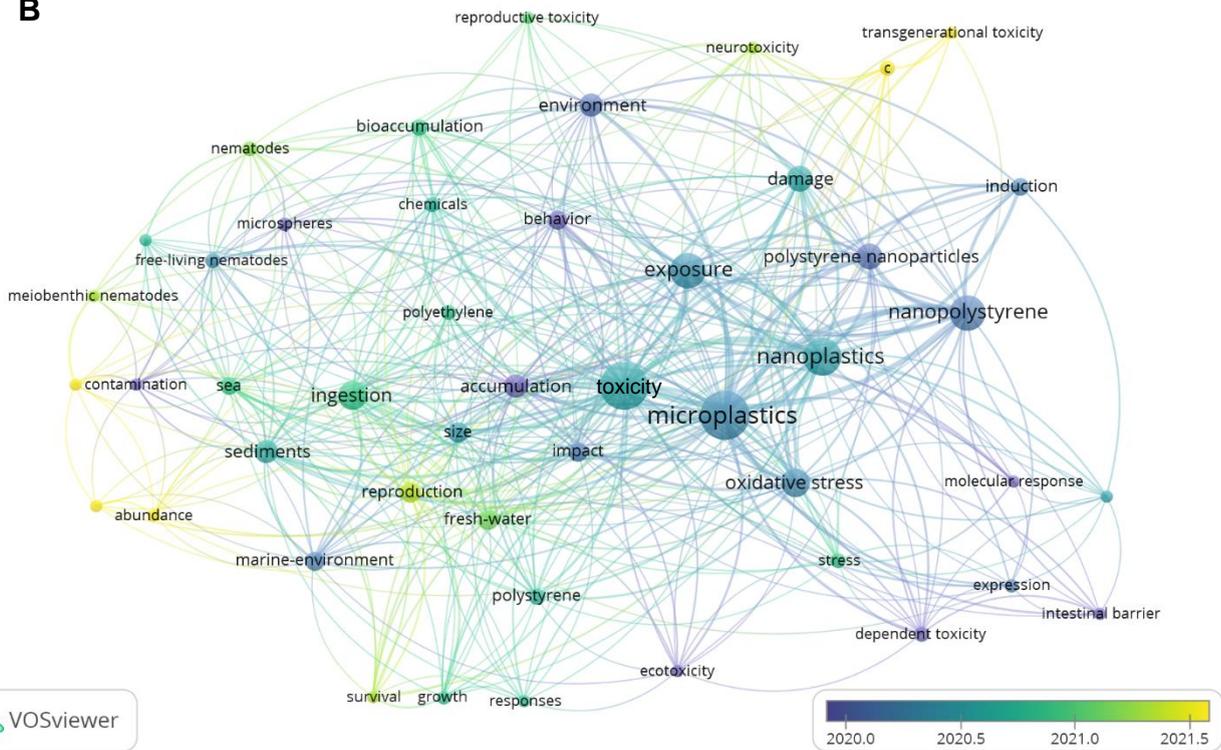
palavras-chaves, das quais para este estudo, selecionamos 85, com o mínimo de 4 ocorrência entre os estudos. As palavras com maiores ocorrências foram microplástico e toxicidade com 58 e 55 ocorrências respectivamente. Em nosso mapeamento, quatro clusters são formados (Figura 3), onde, no cluster 1 as palavras-chaves estão se relacionando em torno dos modelos biológicos de estudos e habitat em que as publicações com meiofauna e microplástico vem sendo realizada. Apesar de apenas três palavras serem mais frequentemente citadas: ingestão, acumulação e sedimento, fica claro que o polietileno (PE) é um polímero que tem mais conexão com essas palavras. O que é um fato interessante, já que observando o Cluster 2, o PS tem influência sobre parâmetros importantes na história de vida dos organismos, sendo eles reprodução, comportamento e sobrevivência. No entanto, é no Cluster 3, que existe uma conexão forte entre a toxicidade do microplástico, com ambas as palavras com maiores ocorrência, se conectando as palavras como estresse oxidativo, barreira intestinal e resposta molecular. O cluster 4 reflete a influência do PS de tamanho nano na neurotoxicidade, toxicidade reprodutiva e transgeracional. Analisando ainda a tendência temporal desses estudos, é notório que o PS e o PS de tamanho nano aparecem mais cedo nas publicações, enquanto o PE vem aparecendo em meados do ano de 2020. Além desse fato, é importante notar que alguns parâmetros biológicos como toxicidade reprodutiva, neurotoxicidade, sobrevivência, reprodução e toxicidade transgeracional são mais recentemente investigados nos estudos, evidenciando também que respostas moleculares, expressão gênica e estresse oxidativo são parâmetros que vem sendo avaliados além de com mais frequência, mais anteriormente.

Figura 3: Mapa de coocorrência de palavras-chaves de estudos publicados até março de 2023 com foco nas interações entre MP's e meiofauna (A) e mapa de coocorrência de palavras-chaves de estudos publicados até março de 2023 com foco nas interações entre MP's e meiofauna temporalmente (B). A) Cluster 1 (Vermelho), Cluster 2 (Amarelo), Cluster 3 (Azul) e Cluster 4 (Verde).

A



B



2.3.2 Tendências gerais dos estudos com microplástico na meiofauna exclusivamente aquática

Dos 132 artigos científicos incluídos nesta revisão, 29,54% (N=39) testam organismos exclusivamente aquáticos. Dentre os organismos teste avaliados Copepoda foi o mais investigado, com 19 (48,71%) estudos. Os gêneros de Copepoda *Tigriopus* e *Nitocra* foram alvos de 14 (73,67%) e 4 (21,04%) dos 19 estudos com esse grupo respectivamente. É importante ressaltar que três espécies foram mais testadas, *Tigriopus Japonicus* (57,89%, N=11), assim como *Tigriopus fulvus* e *Nitocra spinipes* (ambos com 10,52%, N=2). As pesquisas que se concentraram nos efeitos do microplástico em outros grupos incomuns da meiofauna, mostram 6 publicações (15,38%) investigando insetos bentônicos. Dentro dos insetos meiofaunal temporários, duas espécies receberam atenção, *Chironomus riparius* e *Chironomus sancticaroli* com 66,66% (N=4) e 33,33% (N=2) respectivamente. Para os organismos teste Nematoda e Ostracoda, apenas um estudo (2,56%) foi realizado até agora.

Por outro lado, apesar da pouca atenção, 12 publicações com meiofauna total (30,76%) somaram esforços para compreender quais os impactos dos MP's sob a meiofauna em nível de comunidade. Nessas publicações, uma, não especifica quais foram os taxa avaliados. Entretanto dos outros 11 estudos, todos testam Copepoda, seguido de Nematoda (90,90%, N=10), Polychaeta (54,54%, N=6), assim como, Oligochaeta, Tardigrada, Ostracoda, Rotifera e Gastrotricha (36, 36%, N=4), e com menos foco, Amphipoda (27,27%, N=3). Outros grupos como: Anellida, Isopoda, Insecta e Gastropoda também foram avaliados (18,18%, N=2). Um ponto a ressaltar, é que apesar de um estudo individual com nematoda, sete dos 11 (63,63%) estudos com meiofauna total realizaram um refinamento taxonômico em nível de gênero ou superior para nematoides, focando no efeito do MP's nos traços funcionais desse importante grupo meiobentônico.

2.3.2.1 Frequência de polímero, morfotipo e tamanho estudados na meiofauna aquática

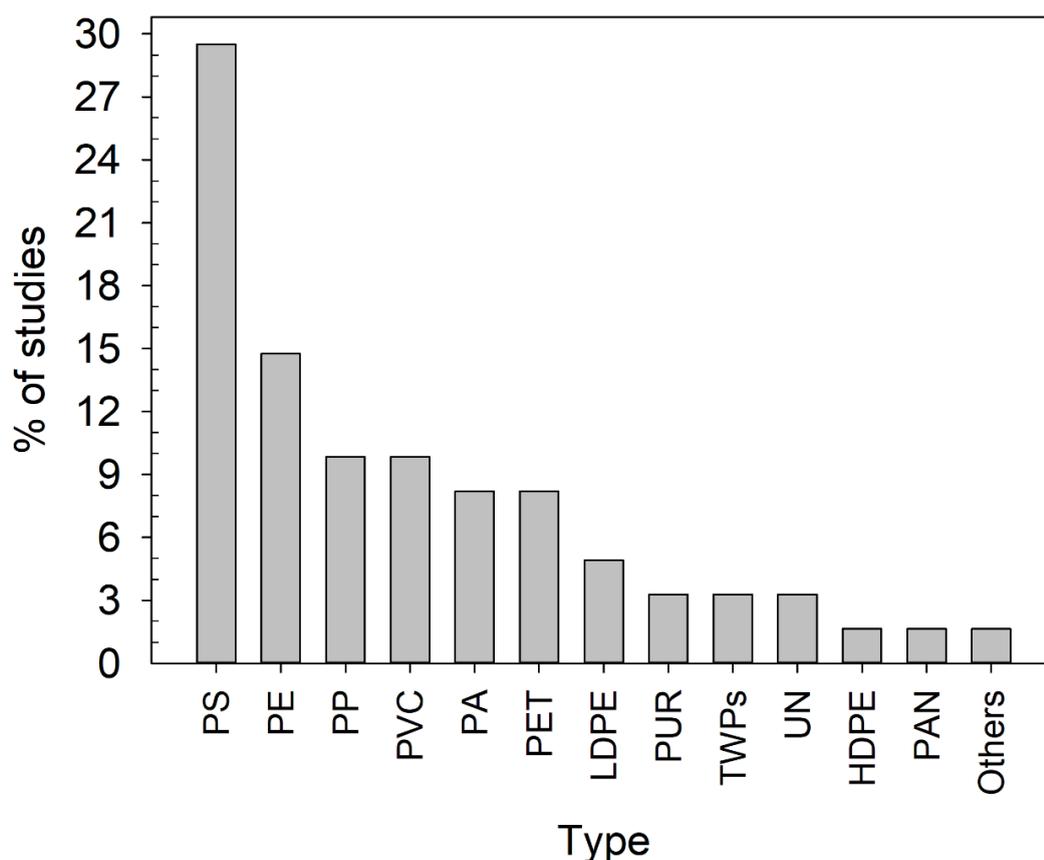
Polímero

Para a meiofauna exclusivamente aquática os dados mostram que 11 polímeros foram testados, mais as categorias de não informados e outros, ocorrendo 61 vezes em 39 publicações. Os polímeros mais investigados foram o poliestireno (PS) com 29,50% (N=18), seguido do polietileno (PE) com 14,75% (N=9), polipropileno (PP) e Cloreto de

polivinila (PVC) ambos com 9,83% (N=6) das publicações. Os polímeros menos estudados foram o polietileno de alta densidade (HDPE), poliacrilato (PAN) e outros com 1,63% (N=1) cada (Figura 4).

Dentro dos organismos teste Copepoda, dez polímeros foram testados, ocorrendo 31 vezes, investigados em 19 publicações. Destas, a maioria dos estudos concentrou seus esforços no efeito do PS (38,70%, N=12), seguido de PP (16,12%, N=5). Para a meiofauna total, nove tipos de polímeros foram investigados, ocorrendo 22 vezes, relatados em 12 estudos, no qual, os mais testados foram o PS e PVC ambos com 18,18% (N=4), que somados com PET e PA contribuem com 63,46/% das investigações. Para os únicos estudos com o organismo teste Nematoda e Ostracoda, o polímero investigado foi o PS. Os estudos com insetos tiveram como alvo os polímeros PE (N=3), LDPE (N=1), poliuretano (PUR) (N=1) e partículas de desgaste de pneu (N=1).

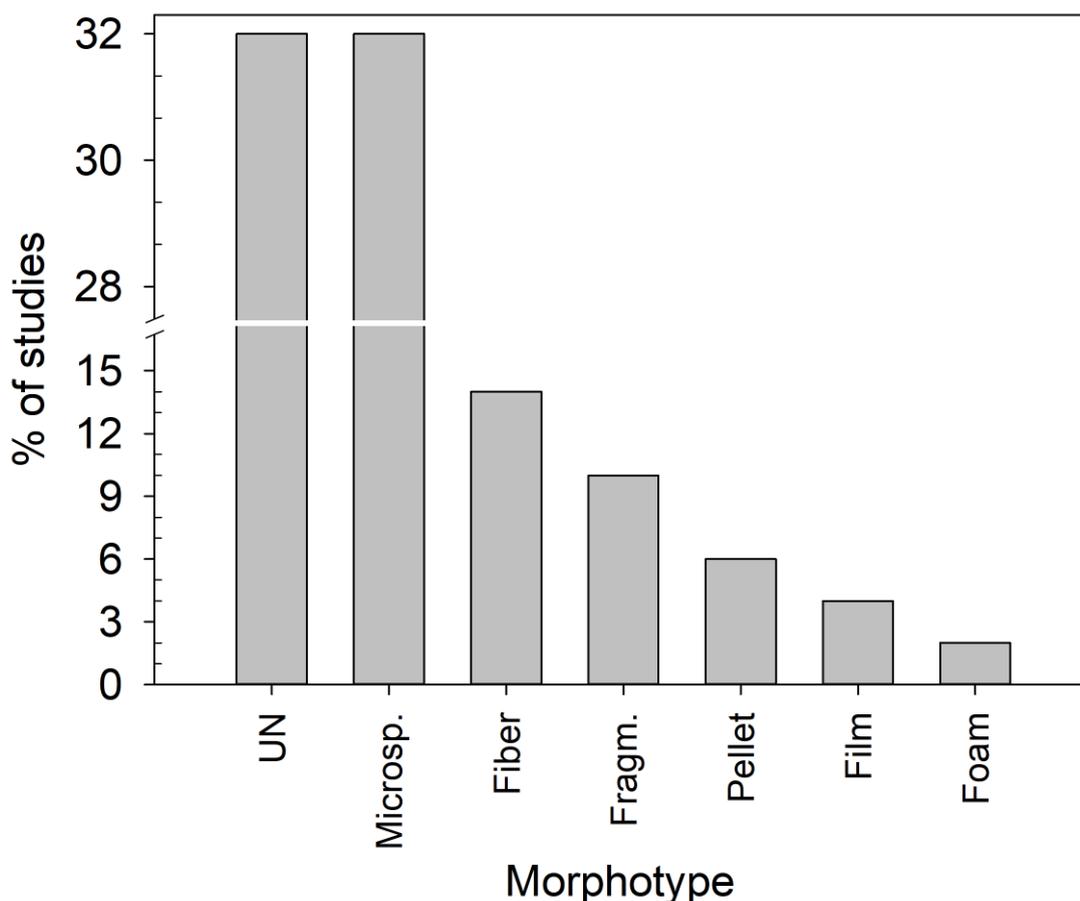
Figura 4: Quantidade de estudos (%) por tipo de polímero plástico mais investigados na meiofauna exclusivamente aquática.



As formas dos MP's representam uma importante característica por tornar possível inferir qual a origem da fonte de contaminação. Porém, nesta sessão em questão, observou-se que a maioria dos estudos foram realizados em laboratório (89,74%, N=35), o que implica que se subentende que já se saiba quais as formas dos polímeros investigados. Todavia, 32,00% dos estudos não informam qual o morfotipo testado, e a mesma quantidade usa o morfotipo microesfera. Os demais estudos têm como alvo o morfotipo fibra e fragmentos com 14% e 10% respectivamente, enquanto que com o foco menor, os morfotipos pellet, espuma e filme somam 12% das investigações (Figura 5).

Quando relacionamos o morfotipo com os diferentes grupos de organismos, exceto, para Meiofauna total e Copépoda. Em Copepoda, 20 morfotipos ocorreram, analisados em 19 publicações, podemos observar uma tendência semelhante aos dados gerais, já que mais da metade (N=10) das investigações com Copepoda utilizam a microesfera, enquanto 30% (N=6) não informa o morfotipo utilizado. Para os Insetos (N=6 estudos), Ostracoda (N=1 estudo) e nematoda (N=1) nenhum estudo informam o morfotipo. Nos artigos que testaram a Meiofauna total, obtivemos uma ocorrência de 21 morfotipos avaliados em 12 estudos. Nesta comunidade de organismos, os morfotipos predominantemente estudados foram fibra e microesfera, ambas com 28,57% (N=6), tendência esta esperada pelo fato de cinco das 12 publicações acontecerem in situ. O fragmento vem logo em seguida com 19,04% (N=4), o que difere da tendência geral.

Figura 5: Quantidade de estudos (%) por morfotipo de plástico mais investigados na meiofauna exclusivamente aquática.

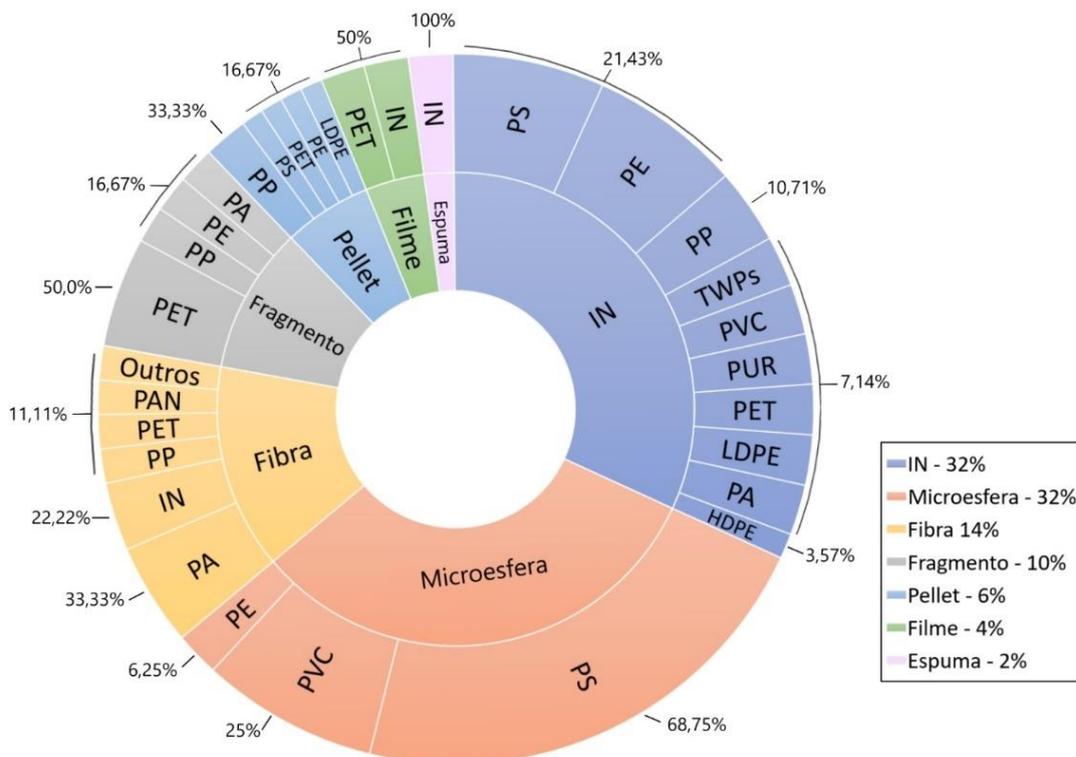


Polímero x morfotipo

No intuito de compreender quais polímeros de plásticos e seus respectivos morfotipos são mais investigados na meiofauna aquática, uma relação entre essas duas categorias foi realizada (Figura 6). Os dados mostram que 68 combinações de polímeros e morfotipo ocorreram, avaliados em 39 publicações. Destes, o PS com morfotipo de microesfera foi o mais investigado (16,17%, N=11). Em seguida, o PS e PE com morfotipos não informados, ambos com 8,82% (N=6), e por último, com uma quantidade mais expressiva em relação as outras combinações, o PVC com morfotipo de microesfera (5,88%, N=4). Dado o que foi observado anteriormente para os outros grupos individuais da meiofauna, aqui relacionaremos os morfotipos e polímeros apenas com Copépodos e Meiofauna total. 33 combinações foi possível com o morfotipo e polímeros para Copepoda, relatados em 19 publicações, no qual, sem surpreender, a mesma tendência de PS com morfotipo microesfera foi a mais frequentemente investigada (27,27%, N=9). Para a meiofauna total, 27 morfotipos e polímeros ocorreram em 12 estudos, e apesar do polímero PVC com morfotipo microesfera serem os mais testados com 14,81% (N=4), o polietileno tereftalato (PET) com morfotipo de fragmento e poliamida (PA) com

morfotipo fibra vem logo em seguida (11,11%, N=3).

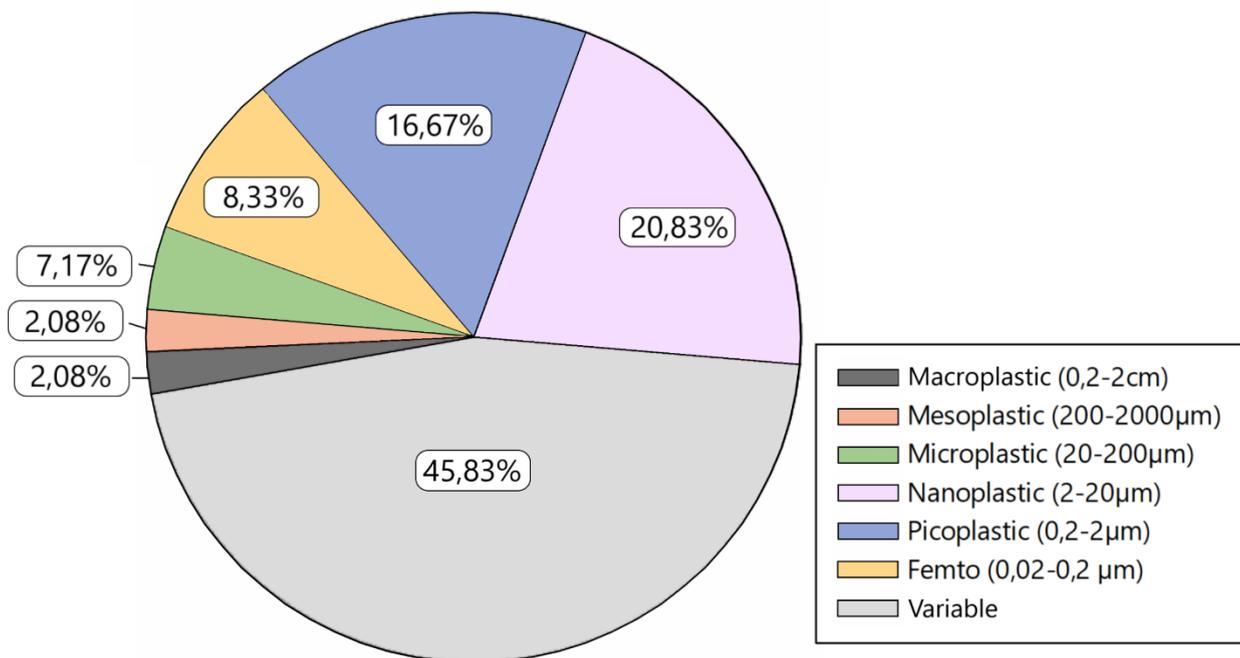
Figura 6: Relação entre polímero e morfotipo mais investigado na meiofauna aquática.



Tamanho

Além das características já citadas, o tamanho também é muito importante, principalmente, quando se trata de organismos pertencentes a meiofauna, cujo tamanho é diminuto. Os dados nos mostram que sete tamanhos foram investigados, mais a categoria variável. Os tamanhos ocorreram 48 vezes, em 39 publicações, sendo que quase metade dos estudos (45,83%, N=22) não utilizam tamanho específico (Figura 7). Dos outros tamanhos, os quantitativamente significativos foram os nanoplástico (20,83%, N=10) e os picoplásticos (16,66%, N=8). Observamos que apesar da maioria não usar um tamanho específico, quando analisados por grupo, percebemos que para organismo teste Copepoda, este segue a tendência geral apresentada acima, onde cinco tamanhos foram estudados, ocorrendo 22 vezes em 19 publicações. No qual, a mesma quantidade de estudos da categoria de tamanho variável é a mesma para nanoplásticos (36,36%, N=8). A maioria dos estudos com Insetos (71,42%) e Meiofauna total (64,28%) trabalharam com tamanhos variáveis. Enquanto que os únicos estudos com os organismos testes Nematoda e Ostracoda usam picoplásticos.

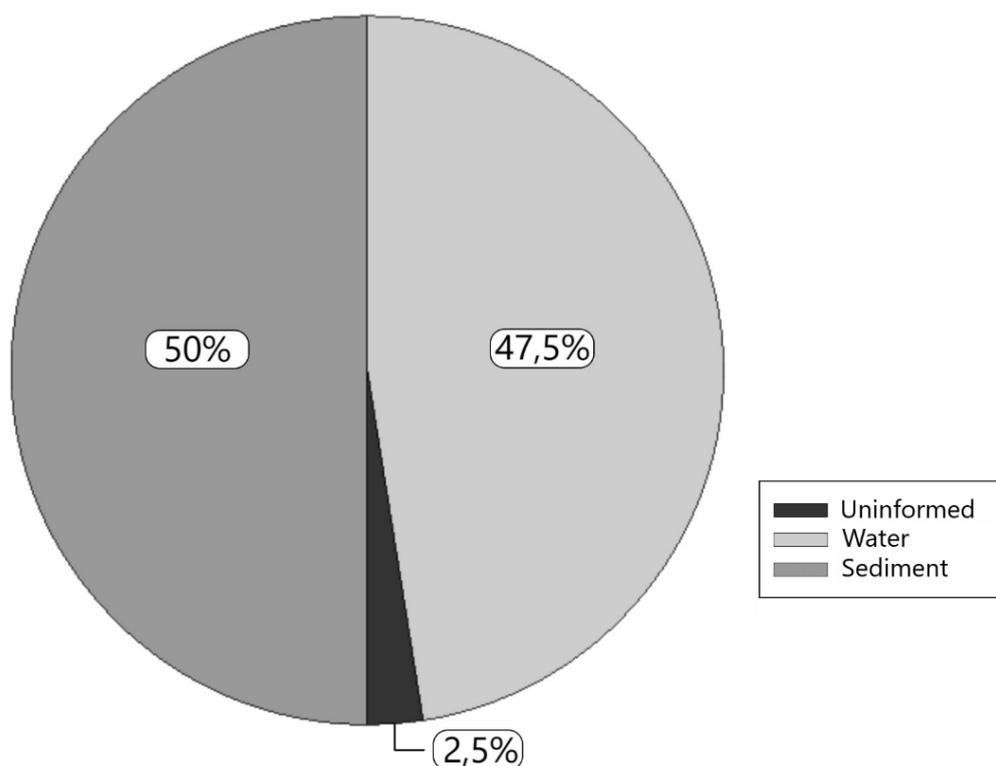
Figura 7: Tamanhos dos microplásticos mais investigados na meiofauna aquática.



2.3.2.2 Matriz de exposição

Dois matrizes de exposição foram testadas, mais a categoria não informada (Figura 8). Os estudos desta sessão expuseram os organismos sob contaminação com microplástico no sedimento (50,00%), e em meio aquoso (47,50%). Com apenas 1 estudo (2,50%) não informando a matriz de exposição. É interessante notar que o peso da quantidade de estudos que expôs os organismos ao meio aquoso é sustentado basicamente por apenas um organismo teste, os Copépodos, com 17 dos 19 estudos. Outros dois estudos usando esta mesma matriz, foi um estudo com nematoide, e um com Insecta. 11 dos 12 estudos com meiofauna total utilizou a matriz sedimentar, e só um, não informou a matriz utilizada. O estudo com o organismo teste Ostracoda e os demais estudos com Insecta usou também a matriz sedimentar.

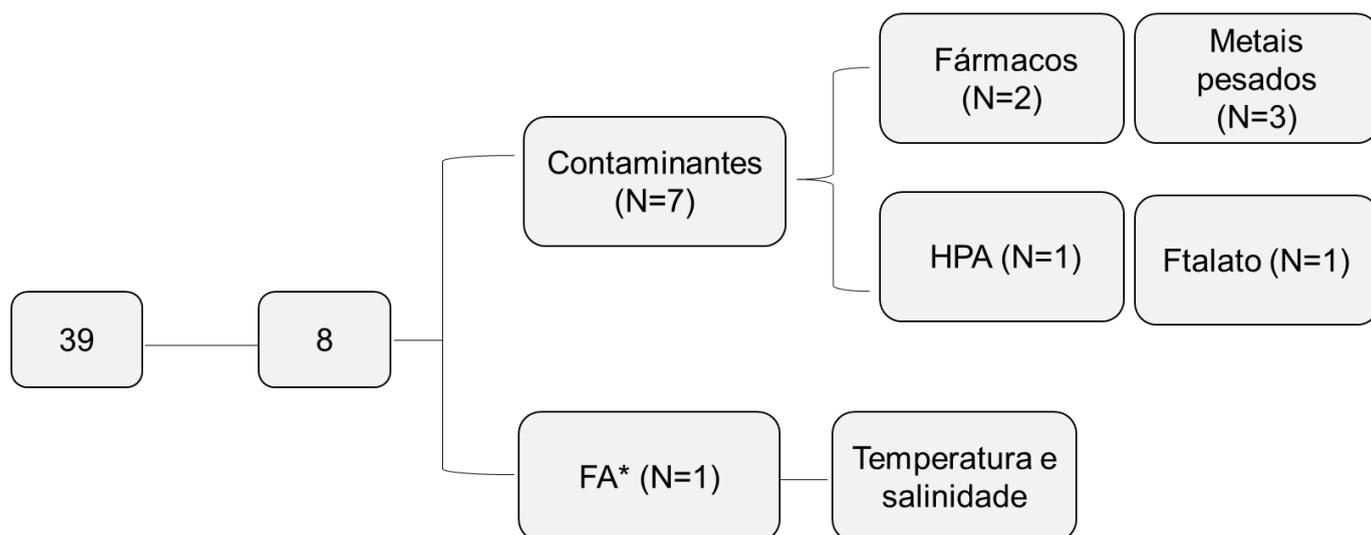
Figura 8: Matriz de contaminação mais investigada na meiofauna aquática.



2.3.3.3 Interação de microplástico com outros estressores

Poucos estudos evidenciaram os efeitos da interação do microplástico com estressores na meiofauna aquática, 8 de 39 (20,51%) estudos relataram os efeitos interativos de MP's com estressores (Figura 9). Dentre esses, sete (87,50%) estudos testam contaminantes, enquanto que um (12,5%) investigou fatores abióticos e outros. Quatro classes de contaminantes foram testadas: Metal pesado (42,85%, N=3) HPA (14,28%, N=1), ftalato (14,28%, N=1) e outros (28,57%, N=2). Apenas dois polímeros foram investigados com contaminantes, PVC com quatro (57,14%) e PS com três (42,85%). Todos os estudos com PS foram realizados com Copepoda, no qual dois investigaram o efeito interativo de metal pesado com microplástico, enquanto o outro analisou o efeito do ftalato. Assim como para PS, todas as publicações com PVC tiveram como objeto de estudo a meiofauna total. Duas publicações testaram fármacos em interação com microplástico, enquanto as outras duas, avaliaram o efeito interativo como metal pesado e HPA. O único estudo com fatores abióticos investigou em larvas de insetos o efeito interativo da salinidade e temperatura com o polímero LDPE.

Figura 9: Esquema demonstrando quantidade de estudos com interação entre microplásticos e estressores na meiofauna exclusivamente aquática. *Fatores abióticos.



Além desses estressores já citados, que podem ter origem da intensificação das atividades antrópicas e fatores ambientais atuantes, um outro fator que vem sendo apontando como um possível causador da toxicidade do microplástico: a fluorescência. A fluorescência foi usada em 14 dos 39 estudos (35,89%). 4 polímeros, ocorrendo 18 vezes em 14 publicações foram marcados com fluorescência, sendo o PS o mais investigado com 61,11% (N=11) dos estudos, seguidos de PE e PA (16,66%, N=3) e por último, o PET com 5,55% (N=1). Neste mesmo sentido, dez dos 19 (52,63%) estudos com Copepoda usam fluorescência, no qual, oito desses dez (80%) utiliza o polímero PS. Das 12 publicações com meiofauna total, 3 (25,00%) usam polímeros marcados com fluorescência, e o único artigo individual com Nematoda, marca o polímero PS com fluorescência.

2.3.3 Efeito do microplástico na meiofauna exclusivamente aquática

2.3.3.1 Efeito do microplástico em parâmetros importantes na história de vida dos organismos teste em geral e nos organismos teste individualmente

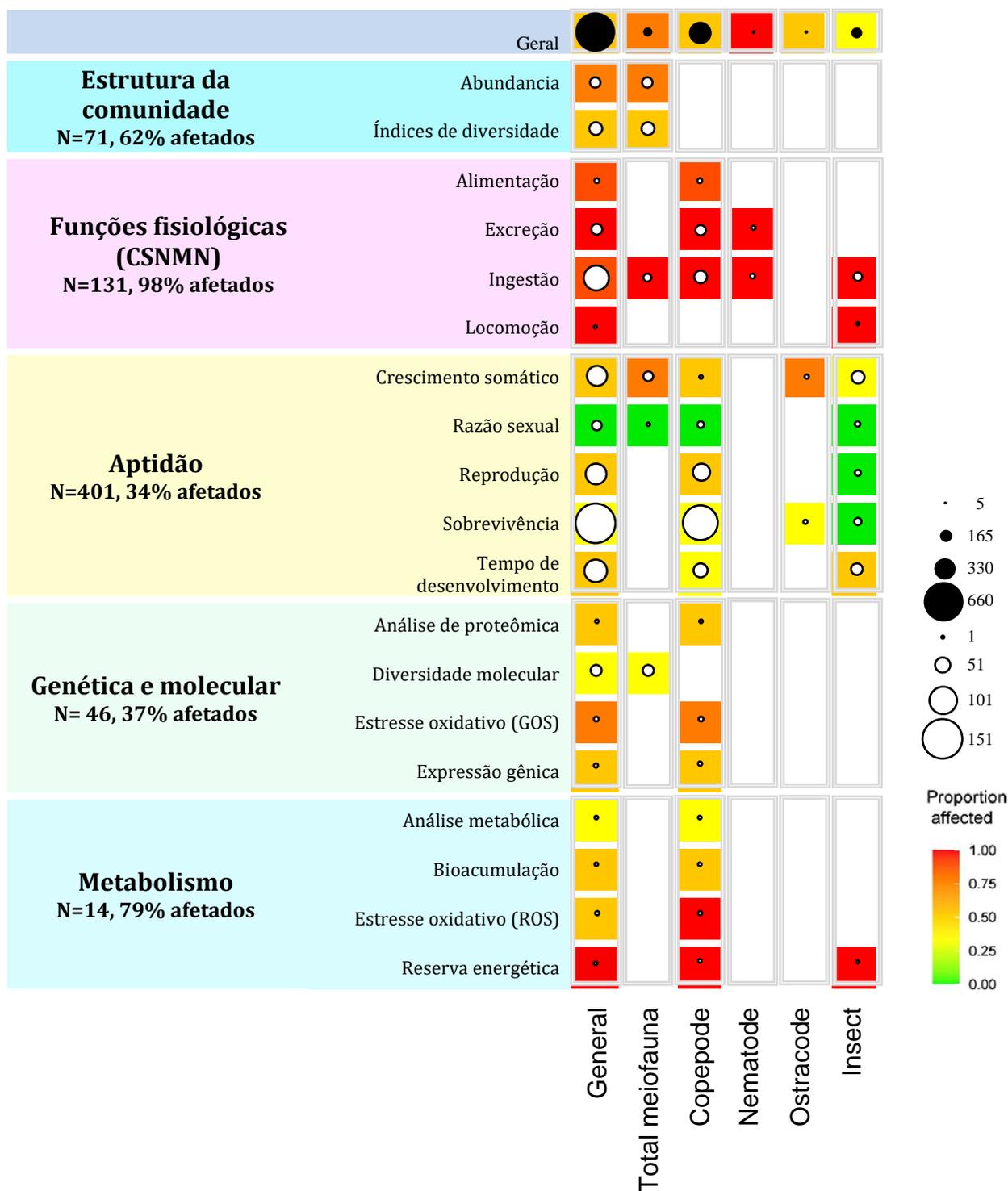
Um estudo com microplásticos biodegradáveis foi incluído apenas para as análises de efeitos versus parâmetros, tipos e morfotipos de microplástico, totalizando 40 estudos, ao invés de 39 para meiofauna exclusivamente aquática. Um total de 663 ocorrências de parâmetros foram identificadas em 40 publicações, dos quais 50% foram afetados pelo microplástico (Tabela 2). A categoria que mais teve frequência de ocorrência e mais foi investigada, foi aptidão, com 401 ocorrências dos quais 34% foram afetados sob exposição ao microplástico. Logo depois de aptidão vem a categoria de funções

comportamentais, sensoriais e neuromusculares (fisiológicos-CSNM) com 131 ocorrências e 98% de parâmetros afetados. As demais categorias foram investigadas com menos frequência, tendo a categoria estrutura da comunidade 71 ocorrências (62% afetados), seguido da categoria genética e molecular (N=46 ocorrências, 37% afetados) e por último, sendo menos investigados nos estudos, a categoria de metabolismo, com apenas 14 ocorrências, dos quais 79% dos parâmetros foram afetados sob exposição ao microplástico.

Analisando cada categoria com seus respectivos parâmetros finais avaliados nos estudos, notamos que existem alguns parâmetros específicos para cada organismos teste investigados nesta presente revisão. Na categoria estrutura da comunidade, apenas a Meiofauna total foi avaliada, e percebe-se que tanto a abundância, como também a diversidade são parâmetros afetados, principalmente a abundância, chegando a 73% de afetados. Na categoria CSNM todos os organismos teste, exceto Ostracoda, foram avaliados em algum parâmetro final no mínimo. E o que chama atenção é que todos os parâmetros finais dessa categoria foram afetados. O parâmetro final mais avaliado foi a ingestão com 90 ocorrências, do qual 99% foram afetados, sinalizando que a ingestão é um parâmetro que além de muito avaliado, demonstra que a meiofauna é capaz de ingerir microplástico *in situ* e *ex situ*.

A categoria de aptidão apesar de ser a mais investigada foi a que menos causou efeito sob exposição ao microplástico. Exceto o organismo teste Nematoda, os demais foram testados em pelo menos dois parâmetros finais desta categoria. A sobrevivência é um dos parâmetros na história de vida dos organismos que é extremamente importante, e isso reflete a quantidade de vezes que este foi avaliado nesses estudos, com uma ocorrência de 151, sendo o mais investigado nesta categoria. Porém, apesar disso, foi o que menos afetou a meiofauna (24%), só perdendo para o parâmetro razão sexual, no qual nenhum efeito foi visto para nenhum organismo teste. O tempo de desenvolvimento dos organismos representando os atrasados na eclosão de ovos e a passagem de juvenis para o estágio adulto foi o segundo parâmetro mais avaliado nesta categoria (N= 80 ocorrências) e o que foi mais afetado (46% de efeito). O terceiro parâmetro mais investigado foi a reprodução (72 ocorrências) que apesar de causar efeito para o organismo teste Copepoda (44%) nenhum efeito foi visto para Insecta. Por último, o crescimento foi afetado para todos os organismos teste investigados, sendo os Ostracoda e a Meiofauna total os organismos teste mais afetados, e os Insecta menos afetado neste parâmetro.

Tabela 2: Efeito dos microplásticos em parâmetros da história de vida da meiofauna exclusivamente aquática. O tamanho do círculo representa o número de vezes que o parâmetro foi avaliado enquanto a cor representa a ocorrência de parâmetros afetados. Geral representa o somatório dos endpoints para todos os grupos avaliados.



Tanto na categoria de genética e molecular quanto na categoria de metabolismo o estresse oxidativo foi um parâmetro final que afetou os organismos teste Copepoda e Insecta. Ou seja, este parâmetro a nível molecular vem causando impactos na meiofauna, apesar da pouca investigação. Além disso, ainda na categoria de metabolismo, é importante notar que as reservas energéticas para esses mesmos organismos teste foram significativamente afetadas, apesar do pouco estudo também. Isto sugere que apesar de haver efeito, é importante mais investigações para comprovar se o efeito é realista e não limitado pelas poucas investigações.

2.3.3.2 Efeito dos polímeros e morfotipos nos parâmetros importantes na história de vida da meiofauna exclusivamente aquática

Polímero

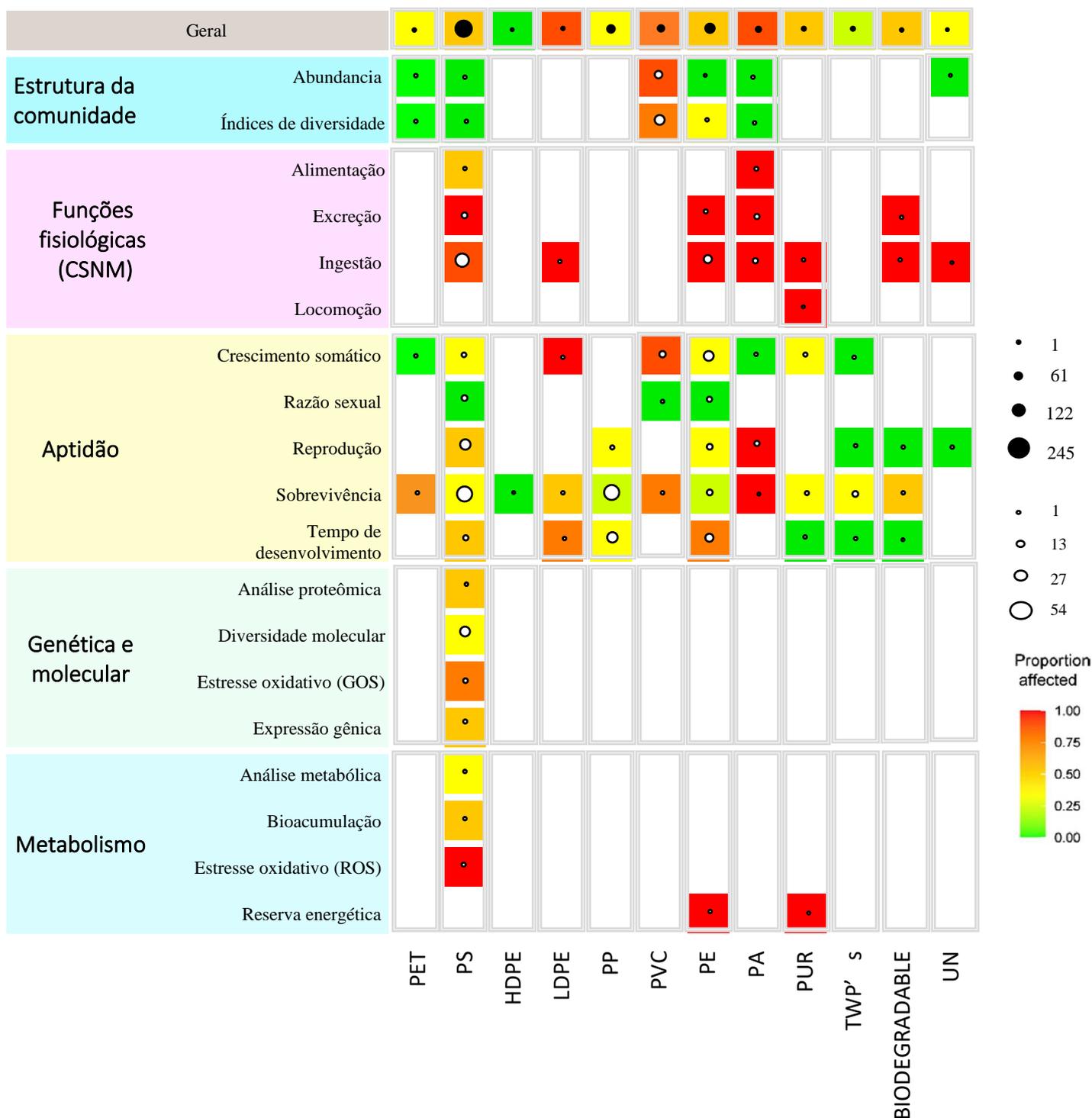
O efeito dos polímeros e morfotipos dos microplásticos foram relacionados com os parâmetros finais avaliados nos 40 estudos. Neste sentido, nove polímeros foram testados, mais partículas de desgaste de pneus (TWP's), microplásticos biodegradáveis e polímeros não informados (UN). Na categoria estrutura da comunidade, cinco polímeros mais os microplásticos biodegradáveis foram testados, porém, os polímeros PET, PS e PA não tiveram ocorrência de efeito nos parâmetros finais índices de diversidade ou abundância (Tabela 3). Os microplásticos biodegradáveis também não causaram efeito na abundância. No entanto, o polímero PVC, além de ser o mais avaliado nestes parâmetros finais (N=54 ocorrências), foi o que obteve maior ocorrência de efeito (77% afetados). Na categoria CSNM cinco polímeros mais microplásticos biodegradáveis e UN foram testados no parâmetro final ingestão, e em todos os estudos houve efeito significativo, porém, os polímeros LDPE, PE, PA e PUR foram os que mais causaram efeito na meiofauna, seguidos de PS. Além disso, apesar de pouca ocorrência (N=2), a meiofauna é capaz de ingerir microplásticos biodegradáveis.

Na categoria aptidão, que como já dito foi a que menos foi afetada pela exposição aos microplásticos, quando especificamos os polímeros, percebemos

que com relação ao parâmetro crescimento, sete polímeros mais TWP's foram investigados. PET, PA e partículas de desgastes de pneus (TWP's) não causaram efeitos nesse parâmetro, enquanto que dos estudos que avaliou PS, PE, e PUR neste mesmo parâmetro menos de 40% causou efeito significativo, e PVC, sendo este último o que teve mais ocorrências com efeito (87,50% afetados). Ainda sobre aptidão, no parâmetro sobrevivência os polímeros PP e PE apesar de serem uns dos mais estudados (N=54 e N=12 ocorrências respectivamente) tiveram menos ocorrência de efeito na meiofauna. O PS, PUR e TWP's vem logo em seguida, com menos de 40% causando efeitos significativos. Com mais ocorrência de efeito significativo, vem em ordem crescente o LDPE, PET, PVC e PA, com 50%, 66,66% 75% e 100% afetados respectivamente. Na reprodução quatro polímeros foram analisados, mais as TWP's, microplásticos biodegradáveis e UN. Estes três últimos não causaram efeito na reprodução da meiofauna. Em contra partida, PE e PP tiveram poucas ocorrências de efeito significativo, enquanto que PS e PA foram os que tiveram mais frequências de efeito significativo. Nota-se que os polímeros mais frequentemente testados como o PP e PE com relação a aptidão não são tão deletérios. Enquanto que o PS, o mais estudado na meiofauna parece afetar mais a reprodução, do que a sobrevivência e crescimento desses organismos. Já PET, PVC e PA são mais danosos na sobrevivência.

Nas categorias genética/molecular e metabolismo, apenas três polímeros foram investigados. Os polímeros PE e PUR foram analisados na categoria de metabolismo, cujo parâmetro final avaliado foi a reserva energética, e ambos os polímeros causaram efeito neste parâmetro. O polímero PS foi avaliado em diferentes parâmetros finais dessas duas categorias, porém, o parâmetro final que mais foi afetado foi estresse oxidativo metabólico, sinalizado a partir da produção de reativas de oxigênio (ROS), e o estresse oxidativo genético, demonstrado através da expressão de enzimas antioxidantes.

Tabela 3: Relação entre efeito, tipo de polímero e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna exclusivamente aquática. A cor representa a ocorrência de parâmetros. Geral representa o somatório dos endpoints para todos os grupos avaliados.



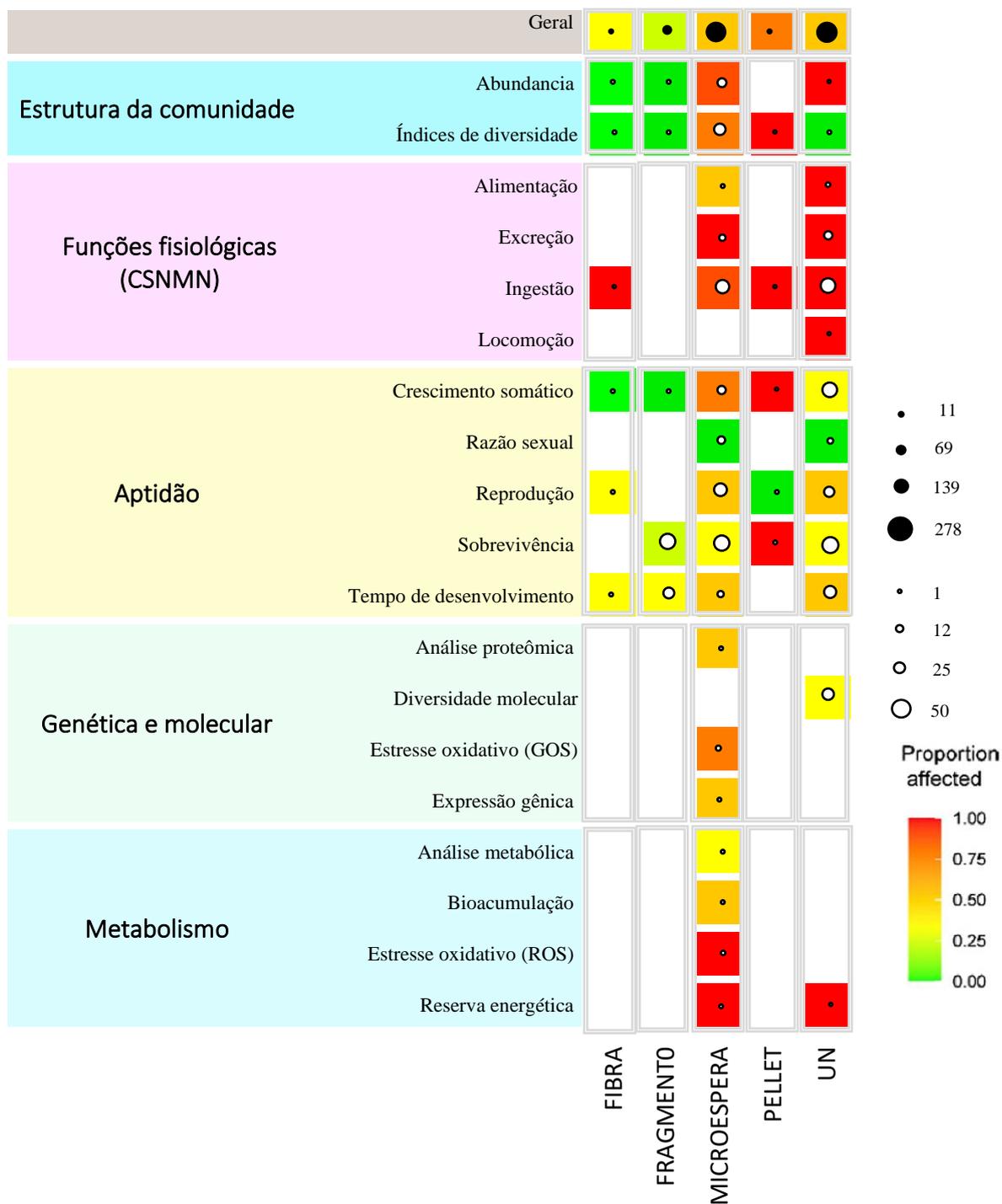
Morfotipo

Nesta revisão as microesferas e morfotipos UN foram as que mais causaram efeitos nos parâmetros avaliados na meiofauna (Tabela 4). Enquanto que as fibras e os fragmentos, foram os que menos causaram efeito. Na categoria estrutura da comunidade, as fibras e os fragmentos não afetaram a abundância e índice de diversidade da meiofauna. Em contra partida a microesfera afetou significativamente ambos os parâmetros finais (mais de 60% ambos afetados), enquanto que Pellet afetou apenas os índices de diversidade da meiofauna (100% afetados). Na categoria CSNM os morfotipos microesfera e pellet, além do morfotipo UN foram investigados. E, todos os parâmetros finais testados foram significativamente afetados.

Na categoria de aptidão, todos os morfotipos foram investigados, porém, fibra e fragmento não causaram efeito no crescimento. Já os morfotipos UN, microesferas e pellet em ordem crescente tiveram maiores ocorrência de efeito no crescimento (35,55%, 71,42% e 100% respectivamente afetados). No parâmetro sobrevivência, o pellet teve mais efeito do que as microesferas e UN, enquanto que o fragmento demonstrou pouca ocorrência de efeito (4% afetados). Quando se tratou da reprodução o pellet, que vinha causando alta ocorrência de efeito na sobrevivência, crescimento e ingestão, não causou efeito na mesma. As fibras, microesferas e morfotipos UN em ordem crescente causaram efeito na reprodução (33,33%, 43,24% e 53,57% afetados respectivamente).

Na categoria de genética e molecular, e também na de metabolismo, apenas as microesferas e morfotipos UN foram avaliados, e ambos causaram efeito na reserva energética. E as microesferas causaram efeitos no estresse oxidativo, a partir de produção de ROS ou do aumento da expressão de enzimas antioxidantes. No fim, algumas considerações são interessantes, por exemplo, as microesferas causam mais efeito na reprodução e crescimento do que na sobrevivência. Enquanto que o pellet causa efeito na sobrevivência e crescimento, mas nenhum efeito foi visto na reprodução. E outro ponto que vale a pena ressaltar, é que apesar de um terço dos estudos não informarem o morfotipo, estes, causaram tanto efeito quanto as microesferas e pellet, em todos os parâmetros que foi testado.

Tabela 4: Relação entre efeito, morfotipo e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna exclusivamente aquática. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados. Geral representa o somatório dos endpoints para todos os grupos avaliados.



2.3.4 Tendências gerais dos estudos com microplástico na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres

Nesta sessão da revisão 93 (70,45%) dos 132 artigos científicos testaram a meiofauna com hábito de vida terrestres ou semiaquático. Dos 93, duas (2,15%) publicações investigaram o efeito do microplástico e nematoides terrestre, representado pelo taxa Nematoda, enquanto 91 (97,84%) na meiofauna semiaquática. Dentro da meiofauna que transita entre os dois ambientes, o nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) foi o biomodelo de estudo mais testado (96,70%, N=88), enquanto que poucos estudos (3,29%, N=3) teve como alvo assembléia de nematoides. Apesar dos estudos desta sessão ter como alvo o grande grupo da meiofauna, nematoda, é importante ressaltar, que nos estudos com assembléias, os nematoides testados possuíam estratégias de vida e hábito alimentar diferentes. As espécies *Plectus acuminatus*, *Acrobeloides nanus* e *C. elegans*, cujo hábito alimentar é bacterívoro, foram alvo de dois dos três estudos mencionados. As espécies *Panagrolaimus thienemanni*, *Poikilolaimus regenfussi*, *Aphelenchoides parietinus* e *Pristionchus pacificus* também foram investigados, sendo as duas últimas espécies também, alvo de duas, das três publicações.

2.3.4.1 Frequência de polímero, morfotipo e tamanho estudados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres

Polímero

Uma mesma tendência geral dos tipos predominantemente testados de polímeros que foi observada para a meiofauna aquática segue para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. Tendo em vista isso, dez polímeros foram investigados, ocorrendo 108 vezes em 93 publicações. A predominância do polímero estudado continuou sendo o PS (75%, N=81), seguindo de PE (6,48%, N=7), PP (4,62%, N=4), e com menos foco, HDPE e LDPE, ambos com 3,77% (N=3) dos estudos. Apesar da tendência no uso do polímero ser semelhante, é notório que a frequência na utilização destes, são singularmente diferentes. O PS é de longe o polímero mais testado, e quando analisamos mais especificamente, notamos que dos 88 estudos realizados com *C. elegans*, 78 (88,63%) investigaram o efeito do PS. Para os três estudos com assembléias de

nematoides, todos, investigaram unicamente este mesmo polímero. Os únicos estudos que foge do padrão delineado, foi para os nematoides terrestres, já que seus dois estudos tiveram como alvo o LDPE e PP.

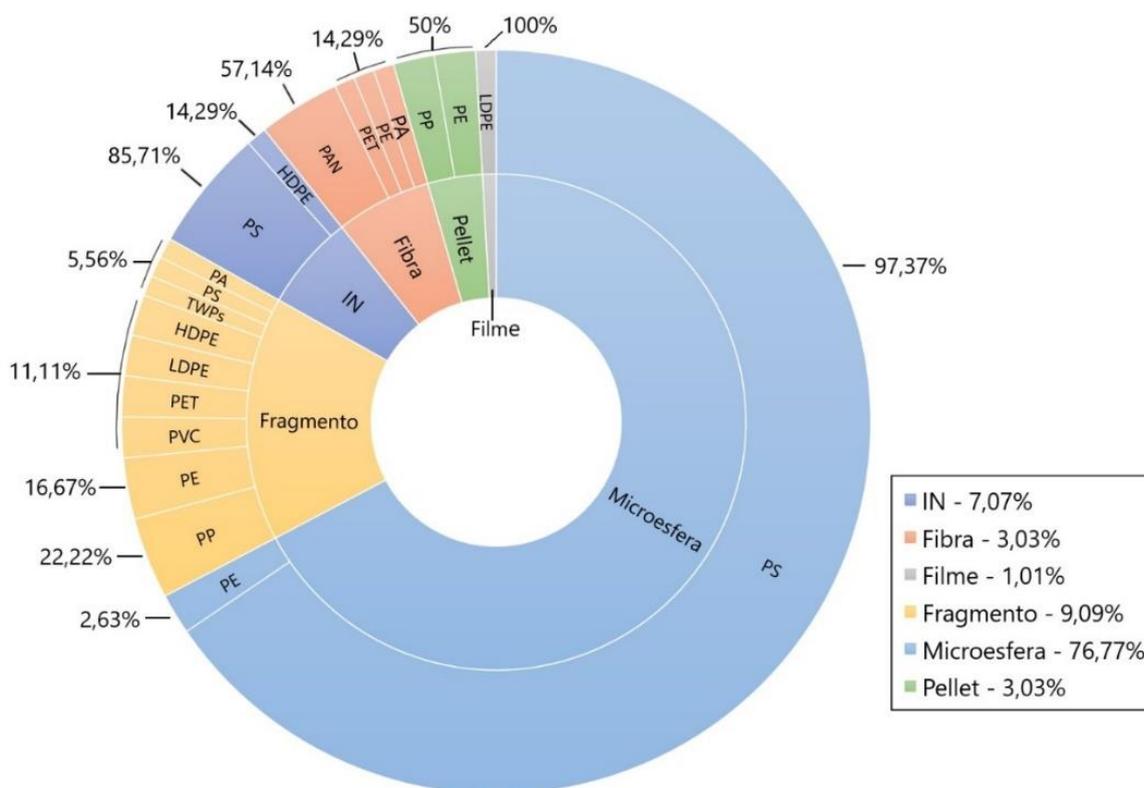
Morfotipo

Para os morfotipos a mesma lógica da primeira sessão também é seguida para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. Cinco morfotipos, mais a categoria de morfotipo não informada, foram testados, ocorrendo 99 vezes em 93 publicações. A maioria dos estudos utilizou a microesfera (76, 76%, N=76), seguido de fragmento (9,05%N=9), e morfotipo não informado (7,07%, N=7). Os morfotipos fibra (N=3), filme (N=1) e pellet (N=3) receberam menos atenção. A maioria dos estudos com *C. elegans* (82,95%, N=73) avaliaram os efeitos do morfotipo microesfera, assim como, todos os estudos com assembléias de nematoides utilizaram o mesmo morfotipo. Dos dois estudos com nematoides terrestres, cada um utilizou os morfotipos fragmento e pellet.

Polímero x morfotipo

Dado o padrão de polímero e morfotipo testados, quando relacionamos o polímero com o morfotipo mais investigado, PS com o morfotipo microesfera é o mais testado (Figura 10), sendo alvo de 74 dos 93 estudos incluídos nesta sessão. Mas, vale pontuar que, além de PS com morfotipo de microesfera ser o primeiro mais investigado (65,48%), o segundo mais investigado também é PS, mas, com morfotipo não informado (5,30%). PAN com morfotipo fibra e PP com morfotipo fragmento vêm logo em seguida (3,53%). Analisando mais especificamente, a mesma tendência continua para o nematoide *C. elegans*, com 71 de 88 estudo usando PS com morfotipo microesfera.

Figura 10: Relação entre polímero e morfotipo mais investigado na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres.



Tamanho

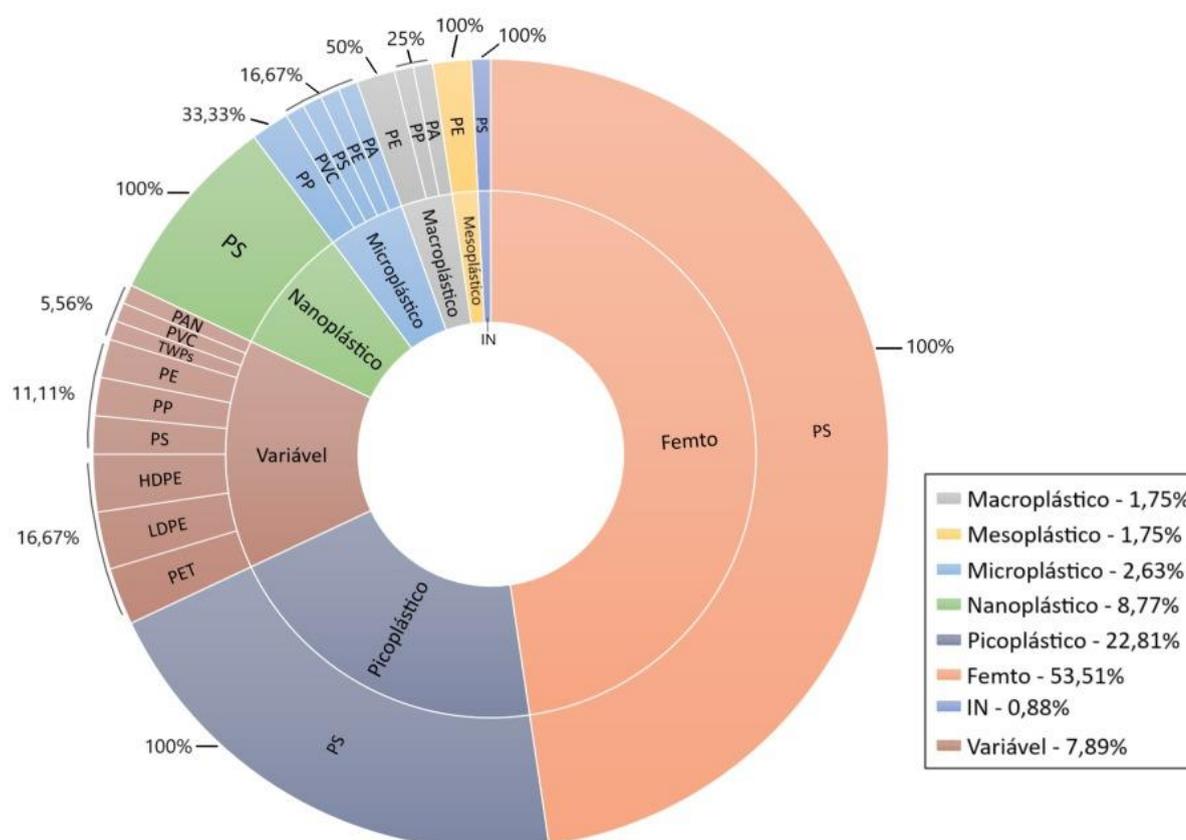
O tamanho dos polímeros plásticos para a meiofauna exclusivamente aquática foi uma característica pouco informativa, outrora, para esta sessão, o inverso foi observado. Os estudos com a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres investigou seis tamanhos, mais a categoria de tamanho variável e a não informada nas publicações. Estes, tiveram 114 ocorrências, em 93 publicações. A predominância de tamanho de microplástico testado está dentro da categoria femto (53,50%, N=61), seguido dos picoplásticos (22,80%, N=26), e com uma porcentagem ainda significativa de estudos, os nanoplásticos (8,77%, N=10) e tamanho variável (7,89%, N=9), cujo os tamanhos são inespecíficos.

Nos estudos com nematoides terrestres (N=2), um investiga os efeitos do nanoplástico e outro utiliza diferentes tamanhos, entrando na categoria variável. Na meiofauna semiaquática, os três estudos com assembléias de nematoides usam nanoplástico, e um mesmo estudo também avalia o efeito de tamanho dentro da categoria microplástico. Os estudos incluídos nesta sessão com tamanho femto, tem como único contribuinte o nematoide *C. elegans*, este foi

exposto a microplástico de tamanho femto em 61 (69,31%) dos 88 estudos.

Ainda sobre tamanho, relacionar os tamanhos poliméricos com o tipo de polímero mais investigado favorece uma interpretação mais clara dos riscos e efeitos que a meiofauna está predisposta, uma vez que em organismos tão diminutos como a meiofauna, o tamanho importa. Nesse sentido, 128 combinações ocorreram em 93 publicações, sendo o polímero PS de tamanho femto o mais estudado (47,65%, N=61). Isso vai de acordo com o que já foi visto, uma vez que todos esses correspondem aos estudos com o nematoide *C. elegans*, os que mais contribuem em termos de publicação. Seguido dele, vem o PS de tamanho picoplástico (20,31%, N=26), PS com tamanho nanoplástico (7,81%, N=10), e o tamanho variável com os polímeros PET, HDPE e LDPE ambos com 2,35% (N=3) (Figura 11).

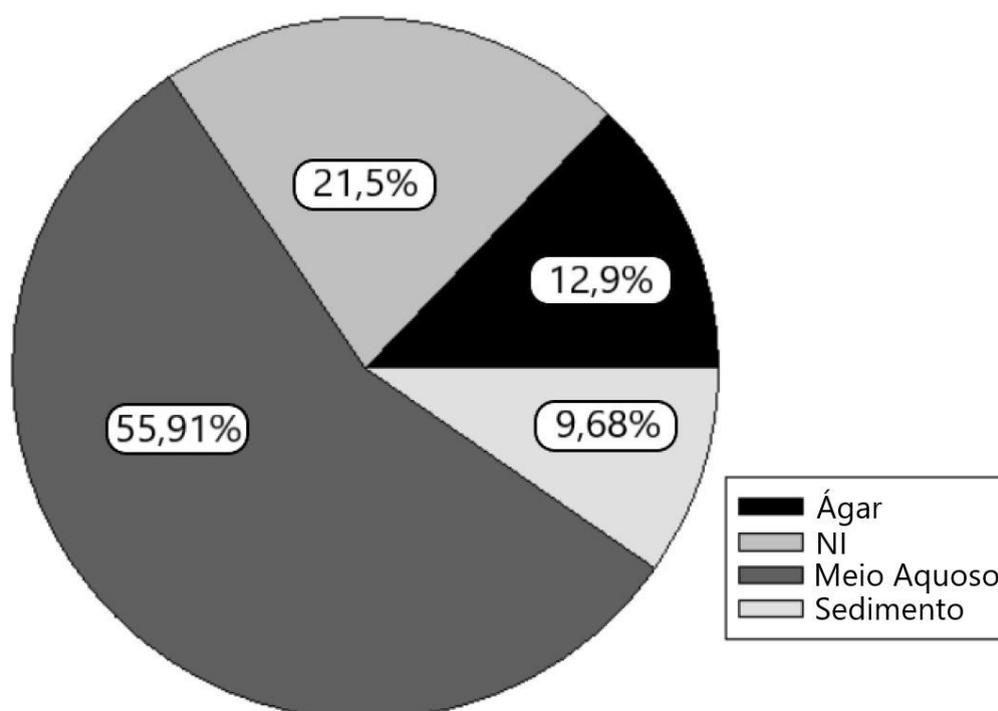
Figura 11: Relação entre tamanho e polímero mais investigados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres.



2.3.4.2 Matriz de exposição

A matriz de exposição mais utilizada nesses estudos com a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres nos revela um resultado curioso, pois apesar desses organismos fazerem parte de um habitat menos fluido, a preferência na utilização da matriz de exposição foi o meio aquoso (55,91%, N=52). Seguido do meio aquoso, 20 estudos não informaram a via de exposição usada (21,50%), e por último, o ágar e sedimento foram utilizados em 12 e 9 dos 93 estudos respectivamente (Figura 12). Um dado interessante foi que nos estudos com nematoides terrestres (N=2), estes, foram expostos a microplástico no solo, enquanto que para a assembléia de nematoides semiaquáticos, todos os estudos os expuseram a microplástico no meio aquoso. Dos 88 estudos com *C. elegans*, a maioria (55, 68%, N=49) utilizou o meio aquoso, e 12 (13,63%) e 7 (7,95%) das 88 publicações usou o ágar e sedimento respectivamente.

Figura 12: Matriz de contaminação mais investigada na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres.

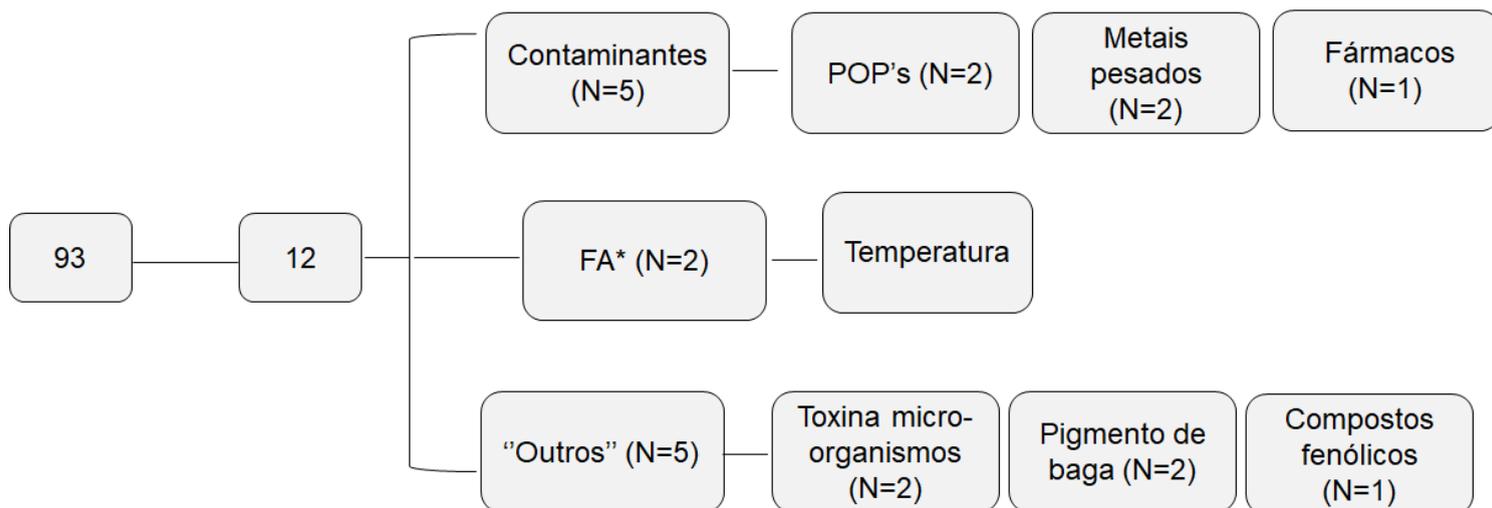


2.3.4.3 Interação de microplástico com outros estressores

Os estudos de interação do microplástico com outros estressores nesta sessão da revisão, assim como na sessão acima foram pouco investigados (Figura 13). Apenas 12 (12,90%) das 93 publicações avaliaram o efeito interativo do microplástico com outros estressores. Dentre esses, cinco (41,66%) estudos investigaram contaminantes, enquanto dois (16,66%), a influência de fatores abióticos, e cinco (41,66%) publicações focaram em outros estressores que incluíam, compostos fenólicos, pigmento de baga ou toxina de cianobactéria. Duas classes de contaminantes foram avaliadas, sendo elas, metais pesados (N=1), poluentes orgânicos persistentes (POP's) (N=3) e outros (N=3). Dois artigos que testou POP na meiofauna, testou também outro estressor (fármacos), da categoria outros. Apenas dois polímeros plásticos foram testados com contaminantes, o PS com metal pesado (N=1, 20%) e o PS com POP e outros (N=2, 40%). O polímero PE testou tanto outros estressores, da categoria outros, como POP (N=2, 40%). Todos os estudos com contaminantes foram testados no nematoide *C. elegans*. Os dois estudos com fatores abióticos investigaram o efeito da temperatura em interação com PS também tendo como alvo o biomodelo *C. elegans*.

Para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres 31 (33,33%) dos 93 estudos usou marcação de fluorescência. Dois tipos de polímeros foram usados, o PS (93,54%, N=29) e o PE (6,45%, N=2). Os dois artigos com meiofauna terrestres não utilizou fluorescência, em contrapartida, os três estudos com assembleias de nematoides semiaquáticos utilizou a fluorescência em PS. Todos os outros estudos com PS e PE fluorescentes foram expostos ao nematoide *C. elegans*.

Figura 13: Esquema demonstrando quantidade de estudos com interação entre microplásticos e estressores na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. *Fatores abióticos.

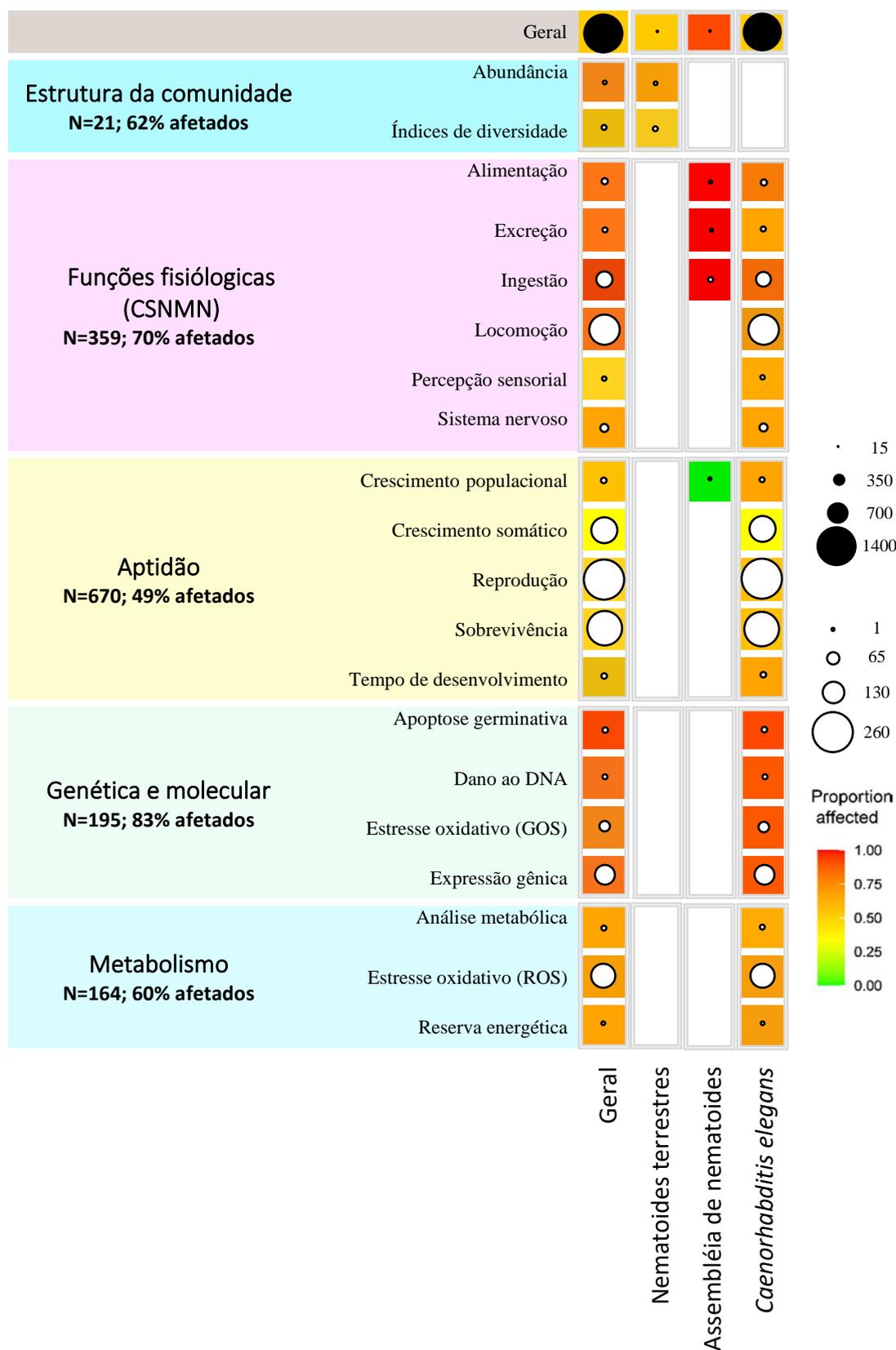


2.3.5 Efeito de microplástico na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres

2.3.5.1 Efeito do microplástico em parâmetros importantes na história de vida dos organismos

Nessa sessão da revisão um total de 1409 ocorrências de parâmetros foram identificadas em 93 publicações, no qual 61% foi afetado pelo microplástico (Tabela 5). Das cinco categorias avaliadas neste estudo, a mais frequentemente testada foi aptidão com 670 ocorrências, porém, foi também a que menos foi afetada pelo microplástico (49% afetados). A segunda categoria mais investigada foi funções comportamentais, sensoriais e neuromusculares (fisiológicos-CSNM) com 359 ocorrência e 70% de ocorrência de efeito nos parâmetros sob exposição ao microplástico. A categoria genética e molecular foi a terceira mais investigada, contudo, a mais afetada pelo microplástico (N=195, 85% afetados). As outras duas categorias foram as menos investigadas, sendo estrutura da comunidade a que menos teve ocorrência (N=21, 62% dos parâmetros afetados), enquanto a categoria metabolismo (N=164, 60% dos parâmetros afetados), seria a quarta mais estudada.

Tabela 5: Efeito dos microplásticos em parâmetros da história de vida da meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. O tamanho do círculo representa o número de vezes que o parâmetro foi avaliado enquanto a cor representa a ocorrência de parâmetros afetados. Geral representa o somatório dos endpoints para todos os grupos avaliados.



Na categoria estrutura da comunidade, apenas os nematoides terrestres foram testados (N=2), e esta foi investigada apenas nessa categoria. Neste sentido, a abundância e os índices de diversidade foram analisados, sendo este último o mais estudado, mas também o que menos teve ocorrência de efeito (N=15, 60% afetados). A abundância apesar de pouca ocorrência de investigação, foi mais afetada pelo microplástico (67% afetado).

Dentro a categoria CSNM todos os parâmetros finais foram afetados pelo microplástico. Porém, os dois parâmetros mais testados foram locomoção (N=190 ocorrências) e ingestão (N=91 ocorrências). Sendo a ingestão o mais afetado, com 80% de ocorrência de efeito. No parâmetro final locomoção apenas o nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) foi avaliado, com 69% de ocorrência de efeito.

A categoria aptidão possui parâmetros finais muito importantes na história de vida dos organismos. O crescimento populacional foi o único parâmetro que a assembléias de nematoides foram testadas, porém, o microplástico não causou efeito. Os demais parâmetros presentes nessa categoria foram avaliados apenas no nematoide *C. elegans*. A reprodução foi a mais frequentemente avaliada nos estudos (N=259), mas umas das que causou menos ocorrência de efeito (49% afetado). Depois da reprodução, o parâmetro final mais estudado foi a sobrevivência (N=220, 53% afetados), seguido do crescimento somático (N=159, 42% afetados). O tempo de desenvolvimento e crescimento populacional teve o mesmo número de investigações e ocorrência de efeito (N=16, 56% ocorrência de efeito).

As categorias de genética e molecular, e também metabolismo foram testadas exclusivamente com *C. elegans*. Os parâmetros mais investigados na categoria de genética e molecular foram expressão gênica, com 117 ocorrência, dos quais, 82% dessas ocorrências tiveram efeito sob exposição ao microplástico. O outro parâmetro mais bem estudado foi o estresse oxidativo, avaliado através do nível de expressão gênica de enzimas antioxidantes combatentes a este estresse (N=51, 84% afetados). Na categoria metabolismo, o parâmetro estresse oxidativo também foi o mais investigado (N=147, 62% afetados), porém, este estresse oxidativo é avaliado através da produção de

espécies reativas de oxigênio (ROS), nos tecidos dos organismos, principalmente no intestino.

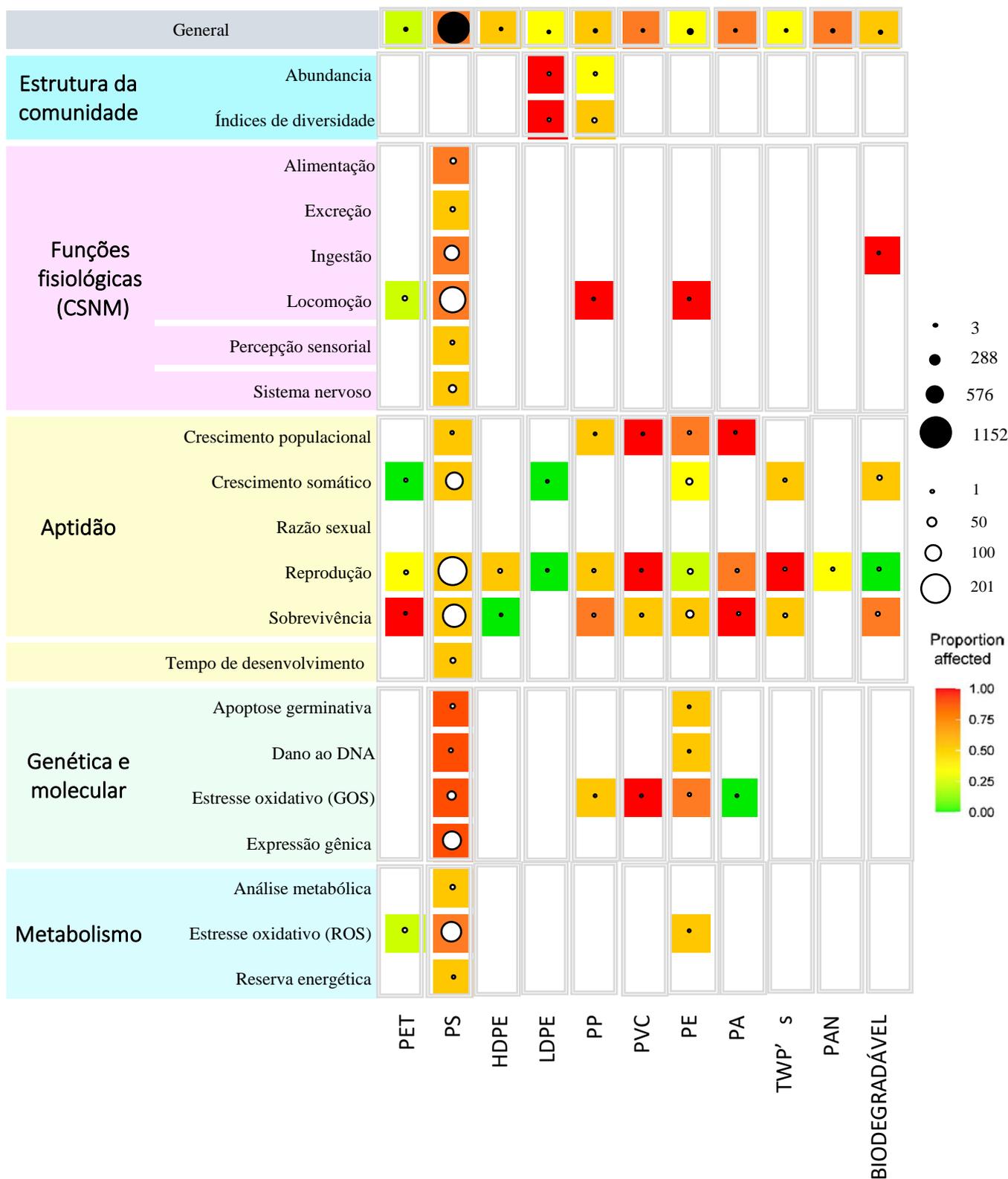
2.3.5.2 Efeito dos polímeros e morfotipos nos parâmetros importantes na história de vida da meiofauna semiaquática e nematoides terrestres

Polímero

Assim como na sessão de meiofauna aquática, nesta sessão também relacionamos os polímeros e morfotipos com o efeito do microplástico. Todos os polímeros de maneira geral, causaram efeito em pelo menos um dos parâmetros analisados nesta presente revisão (Tabela 6). Na categoria de funções comportamentais, sensoriais e neuromusculares (fisiológicos-CSNM) o parâmetro final locomoção foi o mais avaliado, e foi afetado por PET, PS, PP e PE, sendo estes dois últimos polímeros os que causou efeito em todas as ocorrências de investigações. Outro parâmetro de grande relevância nessa categoria foi a ingestão, no qual apenas PS e MP biodegradável foram avaliados. PS foi o mais ingerido pela meiofauna semiaquática e nematoides terrestres, com 80% de ocorrência de efeito, e apesar de apenas uma ocorrência de investigação, a meiofauna foi capaz de ingerir MP biodegradável.

A categoria aptidão que apesar de ser a que menos causou efeito na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres, ainda assim, possui os parâmetros mais importantes na história de vida dos organismos. O crescimento foi o parâmetro menos afetado pelo microplástico, onde o LDPE e PET não causou efeito, enquanto que o PS (44,4%), plástico biodegradável (53,8%) e o TWP's (60%) causaram mais efeito que o PE (33,3%). Quanto a reprodução, o plástico biodegradável e o LDPE não causaram efeito. Em conta partida, PVC e TWP's foram os que causaram mais efeito (100% de ocorrência de efeito). O PET e o PA foram os polímeros que mais causaram efeito na sobrevivência (100% de ocorrência de efeito), enquanto que o HDPE não causou nenhum efeito. Além disso, é importante observar que o MP biodegradável causou mais efeito na sobrevivência, enquanto polímeros que foram mais investigados como PS e PE afetou menos este mesmo parâmetro.

Tabela 6: Relação entre efeito, polímero e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados. Geral representa o somatório dos endpoints para todos os grupos avaliados.



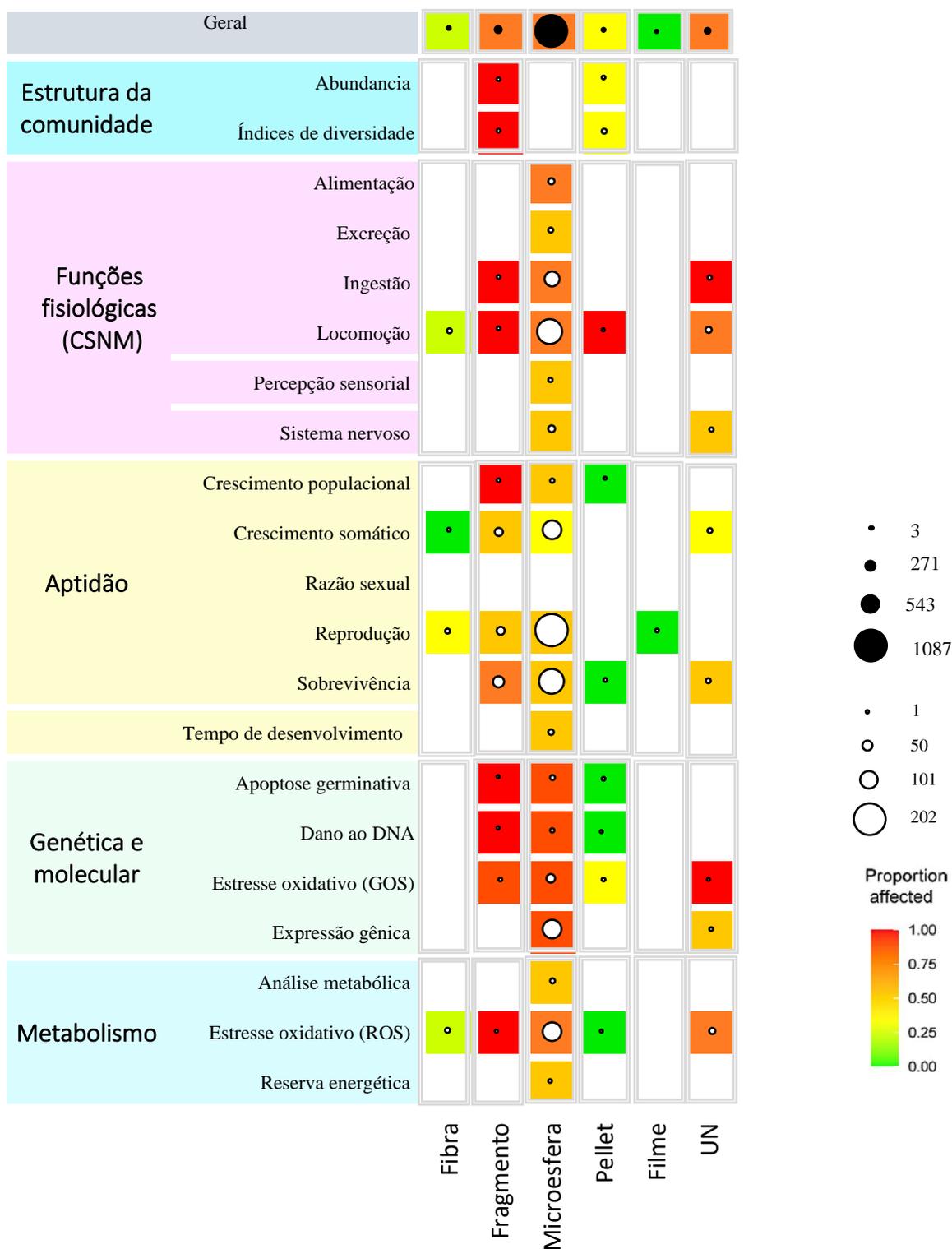
Com relação às outras duas categorias, um número mais reduzido de polímeros foram testados. Na categoria genética e molecular, no parâmetro expressão gênica, apenas o PS foi testado, com 84,9% de ocorrência de efeito. No parâmetro estresse oxidativo, avaliado através do nível de expressão de enzimas antioxidantes (GOS), cinco polímeros foram investigados. Dos quais, PA não causou estresse oxidativo, mas PVC causou efeito em todas as investigações, enquanto PS causou efeito em 88%. Na categoria de metabolismo, o estresse oxidativo a partir da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), também foi avaliado. PET, PS e PE causaram efeito neste parâmetro, sendo o PS o que mais causou efeito. Ainda interessante notar que o PS casou mais efeito nos parâmetros da categoria de genética e molecular, do que na categoria de aptidão. Isso pode sugerir que o PS esteja mais atrelado a efeitos fisiológicos e genéticos.

Morfotipo

Quanto ao efeito dos morfotipos, cinco morfotipos mais a categoria de não informado (IN) foram avaliados (Tabela 7). Na categoria CSNM é possível observar que a meiofauna semiaquática é capaz de ingerir polímero com morfotipos de fragmento e microesfera. As fibras e microesferas foram as que menos causaram efeito na locomoção (13,3% de ocorrência de efeito), enquanto que pellet e fragmento causaram mais ocorrências de efeito (100% de ocorrência de efeito).

Na categoria a aptidão, pellet e filme não causaram efeito na sobrevivência e reprodução respectivamente. O crescimento somático não foi afetado pelas fibras, mas foi afetado pelas microesferas, fragmento e IN. Na reprodução, microesfera e fragmento causaram mais efeito que as fibras. E na sobrevivência este a microesfera e o fragmento continua sendo os morfotipos que mais causaram ocorrência de efeito.

Tabela 7: Relação entre efeito, morfotipo e parâmetros com mais ocorrências investigados na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. A cor representa a ocorrência de parâmetros afetados. Geral representa o somatório dos endpoints para todos os grupos avaliados.



Na categoria genética e molecular, a expressão gênica foi avaliada com o morfotipo microesfera, com 83% de ocorrência de efeito. Quando observamos o estresse oxidativo, a partir da produção de ROS, notamos que o morfotipo pellet não causa efeito no aumento de ROS nos tecidos da meiofauna semiaquática. Já o morfotipo fragmento, tem mais ocorrência de efeito nos níveis de ROS, do que na expressão de enzimas antioxidantes. Por fim, os morfotipos pellet e fibra foram os que menos causaram efeitos na meiofauna semiaquática, em contra partida. Os fragmentos e microesferas causaram mais efeitos nos parâmetros testados, mas, os fragmentos foram mais danosos que as microesferas.

2.4 Discussão

2.4.1 Tendências gerais dos estudos com microplástico na meiofauna

O presente estudo fez uma extensa revisão sobre toda informação disponível a respeito do microplástico e a meiofauna aquática, semiaquática e nematoides terrestres. Nesse sentido, nossos dados mostram que os estudos com microplástico com foco na meiofauna cresceu significativamente na última década, se intensificando a partir de 2019. E isto é convergente com outros estudos no ambiente aquático, no qual estes vem ganhando grande atenção nos últimos anos (GOUIN, 2020; SANTOS, R. G. *et al.*, 2016; WANG, Wenfeng; GE; YU, Xiangyang, 2020), com um aumento considerável a partir desse mesmo ano citado (UGWU; HERRERA; GÓMEZ, 2021). Quando se trata dos estudos com meiofauna exclusivamente e nematoides terrestres, um número reduzido é visto, e isto reflete na negligência observada para este ecossistema (HUANG, Danlian *et al.*, 2022), no qual já vem sendo apontando que as pesquisas referente a microplástico e o ambiente terrestre estão ainda na sua infância (RILLIG *et al.*, 2018).

Nossos resultados mostra uma tendência clara de estudar os mesmos polímeros e morfotipos tanto para a meiofauna exclusivamente aquática, quanto para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. E ter conhecimento sobre o polímero que formam os MP's é muito importante, uma vez que cada polímero é único, e isto nos permite saber por exemplo, sobre o tempo de

degradação e também sobre os compostos que podem ser liberados por estes (UGWU; HERRERA; GÓMEZ, 2021). Esta revisão nos revela que os polímeros mais avaliados na meiofauna foram os PS, seguido de PE, PP e PVC, sendo o PS principalmente para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres o mais frequentemente estudado, com aproximadamente três quartos dos estudos tendo ele como alvo. Tendo em vista isso, é importante ressaltar que na ordem de produção mundial, o polímero PS é apenas o sétimo mais produzido (PlasticEurope, 2021), enquanto que o PE, PP e PVC são os segundo, primeiro e terceiro mais produzido mundialmente (PLASTICEUROPE, 2021). Quando analisada a abundância dos tipos de polímeros nos ecossistemas aquático e nematoides terrestres, uma tendência diferente do que vemos nesta revisão também foi observada. Onde, nos ecossistemas aquáticos o PS é o quinto mais abundante, sendo os primeiros, o LDPE, PP e HDPE em ordem decrescente. Apesar desses polímeros estarem entre os mais abundantes nesses ecossistemas, suas abundâncias vão diminuindo ao longo da coluna d'água, no qual nos sedimento e também nos solos os polímeros mais densos como PET, PVC e PA é que são predominantes (ERNI-CASSOLA *et al.*, 2019; HOSEINI; BOND, 2022).

Logo, apesar do PS ser o mais investigado na meiofauna não existe uma plausibilidade do porquê, pois, além de não ser o mais produzido mundialmente, nem mesmo é o mais abundante nos solos terrestres ou sedimentos aquáticos, assim como os outros polímeros mais investigados na meiofauna. E mesmo que o mesmo padrão de resultados tenha sido visto para invertebrados de solo, no qual o PS e PE foram os mais estudados (JI, Z. *et al.*, 2021), em estudo com a biota marinha o uso dos polímeros nos estudos está diretamente atrelado a produção global destes (UGWU; HERRERA; GÓMEZ, 2021). Além disso, usar o fato de o PS ser mais denso que a água não é relevante, já que os outros polímeros que mais são abundantes nos sedimentos e solos também possuem essa característica, diferente de polímeros como o PE, HDPE e PP que estão entre uns dos mais avaliados na meiofauna.

Assim como para os polímeros, a compreensão dos morfotipos mais utilizados pode fornecer base para inferir a origem da contaminação. Por exemplo, se a predominância de morfotipo for pellet, provavelmente a origem de contaminação pode estar ligada a processos industriais (UGWU; HERRERA;

GÓMEZ, 2021). Mas se a predominância for de fibras, a fonte pode ser advinda de atividades antrópicas, como água residuais de resto de roupas, ou mesmo instalações de plataformas de petróleo e operações de navios (AMELIA *et al.*, 2020; CASTILLO; AL-MASLAMANI; OBBARD, J. P., 2016). Quando prevalece fragmentos, pode -se inferir que está acontecendo a degradação de macropolásticos em MP's. Nos estudos com meiofauna o morfotipo predominantemente investigado foram as microesferas. Sendo que para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres, a microesferas, foi alvo de mais de três quartos dos estudos. Este resultado pode está ligado ao fato de que a maioria dos estudos incluídos nesta revisão, foram realizados em laboratório, e a utilização de polímeros virgens foi predominante. O morfotipo comercialmente disponível são do tipo microesferas. Porém, apesar disso, um fato interessante é que em muitos locais a predominância de morfotipo são as fibras (CHEN, M. *et al.*, 2018; DAI *et al.*, 2018; ZHU, J. *et al.*, 2019), e estas foram alvo de poucos estudos tanto na meiofauna aquática quanto na semiaquática e nematoides terrestres, o que demonstra a falha em representar com precisão as condições de campo.

O tamanho é outra característica importante dos MP's, principalmente quando se trata de organismos diminutos como a meiofauna. A maioria dos estudos que testaram a meiofauna exclusivamente aquática não utilizam um tamanho específico de microplástico, com variações de tamanhos em um mesmo site experimental. E isto, prejudica a interpretação do efeito, já que se supõe que partículas menores sejam mais tóxicas que as maiores pela facilidade de mobilidade destas entre órgãos e tecidos (GAGO *et al.*, 2020; LU, Yifeng *et al.*, 2016; QI *et al.*, 2020; SHEN *et al.*, 2019). Logo, apesar de ter efeito ou não ter efeito, para a meiofauna aquática, o fator tamanho torna-se questionável. Já para meiofauna semiaquática e nematoides terrestres o tamanho foi uma característica bem documentada, com MP's de tamanho entre 0,02-0,2 μ m sendo os mais utilizados. Apesar de se ter uma previsão de que a maioria das partículas de microplástico disponíveis no ambiente estão entre 1,1 e 4,75mm (ERIKSEN *et al.*, 2014), e que a maioria dos MP's com tamanho de 2 mm são os mais abundantes na superfície dos ecossistemas aquáticos e sedimentos (SAGAWA; KAWAII; HINATA, 2018), é importante ressaltar que MP's menores que 250 μ m não são bem documentados quanto a sua abundância (PABORTSAVA;

LAMPITT, 2020). Então, muito provavelmente, a quantidade de microplástico de tamanho inferior a 250µm, seja maior do que as registradas até o momento. As outras classes de tamanho mais avaliadas neste estudo foram os picoplásticos e nanoplásticos, cuja variação dos dois tamanhos estão entre 0,2 a 20µm. Os estudos com meiofauna vem apontando que os tamanhos entre 0,5µm e 1 µm são os que mais vem sendo absorvidos e causado efeito (FUESER, Hendrik *et al.*, 2019; LEI, L.; LIU, Mengting; *et al.*, 2018).

A matriz de contaminação nos estudos experimentais é muito importante, pois os contaminantes podem interagir com as moléculas disponíveis no meio dificultando ou facilitando o processo de toxicidade. Os MP's tem essa característica de interagir com moléculas, partículas ou agentes biológicos (AMELIA *et al.*, 2021; BRANDON *et al.*, 2018; SYRANIDOU *et al.*, 2017). Na presente revisão para a meiofauna aquática metade dos estudos utilizou como matriz de contaminação o sedimento, enquanto um pouco menos que da metade utilizou o meio aquoso. Já para a meiofauna semiaquática e nematoides terrestres mais da metade das investigações expôs os MP's em matriz aquosa. O fato é, a meiofauna vive em íntimo contato com o substrato, e já é de conhecimento que estudos com nematoides evidencia que maiores taxa de ingestão ocorre em matriz mais sólida como o ágar (KIYAMA; MIYAHARA; OHSHIMA, 2012). Além de que, outro estudo, que comparou o meio aquoso e sedimentar em nematoide, demonstrou que este último causou mais efeito deletérios no parâmetro reprodução devido ao fato de que componentes do solo estão fortemente relacionados a toxidade do microplástico (KIM, S. W. *et al.*, 2020). E ainda assim, a quantidade de estudos na matriz aquosa é superior a matriz sedimentar. Embora isso tenha sido observado para nematoides, uma tendência diferente é observada para os insetos da meiofauna temporária, no qual, comparando as duas matrizes, o meio aquoso diminuiu o tempo de desenvolvimento até a emergência dos adultos (CASTRO; BERNEGOSSI; FELIPE; *et al.*, 2022). Logo, mais estudados são necessários para conclusões mais realistas serem propostas, pois claramente, os diferentes organismos testes responderam de maneira distinta as duas matrizes.

2.4.2 Efeito do microplástico na meiofauna exclusivamente aquática

Muitos estudos revisaram os efeitos do microplásticos em invertebrados de solo ou aquático (HAEGERBAEUMER *et al.*, 2019; Ji, Z. *et al.*, 2021; UGWU; HERRERA; GÓMEZ, 2021), focando nos parâmetros de história de vida desses organismos, porém, nenhum estudo até o momento revisou os efeitos do microplástico na meiofauna. Nossa revisão revelou que a meiofauna é afetada pelo microplástico.

Nossa revisão além de avaliar os efeitos do microplástico em táxons individuais da meiofauna, se propôs também em investigar seus efeitos na meiofauna em nível de comunidade. Parâmetros como abundância e diversidade são extremamente importantes dentro de uma comunidade, uma vez que cada organismo desempenha um papel dentro dela. E já se sabe que esses parâmetros são fundamentais para manter a integridade ecológica, pois a riqueza de espécies, por exemplo, está atrelada a funções no ecossistema, que implica em produção primária, fluxo de energia entre outros (CLEMENTS; ROHR, 2009; HELLOU, 2011). A abundância da meiofauna teve uma alta ocorrência de efeitos demonstrado nesse estudo, e este efeito pode ser uma diminuição ou aumento na abundância total em relação ao controle. A maioria dos estudos relata que a exposição ao microplástico causa uma diminuição na abundância total da meiofauna (ALLOUCHE; ISHAK; *et al.*, 2021; HEDFI *et al.*, 2022; RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2022b) e ainda que essa diminuição pode ser dependente da concentração de microplástico (LAGOS *et al.*, 2023). No entanto, outra investigação, afirma que em locais com maiores concentrações de microplástico, havia uma maior abundância total da meiofauna (RODRIGUES, D. *et al.*, 2022). Além da abundância, a diversidade, que inclui a riqueza de espécies também foi um parâmetro afetado pelo microplástico observado nesse presente estudo. Ensaio experimentais com meiofauna mesmo de curto prazo já demonstram que o microplástico pode causar fortes efeitos na diminuição da riqueza (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022), mas outros índices de diversidade como a diversidade trófica de nematoides parece não ser afetado sob exposição ao microplástico (RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2022a). A diminuição na riqueza e abundância está intimamente ligada a diminuição ou desaparecimento muitas vezes de taxa considerados raros e/ou sensíveis a poluição. E este resultado é observado com outras classes de contaminantes (GAMBI *et al.*, 2020).

Os microplásticos podem causar toxicidade externa, quando não ocorre a ingestão de partículas (MUELLER; FUESER, Hendrik; TRAC; *et al.*, 2020), mas quando ocorre a ingestão os microplásticos além de causar danos mecânicos, como perfuração de tecidos e órgãos (YU, Y. *et al.*, 2020), causa danos morfológicos ou fisiológicos. Os nossos resultados apontam que a ingestão além de ser um dos parâmetros mais avaliados na meiofauna, foi também uns do que teve mais ocorrência de efeito, significando que a meiofauna em nível de comunidade, os nematoides, insecta e copépodos individualmente ingeriram partículas de microplástico. Muitos estudos com a meiofauna convergem com o mesmo resultado de que a maioria dos microplásticos são detectados no intestino, faringe ou cavidade bucal (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020a; LEE, K.-W. *et al.*, 2013; XIE, Dongmei *et al.*, 2022), e que além disso a ingestão aumenta com o aumento do tempo de exposição (ZHANG, C. *et al.*, 2019). Em estudos em nível de comunidade, foi observado que as maiores taxas de ingestão foi vista para os nematoides, seguidos de Insecta, Oligochaeta e copépodos (LORENZO, DI *et al.*, 2022). E em estudos com taxa individuais da meiofauna, a ingestão foi dependente do tamanho do microplástico para copépodos e insecta, com maiores ingestões com partículas menores de microplástico (KANG, H. M. *et al.*, 2021). Além de efeitos ligados a diminuição do crescimento ou sobrevivência, a ingestão em copépodos diminuiu sua capacidade de ingerir alimento (JAAPAR; MD AMIN; *et al.*, 2021a). Este fato, pode afetar outro parâmetro também investigado na presente revisão, como a reserva energética, que foi afetada tanto em copépodos quanto em insecta (CASTRO; BERNEGOSSI; FELIPE; *et al.*, 2022; COSTA, E. *et al.*, 2020a). Apesar de haver ingestão, estudos também apontam que a excreção dos microplásticos ocorrem em torno de 24-48h após exposição (GODDARD, 2022; GUSMÃO *et al.*, 2016; QUANBIN *et al.*, 2020), sugerindo que os efeitos atrelados a ingestão ocorrem muito rapidamente para a meiofauna.

As respostas na aptidão dos organismos, que incluem sobrevivência, crescimento, sucesso reprodutivo, tempo de desenvolvimento e razão sexual são parâmetros frequentemente investigados nos estudos (JI, Z. *et al.*, 2021; LAHIVE *et al.*, 2019), por serem pontos importantes na história de vida de um indivíduo. É para tanto que foi a categoria no presente estudo, que mais foi investigada, apesar de ser também a que menos teve ocorrência de efeito, sugerindo que

muito provavelmente os microplásticos testado aqui não casam efeito deletérios na aptidão da meiofauna. Apesar de nenhuma ocorrência com efeito significativo na razão sexual para meiofauna total, e taxa individuais como copépoda e insecta, este é um parâmetro interessante a ser discutido. Já que, os microplásticos podem ser contaminantes considerados potenciais desreguladores endócrinos (FRANZELLITTI *et al.*, 2019), uma vez que são produzidos a base de petróleo, com adição de plastificantes como ftalatos, bisfenol A entre outros (MAO *et al.*, 2022). No entanto, para meiofauna os microplásticos além de não serem desreguladores endócrinos, não seleciona um sexo sob exposição nas mais variadas condições.

Ainda sobre aptidão, a sobrevivência e reprodução apesar de pouca ocorrência com efeito, pode nos fornecer informações a respeito de organismos sensíveis e tolerantes a contaminação por microplásticos. E este resultado é claramente demonstrado no presente estudo, onde os copépodas foram afetados em termos de sobrevivência e reprodução, enquanto que os insetos meiofaunal temporários não. Este achado é um tanto interessante, pois apesar dos insecta serem expostos desde os estágios larvais iniciais a diferentes concentrações de microplástico (CARRASCO-NAVARRO *et al.*, 2022; CASTRO; BERNEGOSSI; FELIPE; *et al.*, 2022; CASTRO; BERNEGOSSI; PINHEIRO; *et al.*, 2022b), isto não foi suficiente para afeta-los. Os copépodas são organismos que geralmente tendem a ser sensíveis a contaminação (COHEN; MCCORMICK; BURKHARDT, 2014; DINH *et al.*, 2020), e apesar desses dois parâmetros terem sido afetados significativamente sob exposição ao microplástico, é importante ressaltar que a sobrevivência nas poucas ocorrência de efeito, a diminuição comparativamente ao controle nem chegou a 20% em alguns estudos(JAAPAR; MD AMIN; *et al.*, 2021a; YU, Juan *et al.*, 2020). Já na reprodução, os efeitos foram mais fortes, com concentrações próximas de 10µg/ml impossibilitando eclosão de ovo (KIM, K. *et al.*, 2022) ou diminuindo drasticamente a ovoposição (YU, Juan *et al.*, 2020). Estes achados estão de acordo com outros estudos testando invertebrados aquáticos (KELPSIENE *et al.*, 2020; LIU, Z. Q. *et al.*, 2019).

Os estudos com microplástico em invertebrados aquáticos vem apontando o estresse oxidativo como um parâmetro importante a ser avaliado (JI, Z. *et al.*, 2021; TRESTRAIL, C *et al.*, 2020). O estresse oxidativo é observado

a partir da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), subproduto da respiração aeróbica. E que, se não controlados pode danificar os ácidos nucléicos, lipídeos e proteínas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Tendo em vista, o sistema de proteção antioxidante vem sendo bastante estudado, principalmente em estudos que testam contaminantes, pois estes podem desestabilizar a homeostase redox (TRESTRAIL, C *et al.*, 2020). Nos estudos com a meiofauna, apesar da baixa quantidade de estudos que avaliou o estresse oxidativo, a maioria, causou efeito sob exposição ao microplástico. Significando que sob exposição ao microplástico a concentração de ROS aumentou, e isto foi visto nos copépoda (CHOI; HONG; PARK, J.-W., 2020a). Um ponto interessante é que com o aumento de ROS, enzimas responsáveis pelo sistema antioxidante como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutathiona (GSH), aumentaram suas expressões gênicas nos copépoda para combater o estresse oxidativo provocados pelo microplástico (KIM, K. *et al.*, 2022; XIE, Dongmei *et al.*, 2022). Isto sugere, que mesmo que os estudos avaliando o estresse oxidativo sejam poucos, mais estudos precisam dedicar esforços a compreender melhor este sistema de proteção. Principalmente quando já se tem precedentes que o combate estresse oxidativo carece de uma grande quantidade e energia, e talvez as reduções vista na reprodução e crescimento, estejam mais atreladas demanda de energia utilizada para proteger o organismo contra o estresse oxidativo, do que o próprio efeito do microplástico (TRESTRAIL, C *et al.*, 2020) (Trestrail *et al.*, 2020).

Além dos efeitos analisados nos parâmetros avaliados pelos estudos, uma relação entre o efeito com os parâmetros afetados e o tipo de polímero também foi alvo de investigação dessa revisão. Os polímeros plásticos podem apresentar toxicidade variada tendo em vista que a composição de cada polímero é única. Neste sentido, uma classificação de perigo com base no monômero que é responsável pela origem do polímero foi realizada (LITHNER; LARSSON; DAVE, G., 2011), no qual o PVC é considerado nível 5 de perigo, pelo fato dos monômeros serem cancerígenos. O PA, PS, PE e PET são considerados nível de perigo 2, enquanto o PP nível de perigo 1. O presente estudo descobriu que de forma geral a ordem de polímeros com menos efeito para a meiofauna é $\leq \text{PP} \leq \text{PET} \leq \text{PUR} \leq \text{PS}$ e $\text{PE} \leq \text{PVC} \leq \text{LDPE} \leq \text{PA}$, estes mesmo resultados foi visto para outros invertebrados (JI, Z. *et al.*, 2021).

Quando avaliamos de maneira específica os parâmetros, notamos que o PS apesar de ser o polímero mais investigado na meiofauna, este parece afetar mais a reprodução do que o crescimento e sobrevivência dos organismos. Este resultados vai de encontro com outros estudos (BUCCI, K; TULLIO; ROCHMAN, C M, 2020; JI, Z. *et al.*, 2021). O polímero PA que é mais relevante nesse contexto, por ser o mais abundante nos sedimentos (ERNI-CASSOLA *et al.*, 2019; HOSEINI; BOND, 2022), causa mais efeito na sobrevivência e reprodução do que o próprio PS. Assim como PVC, que causa mais efeito no crescimento e sobrevivência do que PS. Mas apesar disso, o fato é, os polímeros mais testados na meiofauna, que foram o PS, PE, e PP além de não serem os mais relevantes para este grupo de organismos, por não representarem a realidade no qual eles estão inseridos, nem mesmo são os que causam mais efeito em parâmetros importantes como reprodução e sobrevivência. E apesar de poucos estudos com os outros polímeros, o que abre precedentes para uma não conclusão devido a não robustez de dados, eles são até o presente momento mais danosos. No entanto para o PS, a conclusão é mais clara, pois a quantidade de estudos que investigam o mesmo é bem maior, o que reduz o viés de interpretação.

A presente revisão além de avaliar os efeitos dos polímeros a base de petróleo, avaliou plásticos biodegradáveis testados na meiofauna. Apesar de poucas ocorrências, consegue-se observar aqui que os plásticos biodegradáveis estão causando tanto efeito quanto polímeros a base de petróleo. No parâmetro final sobrevivência os plásticos biodegradáveis foram mais danosos do que os polímeros como PUR, PA, PP, PE e PS. Além disso, na categoria de funções fisiológica, fica evidente que assim como outros polímeros os plásticos biodegradáveis podem ser ingeridos. E os efeitos dos plásticos biodegradáveis vem sendo visto afetando crescimento e sobrevivência de nematoides (GAO, Z. *et al.*, 2022; SCHÖPFER *et al.*, 2020), além de reprodução e sobrevivência em copépodos (AMELIA *et al.*, 2021; BEJGARN, S *et al.*, 2015; JAAPAR; MD AMIN; *et al.*, 2021a). Os microplásticos biodegradáveis vem sendo apontando como uma possível problemática emergente, pois está sendo demonstrando que este vem causando efeitos adversos em outros organismos aquáticos, como diminuição de crescimento populacional de uma comunidade bentônica (GREEN *et al.*, 2016), efeitos na eficiência de assimilação de anfípodos (STRAUB; HIRSCH; BURKHARDT-HOLM, 2017), e outros efeitos ecotóxicos em

cladóceros (GONZÁLEZ-PLEITER *et al.*, 2019).

Estudos já apontam a importância da compreensão do efeito da forma do polímero na toxicidade dos microplásticos (BOOTS; RUSSELL, C. W.; GREEN, 2019). Para a meiofauna ficou evidente que as microesferas causam mais efeitos em diferentes parâmetros avaliados aqui do que os outros morfotipos de polímeros, como fibra, fragmento e pellet. E isto está de acordo com outros estudos com organismos aquáticos, no qual as fibras não afetou parâmetros importantes na história de vida desses organismos, tais quais, reprodução, sobrevivência e crescimento. Mas, fragmentos afetou levemente a reprodução, enquanto que as microesfera afetou os três parâmetros(SCHWARZER *et al.*, 2022). Outros estudos também evidenciam as microesferas como sendo mais tóxicas para organismos aquáticos, afetando crescimento, reprodução, sobrevivência e consumo (FOLEY *et al.*, 2018; JAIKUMAR *et al.*, 2019). No nosso estudo, as fibras causaram mais efeito do que os fragmentos, indo de acordo também com o que vem sendo visto em organismos aquáticos (QIAO *et al.*, 2019). Apesar desses achados significativos, é importante frisar que os estudos em laboratório falham em representar as condições de campo, já que se sabe que as fibras que são mais abundantes nos ambientes aquáticos (ZHU, J. *et al.*, 2019). Além disso, mesmo sabendo que as microesferas causam efeitos significativos na meiofauna, não podemos inferir que os outros morfotipos não causam devido ao baixo números de investigações com esses. Logo, a toxicidade relacionada a forma do polímero ainda precisa ser mais elucidada para a meiofauna, pois, o máximo que podemos concluir é o efeito relacionado a um tipo de morfotipo, as microesferas.

Neste estudo o tamanho dos microplásticos não nos forneceu uma resposta clara para o efeito destes na meiofauna. Estudos com nematoides apontam que os tamanhos entre 0,5 μ m e 1 μ m são os que mais vem sendo acumulados e causado efeito(FUESER, Hendrik *et al.*, 2019; FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020b). No entanto, o que podemos perceber aqui é que as classes de tamanhos de femto e picoplástico, cuja variação é de 0,02-2 μ m foram pouco estudadas, e pelas proporções de efeito significativo, de ambas, estas teriam menos efeito sobre a meiofauna do que as classes de tamanhos de microplásticos e mesoplástico. O que dada a baixa robustez dos dados não permite esta conclusão. Diante disso, mais estudos com

tamanhos diminutos de microplásticos devem ser investigados, principalmente tendo em vista o fato de que os microplásticos menores são os mais danosos no ecossistema aquático (XIE, Dongmei *et al.*, 2022). Apesar de não haver até o momento uma conclusão pertinente para os tamanhos específicos de microplásticos, nesta revisão conseguimos ainda concluir que a exposição a diferentes tamanhos em conjunto pode causar danos significativos na sobrevivência, reprodução e crescimento da meiofauna. E isto pode ser justificado dada a variedade de taxa da meiofauna de tamanhos e histórias de vida diferentes. Logo, pode haver taxa com níveis de estágio de vida diferentes que estarão propensos a diferentes tamanhos. E isto já foi visto em outros estudos, onde diferentes tamanhos de microplásticos podem afetar estágios de vida diferentes de uma mesma espécie (KIYAMA; MIYAHARA; OHSHIMA, 2012).

Além dos efeitos individuais dos microplásticos, a interação do microplástico com outros estressores vem causando grandes preocupações na comunidade científica (AMELIA *et al.*, 2021; PALMER; HERAT, 2021). Nesta revisão, ficou evidente que poucos estudos focam no efeito interativo dos microplásticos com outros estressores. Mas, apesar de dados não robustos, alguns pontos são plausíveis de discussão. Dos sete estudos com microplástico e contaminantes, cinco trazem um mesmo padrão de resposta a esta interação. Ou seja, microplástico combinados a metais pesados testados em copépodos causam mais efeito negativos, como diminuição no consumo de oxigênio e alimentação (SHI, W. *et al.*, 2022), ou aumento na expressão de enzimas antioxidantes para proteção contra o estresse oxidativo (XIE, Dongmei *et al.*, 2022), do que microplásticos ou esses contaminantes testados isoladamente. Este efeito também foi observado para a meiofauna em nível de comunidade, testando interação de fármacos ou HPA, onde a interação desses contaminantes com microplástico reduziu mais a abundância dos taxa em comparação com esses estressores isoladamente (ALLOUCHE; ISHAK; *et al.*, 2021; HEDFI *et al.*, 2022). Este tipo de resposta demonstra a capacidade de sorção e dessorção de contaminantes ao microplástico, no qual através de ligações químicas os microplásticos se ligam ao contaminante, mas dentro do corpo dos organismos, este se separa, tornando o contaminante mais biodisponível para organismo (AMELIA *et al.*, 2021). Este padrão de respostas vem sendo obtido em outros

estudos com organismos aquáticos (BESSELING *et al.*, 2013; KHAN *et al.*, 2015), com respostas mais fortes de enzimas antioxidantes contra o estresse oxidativo sob combinação de metal pesado e microplástico (YANG, B. *et al.*, 2022) do que isoladamente.

Além dessa resposta, uma antagônica a esta também foi observada nesta revisão. Um estudo com ftalato combinado a PS causou menos efeito na reprodução dos copépodos, do que suas formas isoladamente (LI, Zhaochuan; ZHOU, H.; *et al.*, 2020). Outro estudo com a meiofauna em nível de comunidade testando PVC em combinação com metal pesado, teve a mesma resposta, no qual, a combinação destes causou menos efeito na abundância, enquanto eles isoladamente diminuiu mais a abundância total dos taxa comparativamente ao controle (WAKKAF *et al.*, 2020). Isso sugere que quando os microplásticos interagem com os poluentes, estes não ficam mais disponíveis para os organismos, e isto também foi observado em estudos com organismos aquáticos (SORENSEN *et al.*, 2020). Estas duas respostas antagônicas da meiofauna a interação de microplásticos com outros contaminantes, só fomenta o fato de que mais estudos acerca desse processo de interação precisam ser mais investigados. Além da interação microplástico e contaminante, estes também podem interagir com fatores abióticos (AMELIA *et al.*, 2021; FISNER *et al.*, 2017). No presente estudo, apenas um artigo avaliou o efeito interativo do microplástico com fatores abiótico, e neste, ficou claro que o polímero LDPE em interação com sal (NaCl) reduziu os efeitos negativos no crescimento de insetos da meiofauna temporária, quando comparado com o efeito do NaCl sozinho (CASTRO; BERNEGOSSI; PINHEIRO; *et al.*, 2022a). Esse efeito pode está ligado ao fato de os íons livres do sal interagir com o microplástico, como já visto em outra investigação (HOLMES; TURNER; THOMPSON, R. C., 2014) Porém, estudos focando em fatores abióticos carecem de mais atenção, pois estes podem afetar positivamente ou negativamente a capacidade de interação do microplástico com outros estressores ((LIU, Z. Q. *et al.*, 2019), e até o momento nenhum estudo analisou isto para a meiofauna em nível de comunidade, e apenas este em um taxa pouco representativo da meiofauna.

2.4.3 Efeito do microplástico na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres

Apesar desta sessão ser representada apenas pelos nematoides, é importante ressaltar que esta taxa é a mais dominante e rica dentre os grandes grupos da meiofauna. A sua alta abundância no sedimento, e sua riqueza em termos de estratégias de vida, hábito alimentar, e morfologia, os tornam aptos e alvos de estudos com microplástico. Além disso, possuem um representante amplamente conhecido e estudado no campo da genética e biologia molecular, o nematoide *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), alvo da maioria dos estudos desta sessão.

Poucos estudos concentraram esforços nos nematoides terrestres, e apesar disso os efeitos observados nesta revisão são substancialmente claros. Na categoria estrutura da comunidade apenas a comunidade de nematoides de solos foram testados, e os efeitos na abundância e nos índices de diversidade são notórios. Em comunidade de nematoides terrestres, o efeito na abundância foram dependentes de concentração, no qual, à medida em que a concentração aumentava, a abundância destes diminuiu (LIN, D. *et al.*, 2020; YANG, B. *et al.*, 2022). Este mesmo resultado foi visto em estudos com a meiofauna aquática (LAGOS *et al.*, 2023; WAKKAF *et al.*, 2020). Porém, o que chama mais atenção nos estudos com a comunidade de nematoides terrestres, foi a demonstração de que os MP's nas concentrações mais altas, diminuiu o índice de maturidade (YANG, B. *et al.*, 2022). O índice de maturidade (MI), está ligado diretamente com a saúde do solo, e quanto mais baixo o índice de maturidade, mais prejudicado o solo se encontra (BONGERS, T.; BONGERS, M., 1998; BONGERS, T.; FERRIS, 1999). Isto nos revela que os microplástico pode modificar a estrutura da comunidade de solo, com a presença de colonizadores-persistentes (C-p) mais baixo, em detrimento de C-p mais altos, que são considerados persistentes em ambientes sem perturbação, ou seja, sensíveis (BONGERS, T.; FERRIS, 1999). Fato também visto em outros estudos (LIN, D. *et al.*, 2020), onde nematoides bacterívoro, C-p mais baixo, não foram afetados pelo microplástico LDPE, mas predadores, C-p mais alto, foram fortemente afetado na maior concentração testada. Este mesmo achado foi visto para nematoides aquáticos (ALLOUCHE *et al.*, 2022; ALLOUCHE; ISHAK; *et al.*, 2021), onde a exposição ao microplástico diminuiu a abundância de predadores e C-p mais altos.

A locomoção foi um dos parâmetros finais mais investigados nesta sessão da revisão, cujo o único biomodelo alvo desses estudos foi o nematoide *C. elegans*. A locomoção é considerada um importante parâmetro a ser avaliado por está diretamente ligada a neurotoxicidade (TSALIK; HOBERT, 2003). Estudos demonstram que o comprometimento na locomoção, está diretamente ligado a danos neurais, incluindo os neurônios dopaminérgicos, GABAérgicos, glutaminérgicos e serotoninérgicos (LIU, Qianyun *et al.*, 2020; QU, M *et al.*, 2019; WANG, Shuting *et al.*, 2021). No presente estudo, a locomoção teve alta ocorrência de efeito, sinalizando que os MP's causam neurotoxicidade no nematoide *C. elegans*. Além disso, este estudo também identificou que os polímeros PP e PE são os que mais causam efeito neste parâmetro, em comparação com os polímeros PS e PET, apesar do PS, ser o mais largamente estudado. Muitos estudos demonstram a neurotoxicidade do microplástico em *C.elegans*, no momento em que estes causam uma diminuição na locomoção (ACOSTA-COLEY *et al.*, 2019a; QU, M *et al.*, 2019; QU, Man *et al.*, 2018), e outros evidenciam que esta diminuição da locomoção é dependente de tamanho (KIM, H. M. *et al.*, 2019; LEI, L.; LIU, Mengting; *et al.*, 2018) e também de concentração (LI, Dan; JI, J.; *et al.*, 2020; LIU, Qianyun *et al.*, 2020; QIU, Y.; LIU, Yaqi; *et al.*, 2020; YU, Y. *et al.*, 2020). Os mesmo achados no presente estudo, também foram vistos em outros organismos (DING, J. *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2018). Portanto, os MP's se apresentam como uma grande ameaça aos nematoides por causar neurotoxicidade.

Depois da locomoção, a ingestão foi o segundo parâmetro final na mesma categoria, mais testado. Para esta sessão, o único polímero testado na ingestão foi o PS, sendo assim, todos os efeitos advindos da ingestão, foram causados por este. Estudos com nematoides, e especificamente o nematoide *C. elegans* vem demonstrando que a ingestão de PS causa danos severos no rompimento de tecidos e órgãos (QU, Man *et al.*, 2022; ZHAO, Li *et al.*, 2017), além provocar a diminuição na alimentação correta (KIYAMA; MIYAHARA; OHSHIMA, 2012; RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2021). Além dos aspectos negativos que a ingestão de partículas microplásticas podem causar aos organismos, sabe-se também que a ingestão de PS por nematoides acontece muito rapidamente, em torno de 20 a 30 minutos nos nematoides de maneira geral, sendo que em *C.elegans*, a carga corporal máxima da ingestão pode acontecer em até 30

minutos (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020b). A ingestão também é dependente da cavidade bucal dos nematoides, no qual, já foi demonstrado, por exemplo, que nematoides sugadores não ingerem PS. Já nematoides com cavidade bucal, mesmo que pequena tem capacidade de ingerir PS, *C.elegans*, por exemplo, têm preferência por partículas de tamanho 1 μ m do que de 0,5 μ m (FUESER, Hendrik *et al.*, 2019). Além desse fato, o estágio larval dos nematoides também importa, já que as larvas ingerem mais partículas de 0,5 μ m, enquanto os adultos de 1 μ m (KIYAMA; MIYAHARA; OHSHIMA, 2012). Tendo em vista isto, percebe-se que a ingestão em nematoides é dependente também do tamanho das partículas (MUELLER; FUESER, Hendrik; TRAC; *et al.*, 2020), assim como visto em outros grupos da meiofauna (JEONG, C. B. *et al.*, 2016; LEE, K.-W. *et al.*, 2013). E além disso, também são dependentes de concentração e tempo de exposição (SHANG, X. *et al.*, 2020; YOUSSEF *et al.*, 2021), nada diferente também do que já vem sendo observados nos invertebrados aquáticos (ZHANG, C. *et al.*, 2019).

A aptidão foi a categoria com parâmetros finais que menos sofreram efeito sob exposição ao microplástico na meiofauna semiaquática, e ainda assim, foi a que mais foi investigada, tendo em vista a importância dos parâmetros finais avaliados. O crescimento somático, sobrevivência e reprodução foram parâmetros finais avaliados apenas para o nematoide *C. elegans*. A sobrevivência, desses três parâmetros foi o mais afetado sob exposição ao microplástico. Estudos com *C. elegans* em sua maioria, evidenciam o fato de concentrações maiores afetar diretamente a sobrevivência (CHU *et al.*, 2021; QIU, Y.; LUO, L.; *et al.*, 2020; SHANG, Y. *et al.*, 2021), porém, um estudo, também com o mesmo nematoide, demonstrou, o efeito inverso, no qual concentrações mais baixas afetou mais a sobrevivência sob exposição ao microplástico, do que maiores (SHANG, X. *et al.*, 2020). Mesmo havendo efeito do microplástico na sobrevivência, é importante salientar que as reduções não são tão expressivas, pois a maioria dos estudos com *C. elegans* as reduções na sobrevivência não chegam a 50%, sendo o efeito dependente do polímero, do tamanho e da concentração do microplástico (LEI, L.; LIU, Mengting; *et al.*, 2018).

Nesta revisão um fato interessante é digno de nota, os polímeros mais testados na meiofauna semiaquática, foram o PS e o PE. E estes dois polímeros, nos parâmetros finais sobrevivência e reprodução foram os que menos causaram

efeito quando comparados aos outros polímeros. Na sobrevivência, por exemplo, os polímeros que mais causaram efeito foram o PET e o PA, dois polímeros inclusive, que possuem mais relevância para a meiofauna, pois estão em maiores concentrações no sedimento ou solo (ERNI-CASSOLA *et al.*, 2019; HOSEINI; BOND, 2022).

O PS e PE ainda possuíram menos efeito neste parâmetro do que os MP's biodegradáveis. Isto, é outro achado intrigante, pois, os plásticos biodegradáveis que em suma, teriam como objetivo substituir os plásticos feitos à base de petróleo, está causando tanto efeito quanto (WANG, Can *et al.*, 2021). E os efeitos dos plásticos biodegradáveis vem sendo visto afetando crescimento e sobrevivência de nematoides (GAO, Z. *et al.*, 2022; SCHOPFER *et al.*, 2020), além de reprodução e sobrevivência em copépodos (AMELIA *et al.*, 2020; BEJGARN, Sofia *et al.*, 2015a; JAAPAR; AMIN; *et al.*, 2021). Curiosamente os plásticos biodegradáveis não causou efeito na reprodução de *C. elegans*, como visto nos resultados deste estudo.

O estresse oxidativo nesta sessão foi testado exclusivamente no nematoide *C. elegans*. O estresse oxidativo é observado a partir da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), subproduto da respiração aeróbica. E que, se não controlados pode danificar os ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Tendo em vista, o sistema de proteção antioxidante vem sendo bastante estudado, principalmente em estudos que testam contaminantes, pois estes desestabilizam a homeostase redox (TRESTRAIL, Charlene; NUGEGODA, Dayanthi; SHIMETA, Jeff, 2020). Neste estudo os MP's causou efeito na produção de ROS, além de também ter causado efeito na expressão de enzimas antioxidantes, que só são reguladas positivamente ou negativamente, justamente quando o sistema antioxidante desestabiliza perante um estresse, pelo aumento de ROS. Os estudos com *C. elegans*, vem demonstrando que a exposição ao MP's elevam significativamente a produção de ROS (CHEN, Haibo *et al.*, 2021; LIU, H.; KWAK; *et al.*, 2021; QIU, Y.; LUO, L.; *et al.*, 2020), e além disso, evidenciam que este aumento é dependente da concentração de microplástico (HUANG, G. *et al.*, 2023; LIU, Qianyun *et al.*, 2020; ZHANG, L. *et al.*, 2022; ZHAO, Yingyue *et al.*, 2020), e do tamanho do microplástico (LIU, H.; TIAN, L.; *et al.*, 2021; LIU, Qianyun *et al.*, 2020). Resultados semelhantes foram vistos em outros estudos com a meiofauna

aquática (CHOI; HONG; PARK, J.-W., 2020b) e em uma metanálise com invertebrados de solo (JI, Z. *et al.*, 2021).

Além do aumento de ROS, o aumento no nível de expressão de enzimas antioxidantes também já foi demonstrado em estudos com *C. elegans* sob exposição a microplástico (CHEN, Haibo *et al.*, 2021; LI, X.; HU, J.; *et al.*, 2020; LIU, H.; TIAN, L.; *et al.*, 2021). Diversas enzimas antioxidantes como como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona (GSH), aumentaram sua expressão, e este aumento foi dependente da concentração de microplástico (LI, Dan; JI, J.; *et al.*, 2020). Além disso, outro estudo demonstra que apesar das enzima SOD aumentar nas menores concentrações de microplástico, nas maiores, esta enzima é suprimida (LI, Dan; DENG, Yunjia; *et al.*, 2020), sugerindo que o sistema antioxidante, não foi suficiente para combater o estresse oxidativo. Um resultado semelhante também foi visto em outro estudo com *C. elegans*, onde mesmo com altas produções de ROS, houve baixo nível de expressão de SOD e GST (FICOCIELLO *et al.*, 2021). O estresse oxidativo em *C. elegans* também pode ser suprimido nos primeiros dias de exposição ao MP's, pois as enzimas SOD aumentam expressão, porém, a prolongação da exposição, diminui SOD, fazendo com que os níveis de ROS aumente novamente (QIU, Y.; LUO, L.; *et al.*, 2020). Logo, os mecanismos de defesa ao estresse oxidativo ainda precisam ser melhor elucidados, principalmente, quando este não está sendo suficiente para a proteção dos organismos. Nossos resultados demonstram que o polímero PA não causou efeito no estresse oxidativo, em contra partida, o PS e PE causaram. Nossos resultados sugerem que mesmo que PS e PE não sejam tão danosos quanto o PA na aptidão, podem causar efeitos mais fortes na fisiologia dos nematoides.

Para os nematoides, um padrão diferente da meiofauna aquática foi observado com relação aos morfotipos *versus* o efeito. Para os nematoides, os fragmentos foram mais danosos do que as microesferas nos parâmetros finais avaliados. Sendo os fragmentos mais danosos com relação ao estresse oxidativo, ingestão e locomoção. Quanto a aptidão, tanto as microesferas, quanto os fragmentos, tiveram uma proporção de efeito semelhante. Outros estudos com invertebrados de solo evidenciam outro resultado, no qual as microesferas foram mais danosas (JI, Z. *et al.*, 2021). Mas, nosso resultado está de acordo com outros estudos com invertebrados aquáticos, no qual os

fragmentos foram mais danoso do que as microesferas, causando mais danos na sobrevivência e diminuindo reservas energéticas (AN, D. *et al.*, 2021), assim como tiveram uma concentração efeito muito menor quando comparada as microesferas (FRYDKJÆR; IVERSEN; ROSLEV, 2017). Um ponto interessante, e que parece concordar com estudos em invertebrados terrestres ou aquáticos, e que também foi visto na presente revisão, é que os morfotipos fibras são menos tóxicos (JI, Z. *et al.*, 2021; SCHWARZER *et al.*, 2022). As fibras para a meiofauna semiaquática, não afetou o crescimento, e teve pouca ocorrência de efeito na reprodução. As fibras apenas tiveram mais efeito na sobrevivência, comparativamente aos outros morfotipos. Apesar dos resultados aqui convergirem para os fragmentos como sendo os mais tóxicos, é importante ressaltar que mais estudos evidenciando os efeitos dos morfotipos nos nematoides são imprescindíveis. Isto porque a maioria dos estudos testaram as microesferas, o que é divergente do que encontramos nos ambiente, sendo as fibras e fragmentos os mais abundantes (CHEN, M. *et al.*, 2018; DAI *et al.*, 2018; ZHU, J. *et al.*, 2019).

Em nematoides os efeitos interativos com microplástico e outros estressores também foi delineado em dois padrões. O primeiro padrão claro é a sinergia entre os MP's e contaminantes, no qual a junção destes potencializa os efeitos sobre os nematoides. Um estudo com metal pesado em interação com PS foi testado em *C. elegans*, e os efeitos sobre a locomoção e estresse oxidativo foram mais atenuados com a junção destes estressores, do que quando testados isoladamente (DONG, S. *et al.*, 2018). Já outro estudo, testando poluentes persistentes em interação com PS, viram o mesmo padrão, no qual a interação causou mais danos na sobrevivência, locomoção e reprodução, do que ambos os estressores isoladamente (LI, X.; HU, J.; *et al.*, 2020). Isso é explicado pelo fenômeno de sorção e dessorção que ocorre entre o microplástico e contaminante, formando um complexo. Este quando dentro dos organismos, acabam se soltando, que seria o processo de dessorção. A dessorção torna o contaminante mais biodisponível dentro do organismo, o que conseqüentemente leva maior toxicidade (AMELIA *et al.*, 2021). Apesar de existir estes estudos que endossa a ideia de que os MP's podem potencializar os efeitos, outros estudos testando interação entre microplástico e fármacos ou poluentes persistentes em *C. elegans*, evidencia que a interação não causa efeito, sendo mais tóxico estes

sozinhos, do que em interação (FAJARDO *et al.*, 2022; MARTÍN, C. *et al.*, 2021). Estudos que testam a interação entre MP's e outros contaminantes em invertebrados já evidenciaram seus efeitos sinérgicos (BESSELING *et al.*, 2013, 2017), assim como, os não sinérgicos, no qual isoladamente estes causam mais efeitos do que em interação (SORENSEN *et al.*, 2020).

Ainda falando dos efeitos interativos entre os MP's e os estressores. Estudos pioneiros com o nematoide *C. elegans* vem testando os efeitos de pigmentos naturais em interação com MP's. Resultados promissores vem sendo alcançados, no qual a interação destes alivia os efeitos dos MP's na sobrevivência, locomoção, crescimento e também no estresse oxidativo (CHEN, W.; CHEN, Z.; *et al.*, 2022; CHEN, W.; YE; *et al.*, 2022). Estes resultados estimula a reflexão de que substâncias naturais, podem contribuir e somar esforços futuramente no combate ao efeito dos MP's. Principalmente porque a tendência atualmente é do aumento desses no ambiente aquático e terrestre à medida que o tempo passa.

2.5 Conclusão

Os resultados da presente revisão apoiam a preocupação científica sobre os efeitos dos MP's nos organismos aquáticos e terrestres. Os MP's representam uma grande ameaça a meiofauna aquática, semiaquática e nematoides terrestres, com efeitos variados em diferentes parâmetros importantes na história de vida dos organismos. Dentre os principais efeitos causados pelo microplástico, evidenciados por este estudo, os parâmetros finais da aptidão foram os que sofreram menos danos sob exposição. Em contrapartida, constatou-se que os microplástico causam estresse oxidativo através da produção de ROS, e que enzimas responsáveis pelo sistema antioxidante são ativadas para proteger os organismos destes. Além dos efeitos nos parâmetros, nosso estudo demonstrou uma tendência clara na utilização de polímero e morfotipos na meiofauna. Os polímeros PS e PE foram os mais estudados, porém foram os que menos causaram efeitos na meiofauna aquática e também na meiofauna semiaquática e nematoides terrestres. Nossos resultados apontam uma direção para polímero com maiores densidades, como o PA, PVC e PET. Que além de serem os que causaram mais efeito, são também os que estão em

maiores abundâncias no sedimento e solo, habitat natural dos organismos da meiofauna. Logo, isto implica que a comunidade científica deve somar seus esforços para compreender melhor os efeitos de polímero de alta densidade na meiofauna.

Com relação aos morfotipos, esta mesma problemática foi observada, no qual as microesferas foram mais investigadas, no entanto, estas não são as que mais estão presentes no ambiente, sugerindo a falta de realismo dos estudos realizados em laboratório. Mas apesar disso, as microesferas, foram as que mais causaram efeito para meiofauna aquática. Já na meiofauna semiaquática, os fragmentos foram mais danosos. As fibras, apesar de serem as mais abundantes nos ecossistemas, foram as menos tóxicas para a meiofauna tanto aquática, quanto semiaquática e nematoides terrestres. Além desses pontos, é importante evidenciar que os plásticos biodegradáveis, que são sugeridos como uma alternativa aos plásticos produzidos a base de petróleo, são tão tóxicos quanto outros polímeros plásticos.

3. CAPÍTULO 2 – EFEITOS DE CURTO PRAZO DOS MICROPLÁSTICOS NA ABUNDÂNCIA, DIVERSIDADE E COMPOSIÇÃO DA COMUNIDADE DA MEIOFAUNA MARINHA

RESUMO

Devido ao descarte abundante de plásticos, os ecossistemas marinhos recebem grande parte desses resíduos. Os microplásticos (MP's) são partículas sólidas com tamanho menor que cinco milímetros. Dentre os polímeros plásticos, o poliestireno (PS) é um dos mais utilizados e descartados. Por sua densidade ser maior que a da água, acumula-se em sedimentos marinhos, podendo afetar comunidades bentônicas. A meiofauna é um importante elo trófico entre os níveis tróficos basal e superior das cadeias alimentares sedimentares e pode, portanto, estar substancialmente envolvida na transferência trófica de MP e seus compostos associados. Este estudo investigou a ingestão de MP e seus efeitos na comunidade da meiofauna de uma praia arenosa. Incubamos microcosmos de sedimentos sem adição de MP (controles) e tratamentos contaminados com PS MP (1 µm) em três concentrações nominais (10^3 , 10^5 , 10^7 partículas/mL) durante nove dias, com coletas a cada três dias. Em cada momento de amostragem, a meiofauna foi amostrada, quantificada e identificada em nível de táxon superior, e a ingestão de MP foi quantificada sob um microscópio de epifluorescência. Com exceção de Tardigrada, todos os táxons da meiofauna (Nematoda, Turbellaria, Copepoda, Nauplii, Acari e Gastrotricha) ingeriram MP. A ingestão foi fortemente dependente da dose, sendo mais alta em 10^7 partículas/mL, muito baixa em 10^5 partículas/mL e inexistente em 10^3 partículas/mL. Os nematoides acumularam MP principalmente no intestino, a abundância de MP no intestino aumentou com o aumento do tempo de incubação. A densidade total da meiofauna e a riqueza de espécies foram significativamente menores na concentração mais baixa de MP, enquanto na concentração mais alta esses parâmetros foram muito semelhantes ao controle. Em contraste, a diversidade e equitabilidade foram maiores em tratamentos com baixa concentração de MP, mas estes resultados devem ser interpretados com cautela devido às abundâncias muito baixas da meiofauna nas duas concentrações mais baixas de MP. Na maior concentração de MP, a abundância, a diversidade taxonômica e a estrutura da comunidade de meiofauna de praia não foram significativamente afetadas, sugerindo que os efeitos do MP na meiofauna são, no máximo, sutis. No entanto, concentrações mais baixas de MP causaram declínios substanciais na abundância e diversidade, em linha com estudos anteriores a nível populacional e comunitário. Embora possamos apenas especular sobre o(s) mecanismo(s) subjacente(s) a esta resposta contra-intuitiva, isto justifica mais investigação para compreender melhor os efeitos da MP nas comunidades bentônicas marinhas.

Palavras-chave: Estrutura da comunidade; Ingestão; Meiobentos; Microcosmo; Poliestireno.

ABSTRACT

Due to the copious disposal of plastics, marine ecosystems receive a large part of this waste microplastics (MPs) are solid particles smaller than five millimeters in size. Among the plastic polymers, polystyrene (PS) is one of the most commonly used and discarded. Due to its density being greater than that of water, it accumulates in marine sediments, potentially affecting benthic communities. Meiofauna are an important trophic link between the basal and higher trophic levels of sedimentary food webs and may therefore be substantially involved in trophic transfer of MP and their associated compounds. This study investigated the ingestion of MP by, and their effect on, the meiofauna community of a sandy beach. We incubated sediment microcosms without MP addition (controls) and treatments contaminated with PS MP (1- μm) at three nominal concentrations (10^3 , 10^5 , 10^7 particles/mL) for nine days, with collections every three days. At each sampling time, meiofauna were sampled, quantified and identified to higher-taxon level, and ingestion of MP was quantified under an epifluorescence microscope. With the exception of Tardigrada, all meiofauna taxa (Nematoda, Turbellaria, Copepoda, Nauplii, Acari and Gastrotricha) ingested MP. Ingestion was strongly dose dependent, being highest at 10^7 particles/mL, very low at 10^5 particles/mL and non-existent at 10^3 particles/mL. Nematodes accumulated MP mainly in the intestine, MP abundances in the intestine increasing with increasing incubation time. The total meiofauna density and species richness were significantly lower at the lowest MP concentration, while at the highest concentration these parameters were very similar to the control. In contrast, Shannon-Wiener diversity and evenness were greater in treatments with low MP concentration, but these results should be interpreted with caution because of the very low meiofauna abundances at the lower two MP concentrations. At the highest MP concentration, abundance, taxonomic diversity and community structure of a beach meiofauna community were not significantly affected, suggesting that MP effects on meiofauna are at most subtle. However, lower MP concentrations did cause substantial declines in abundance and diversity, in line with previous studies at population and community level. While we can only speculate on the underlying mechanism(s) of this counterintuitive response, this warrants further research to better understand MP effects on marine benthic communities.

Keywords: Community structure; Ingestion; Meiobenthos; Microcosm; Polystyrene.

3.1 Introdução

A produção global de plástico ultrapassou 400 milhões de toneladas anuais desde 2022 (PLASTICEUROPE, 2023). Devido à ineficiência das políticas na promoção da eliminação adequada de resíduos, uma quantidade substancial de plástico acaba em ambientes marinhos (JAMBECK *et al.*, 2015; WAYMAN; NIEMANN, 2021), onde sofre degradação, dando origem a microplásticos (MP's) (BROWNE *et al.*, 2011; THOMPSON, R. C. *et al.*, 2009). Estas são partículas sólidas à base de polímeros medindo menos de 5 mm de comprimento (THOMPSON, R. C. *et al.*, 2004). Muitos polímeros plásticos têm uma densidade específica superior à da água ($> 1\text{g/cm}^3$) (CAUWENBERGHE, VAN *et al.*, 2015). Esta propriedade estimula a sua deposição preferencial, principalmente em sedimentos (HOSEINI; BOND, 2022). A bioincrustação aumenta ainda mais a densidade dessas partículas (GALLOWAY, T. S.; COLE; LEWIS, 2017; HARRISON *et al.*, 2018; KAISER; KOWALSKI; WANIEK, 2017). Consequentemente, a abundância de microplásticos tende a ser maior nos sedimentos do que na coluna de água (HARRIS, 2020; HOSEINI; BOND, 2022; SCHERER *et al.*, 2020) e nesse contexto, os organismos bênticos estão expostos a cargas microplásticas mais elevadas em comparação com o plâncton (HAEGERBAEUMER *et al.*, 2019).

O poliestireno (PS) é um dos polímeros plásticos mais utilizados em todo o mundo e tem uma densidade ligeiramente superior à da água ($1,05\text{g/cm}^3$) (PLASTICEUROPE, 2023). Além de induzir efeitos mecânicos através da ingestão (LEE, K.-W. *et al.*, 2013; YU, Juan *et al.*, 2020), o PS também inflige vários danos aos invertebrados bentônicos não ingeridos, impactando sua taxa de sobrevivência (BEJGARN, Sofia *et al.*, 2015b; GEWERT; MACLEOD, Matthew; BREITHOLTZ, Magnus, 2021), reprodução (MUELLER; FUESER, Hendrik; TRAC; *et al.*, 2020; SCHÖPFER *et al.*, 2020; YU, Juan *et al.*, 2020), crescimento (LEI, L.; WU, S.; *et al.*, 2018; SHANG, X. *et al.*, 2020) e bem-estar fisiológico (ACOSTA-COLEY *et al.*, 2019b; LEI, L.; WU, S.; *et al.*, 2018). Além disso, para além dos efeitos observados em grupos individuais, foram encontrados impactos substanciais a nível comunitário, manifestados como um declínio na abundância e na riqueza taxonômica dos animais bentônicos (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022; WAKKAF *et al.*, 2020).

A meiofauna, compreende um conjunto de metazoários que passam por uma peneira com aberturas de 1 mm, mas ficam retidos em uma peneira com aberturas de 38 μm , abrange a macrofauna juvenil, bem como organismos que passam por todo o seu ciclo de vida dependente do substrato (GIERE, O, 2009). Devido à sua elevada abundância e diversidade funcional e estrutural, podem desempenhar papéis

fundamentais nos ecossistemas bentônicos marinhos (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). Eles (micro) bioturbam os sedimentos (CULLEN, 1973) e formam ligações tróficas entre os níveis tróficos inferiores e os superiores, influenciando assim a ciclagem da matéria orgânica e impactando as propriedades físicas, químicas e biológicas do sedimento (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). Além disso, a meiofauna exibe uma notável diversidade de animais com características funcionais e sensibilidades ambientais distintas (GIERE, O, 2009; PUSCEDDU *et al.*, 2007; SANTOS, A. C. C. *et al.*, 2018; SCHRATZBERGER; SOMERFIELD, 2020). Além disso, devido a características como mobilidade limitada e, portanto, capacidade de fuga e ciclo de vida curto, servem como uma ferramenta muito útil para a compreensão dos impactos ambientais (GIERE, O, 2009; SCHRATZBERGER; INGELS, 2018).

Até o momento, os estudos sobre os efeitos da MP na meiofauna concentraram-se predominantemente nos nematóides, o grupo taxonômico predominante entre a meiofauna, mas apenas alguns deles investigaram a estrutura e a diversidade da comunidade (ALLOUCHE *et al.*, 2022; ALLOUCHE; NASRI; *et al.*, 2021; WAKKAF *et al.*, 2020). Além disso, poucos estudos examinaram os efeitos diferenciais do MP em diferentes grupos da meiofauna. Ainda menos estudos se aprofundaram nos efeitos dose-resposta na estrutura da comunidade da meiofauna, com um exame limitado de parâmetros além da abundância total (RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2022b; WAKKAF *et al.*, 2020). Outro aspecto que tem sido minimamente explorado em estudos envolvendo meiofauna e microplásticos é a relação entre tempo de exposição e impacto. Embora alguns estudos com meiofauna estabeleçam efetivamente esse fator (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020a; MUELLER; FUESER, Hendrik; TRAC; *et al.*, 2020), eles ainda não o fez no nível da comunidade.

O objetivo deste trabalho foi investigar a ingestão de microplásticos e os efeitos de curto prazo da exposição a microplásticos na estrutura da comunidade, com ênfase em a) dependência da dose da resposta, e b) a importância do tempo de incubação. Em linha com este objetivo, levantamos a hipótese de que: H₁: a presença dos microplásticos nas comunidades da meiofauna reduzirão a sua abundância e diversidade taxonômica; e H₂: Os tamanhos dos efeitos aumentarão com o aumento do tempo de exposição.

3.2 Materiais e métodos

Área de estudo e amostragem

Amostras de meiofauna foram coletadas na maré baixa do dia 14 de abril de 2022,

na Praia de Cupe, na cidade de Ipojuca, Pernambuco, Brasil (8°27'29,4"S 34°59'03,2"W). Esta praia arenosa apresenta sedimentos finos e uma presença de recifes e piscinas. As amostras foram coletadas de forma não quantitativa, raspando os 2 cm superiores do sedimento, onde ocorrem as maiores abundâncias de meiofauna (COULL; CHANDLER, 1992). Esse sedimento foi então cuidadosamente homogeneizado com auxílio de uma pá e transportado para o laboratório em baldes com água do mar natural. Uma bomba de ar foi usada para manter a oxigenação durante o transporte. No laboratório, as amostras foram submetidas a condições ambientais com temperatura e salinidade constantes (28°C e 35, respectivamente) por um período de 7 dias para garantir a estabilização da fauna antes de iniciar o experimento (MONTEIRO *et al.*, 2019; VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018). No local de amostragem, também coletamos quatro núcleos replicados de Perspex de 10 cm² como 'controles' ambientais (Camb), representando a comunidade da meiofauna sedimentar natural no momento e local da amostragem. Estes foram preservados em solução tamponada de formaldeído a 4%. Após a estabilização do sedimento a ser utilizado nas incubações experimentais, quatro réplicas adicionais de 10 cm² cada foram retiradas deste sedimento e preservadas em formaldeído para fornecer um T0 representando a comunidade da meiofauna no início da incubação experimental.

A amostragem foi realizada em praias públicas e o estudo de campo, que não envolveu espécies ameaçadas de extinção, não exigiu permissões ou autorizações especiais devido à natureza microscópica e não patogênica da meiofauna. Além disso, nenhuma das espécies da meiofauna está sujeita a preocupações especiais de conservação.

Configuração do microcosmo

O desenho e a incubação do microcosmo foram descritos em (VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018). Resumidamente, tanques com água destilada, monitorados por termostatos, serviram como reguladores térmicos para béqueres de 1 L (dimensões: 18 cm de altura e 11 cm de diâmetro). Dentro de cada béquer, uma camada de sedimentos de 5 a 6 cm de profundidade foi submersa em água do mar e oxigenada por um sistema de aeração que ciclava o ar através do sedimento por meio de pressão negativa, projetado para evitar anóxia em toda a coluna de sedimentos (VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018). Cada microcosmo recebeu 300g de sedimento "natural" contendo fauna e 100g de sedimento defaunado com microplásticos (ver abaixo). Esses dois volumes de sedimentos foram homogeneizados cuidadosa e completamente, misturando-os manualmente. Os microcosmos foram condicionados a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ e salinidade de 35 ± 1 , e monitorados diariamente durante 9 dias. Havia quatro microcosmos replicados por tratamento.

Concentrações de microplásticos

Utilizamos microesferas de poliestireno fluorescentes (Fluoresbrite®; máximo de excitação: 441 nm, máximo de emissão: 485 nm) de 1 µm de diâmetro (Polysciences Europe GmbH, Baden-Wuerttemberg, Alemanha) em um desenho experimental com quatro tratamentos: controle experimental (C) sem adição de MP; baixa concentração 10^3 partículas/mL (part./mL); concentração média (10^5 part./mL); alta concentração (10^7 part./mL). As concentrações baixa e média representam concentrações que são normalmente encontradas em ambientes bênticos marinhos (HARRIS, 2020; HOSEINI; BOND, 2022), enquanto a concentração elevada é atualmente superior às concentrações de campo conhecidas, mas pode representar um cenário futuro de aumento da poluição por microplásticos. As concentrações de microplásticos foram preparadas diluindo uma concentração de estoque de $4,55 \times 10^{10}$ part./mL com água destilada e misturando-a completamente na quantidade apropriada com sedimento defaunado para criar sedimento com uma concentração de 4×10^7 part./mL em 100g. A defaunação foi feita utilizando três ciclos de congelamento (-20°C , 12h) e descongelamento (18°C , 48h). 100g deste sedimento defaunado poluído com MP foram então cuidadosamente misturados com 300g de sedimento natural, resultando em sedimento com 10^7 part. de MP/mL. As duas concentrações nominais mais baixas de MP (10^5 e 10^3 part./mL) foram então obtidas diluindo o sedimento defaunado poluído (100g de sedimento a 10^7 part./mL) com sedimento defaunado livre de MP, portanto, uma diluição em série foi realizada para que 10g de sedimento a 10^7 part./mL com mais 90g de sedimento defaunado livre de MP foram homogeneizados até a obtenção das duas concentrações nominais mais baixas.

Amostragem laboratorial e processamento de amostras

Os microcosmos experimentais foram amostrados após três (T3), seis (T6) e nove dias (T9) de incubação. As amostras foram coletadas utilizando sondas Perspex transparentes com diâmetro interno de 3,6cm. Todos os tratamentos foram replicados quatro vezes, mas no T9 foi perdida uma repetição de 10^5 part./mL. As amostras foram enxaguadas com jato de água corrente em peneira de malha de 300 µm e 38 µm e a meiofauna foi extraída pelo método de centrifugação-flutuação (MURRELL; FLEEGER, John W, 1989). A meiofauna foi congelada ainda viva para evitar ingestão e defecação (MOENS; VERBEECK; VINCX, 1999) e depois preservada em formaldeído a 4%; eles foram corados com rosa bengala para facilitar a contagem e identificados em nível de filo,

classe ou ordem usando um esteriomicroscópio (Zeiss, Stemi 305). Aproximadamente 130 nematoides e 30 indivíduos de outros grupos da meiofauna foram recolhidos aleatoriamente nas amostras e montados em lâminas para microscopia de epifluorescência para registrar a ingestão de MP. O processo de montagem compreendeu três etapas: I) Após serem retirados da amostra, os espécimes foram colocados (12h) em placa de embriões contendo solução composta por 99% de formalina e 1% de glicerina em dessecador. II) Posteriormente, foram adicionadas quatro gotas de uma segunda solução composta por álcool 95% e glicerina 5% na mesma placa de embriões, e isso foi repetido 4 vezes em intervalos de 2 horas. III) Numa última etapa foi adicionada uma solução de formalina 50% e glicerina 50% (GRISSE, 1969). MP dentro do intestino ou preso à superfície corporal foi contado usando um microscópio óptico equipado com epifluorescência (Zeiss, Stemi 305). Para os nematoides, os MP foram quantificados separadamente para três regiões do corpo: anterior (cavidade oral até o final da faringe), mediana (extremidade da faringe até o ovário ou testículo posterior) e posterior (final do ovário ou testículo posterior até o ânus).

Análise de dados

O efeito de diferentes concentrações de MP na composição taxonômica das comunidades da meiofauna foi analisado usando uma análise de escalonamento multidimensional não métrica (nMDS) em dados de densidade transformados na quarta raiz (para reduzir diferenças entre táxons abundantes e raros (CLARKE; GORLEY, 2006), a matriz de similaridade foi calculada através do índice de Bray-Curtis. Para identificar os táxons responsáveis pela (dis)similaridade entre e dentro dos tratamentos, foi realizada uma análise percentual de similaridade (SIMPER). Efeitos dos microplásticos e do tempo de incubação na abundância e diversidade de táxons superiores da meiofauna, foi realizada uma análise de variância univariada. Para isso, os dados de densidade foram transformados em quarta raiz e a matriz de similaridade foi construída utilizando a Distância Euclidiana. Os índices de diversidade utilizados foram riqueza, equitabilidade (J de Pielou) e diversidade (H' de Shannon-Wiener). Realizamos uma Análise de Variância Permutacional Multivariada bidirecional (Permanova) para estabelecer a significância das tendências detectadas observadas nas análises nMDS e SIMPER, e para compreender as diferenças significativas entre a abundância e índices de diversidades (ANDERSON, 2008). Além disso, a Análise Permutacional de Dispersão Multivariada (PERMDISP) foi aplicada para testar a homogeneidade dos dados. Para examinar a ingestão de partículas em cada região do corpo (conforme indicado acima)

do nematoide, considerando o tempo e os fatores de tratamento, os dados brutos das partículas ingeridas foram utilizados para gerar um gráfico de tonalidade. Neste gráfico de tonalidades, cada mancha corresponde à quantidade de partículas ingeridas. Análises univariadas e multivariadas, gráficos de sombras e escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) foram realizados usando o software PRIMER 7.1 com complemento PERMANOVA. Dados de meiofauna total e densidade de nematoides, índices de diversidade e dados de ingestão de meiofauna foram representados graficamente usando o software Sigmaplot 12.5.

3.3 Resultados

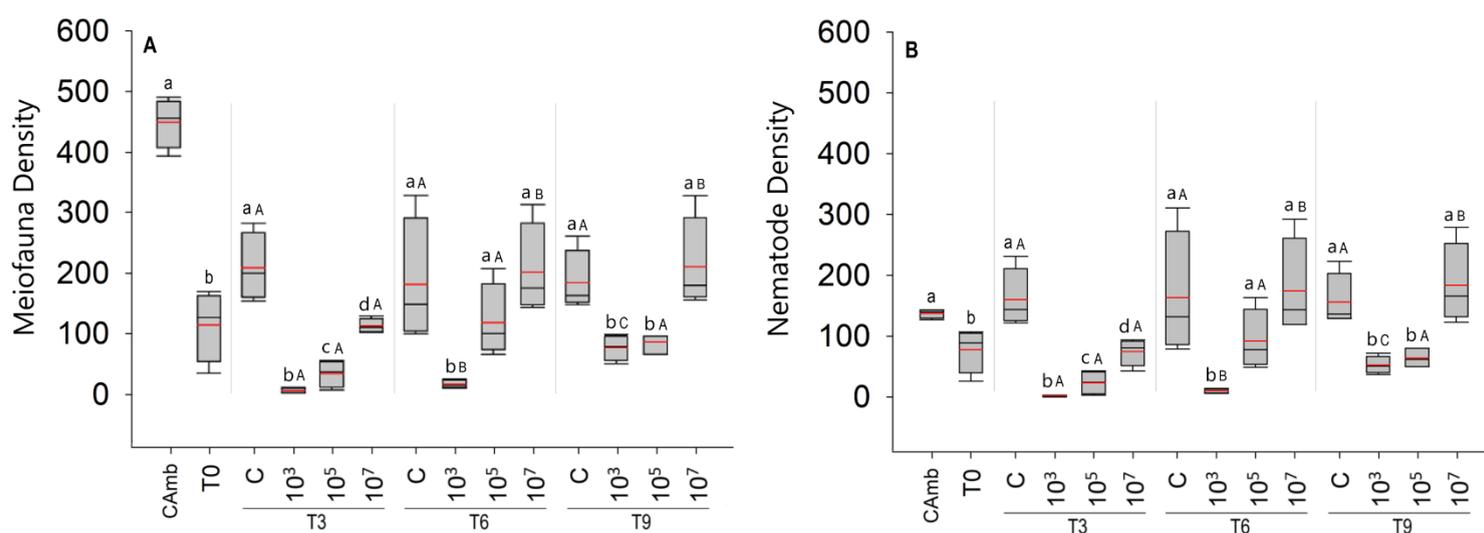
3.3.1 Efeito da curta exposição a diferentes concentrações de microplásticos na comunidade da meiofauna

Densidade total da meiofauna

Embora as abundâncias da meiofauna no T0 tenham sido significativamente menores que no campo (Camb) (Pseudo-F= 43,134; $p=0,0009$), a riqueza taxonômica não diferiu entre os dois (Pseudo-F= 4,6156; $p=0,0756$). Além disso, durante os 9 dias de incubação, a abundância da meiofauna não diferiu entre T0 e controles experimentais (Pseudo-F=1,6155; $p=0,2403$) (fig. 1A).

A densidade total da meiofauna (Fig. 1A) diferiu significativamente ao longo do tempo (Pseudo-F=22,91; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,0187$), tratamento (Pseudo-F= 41,57; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,0537$) e tempo versus tratamento. (Pseudo-F= 7,67; $p<0,0003$). O tratamento com baixa concentração de partículas (10^3 part./mL) apresentou densidade de meiofauna significativamente menor que o tratamento com alta concentração ($p<0,0004$). As diferenças entre os tratamentos foram mais pronunciadas após 3 dias de incubação, quando todos os tratamentos MP diferiram significativamente entre si e do controle (Fig. 1A). A partir de 6 dias, o tratamento com MP alto não diferiu mais do controle, enquanto o tratamento com MP médio se assemelhava alternadamente ao controle ou ao tratamento com MP baixo (Fig. 1A). Este último exibiu consistentemente as menores abundâncias de meiofauna, que foram sempre significativamente menores que o tratamento com MP elevado e o controle (Fig. 1A). Com exceção do controle de campo, tanto o T0 quanto todos os tratamentos foram consistentemente dominados por Nematoda (Fig. 1B), portanto os mesmos padrões e tendências de abundância apareceram na meiofauna total e nos nematoides.

Figura 1: Média da densidade total da meiofauna (A) e nematoides (B) em ind/10 cm² (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Controle após a estabilização (T0), coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras minúsculas diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental, enquanto as maiúsculas representam a diferença ao longo do tempo. Concentrações em partículas/mL.



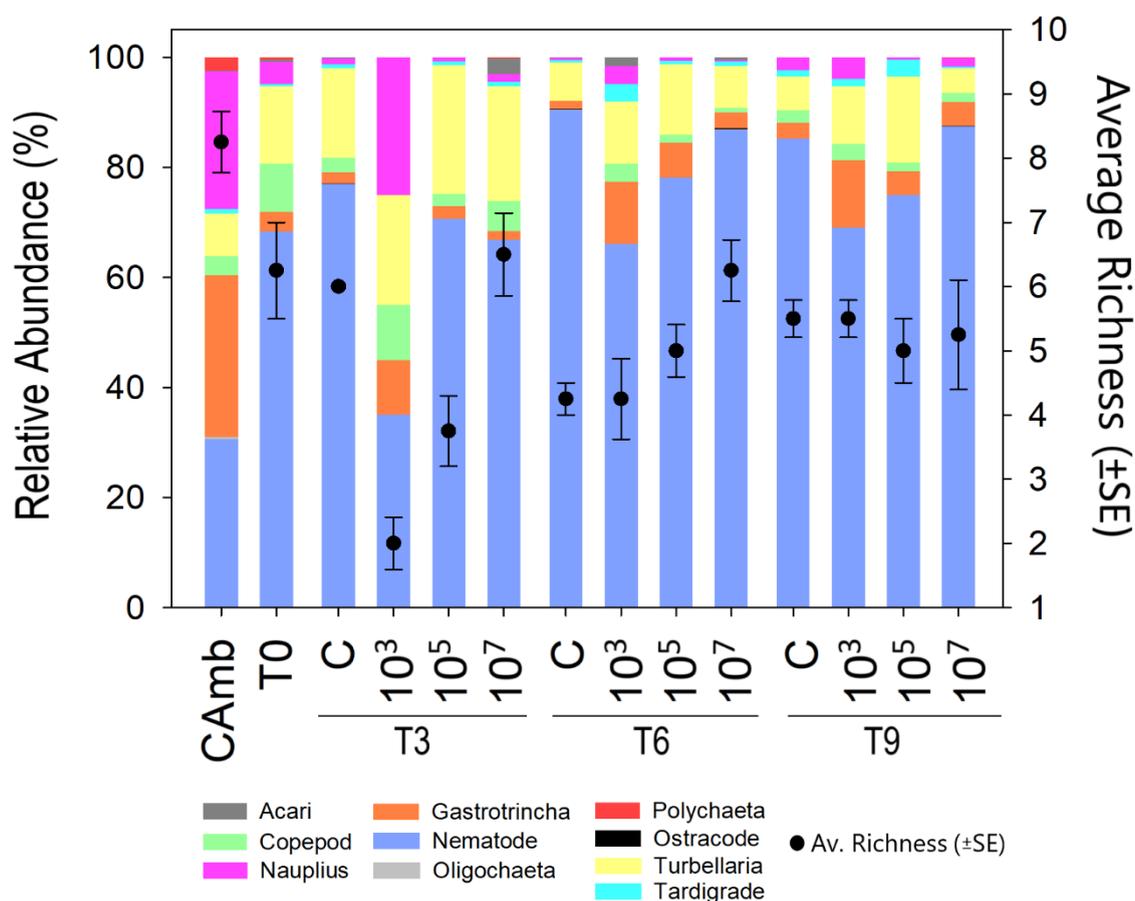
Ao longo do tempo, os controles experimentais não apresentaram diferença na densidade da meiofauna ($p < 0,2852$). O tratamento com menor concentração de MP (10³ part./mL), apesar das densidades menores em relação aos demais tratamentos, à medida que aumenta o tempo de incubação, a densidade da meiofauna também aumenta ($p < 0,0348$). A concentração média de partículas (10⁵ part./mL), conforme observada para os controles, não apresenta variação de densidade ao longo do tempo ($p < 0,9168$), porém na maior concentração de MP (10⁷ part./mL), após três dias de incubação a densidade é significativamente menor, mas aumenta após seis dias de incubação ($p < 0,0458$) (Fig. 1A). O mesmo padrão observado para a densidade total da meiofauna foi observado para a densidade de nematoides, dada a predominância deste táxon em todos os tratamentos (Fig. 1B).

Estrutura da comunidade e diversidade

A riqueza da meiofauna em níveis taxonômicos mais elevados diferiu entre tratamentos (Pseudo-F=8,43; $p = 0,0024$; PERMDISP: $p = 0,026$) e tempo versus

tratamento (Pseudo-F= 9,47; $p=0,0001$). O tempo sozinho apresentou um efeito limítrofe significativo (Pseudo-F= 3,3849; $p=0,0531$; PERMDISP: $p=0,0003$). No T3, as concentrações baixa e média de MP apresentaram riqueza menor que o controle devido ao desaparecimento de Ostracode, Acari (ambos $p < 0,0059$), além de Tardigrade na menor concentração. No T6, a alta concentração de MP apresentou maior riqueza que o controle ($p=0,0063$) devido à presença de Ostracode, Oligochaeta e Polychaeta. Finalmente, no T9, a riqueza não diferiu significativamente entre os tratamentos. Isto não se deveu a uma diminuição na riqueza em um ou mais tratamentos, mas a uma riqueza maior do que nos primeiros dias de amostragem nos tratamentos baixo e médio (Fig. 2). Isto indica que a menor riqueza após 3 e 6 dias nestes dois tratamentos foi provavelmente uma consequência da subamostragem devido à baixa abundância da meiofauna.

Figura 2: Uma barra multicolorida representa a abundância relativa (%) dos táxons da meiofauna no eixo Y esquerdo, enquanto os pontos com barras representam a riqueza dos táxons no eixo Y direito. Controle de campo (Camb), controle após estabilização (T0), coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao MP. Concentrações em partículas/mL.

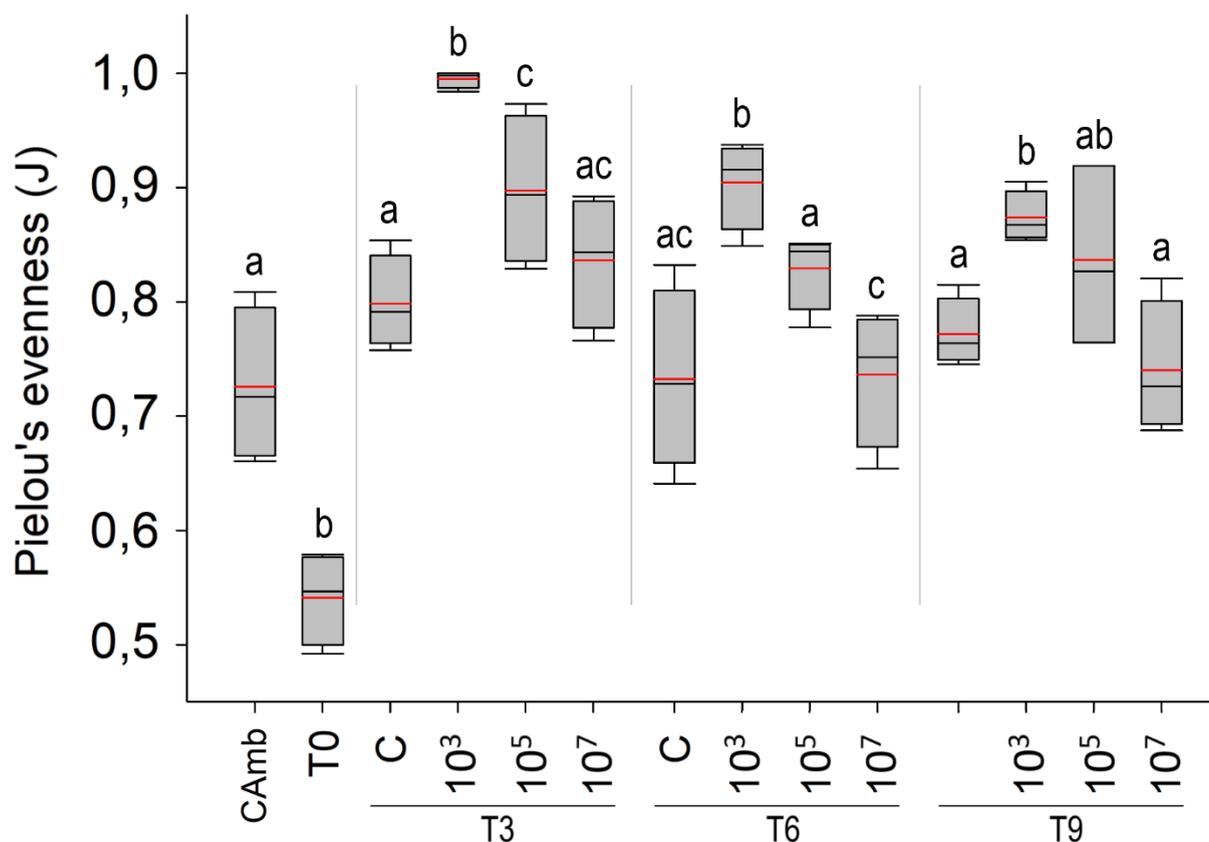


A equitabilidade dos táxons da meiofauna diferiu entre tempo (Pseudo-F=12,709; $p=0,0003$; PERMDISP: $p=0,5215$) e tratamentos (Pseudo-F=23,048; $p=0,0001$;

PERMDISP: $p=0,9119$), mas não em função da interação tempo vs tratamento (Pseudo-F=0,77457; $p=0,5953$). A maior equitabilidade ocorreu após 3 dias ($p < 0,004$) (Fig. 3), após o qual diminuiu como resultado da forte dominância de um único táxon (Nematoda).

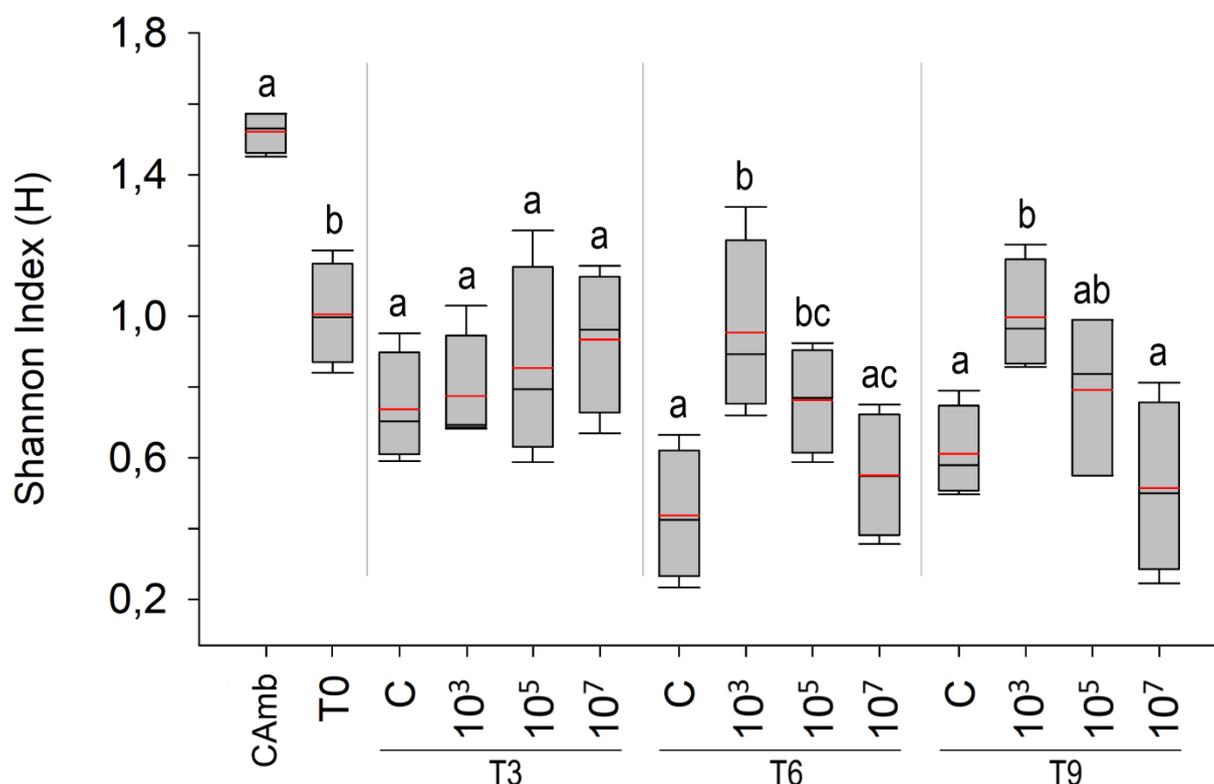
Ao longo dos tempos, mas mais pronunciado em T3, o tratamento com baixo MP teve uma comunidade de meiofauna mais uniforme do que o controle e outras concentrações (todas $p < 0,0083$), apesar de sua abundância de meiofauna comparativamente menor. A elevada uniformidade no tratamento com menor concentração de MP (10^3 part./mL) em todos os momentos, mas mais pronunciada após três dias de incubação, pode estar ligada ao fato de que apesar da perda de riqueza (Ostracode, Acari, Tardigrade) e menor densidade da meiofauna, os táxons presentes apresentam distribuição semelhante dentro da comunidade. Em três dias de incubação, embora o nematoide seja o dominante na comunidade, com maior abundância relativa (35%), os demais grupos presentes, Gastrotricha e Copepode (10%), Turbellaria e Naupli (20% e 25% respectivamente) têm uma representação substancialmente mais próxima. Quando observamos o tratamento com mais partículas de MP (10^7 part./mL), táxons raros (Tardigrade, Ostracode, Oligochaeta, Polychaeta, Acari), que já possuem densidade naturalmente menor, permanecem neste tratamento ao longo do tempo. Além disso, observamos que a abundância relativa de Nematoda já ultrapassa (66%). Portanto, além do fato da dominância de nematoides, a presença de táxons raros no tratamento de maior concentração (10^7 part./mL) provavelmente implica na menor equivalência observada aqui.

Figura 3: Média do índice de Pielou (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em partículas/mL.



Apenas o fator tratamento afetou significativamente a diversidade de Shannon (H') (Fig. 4) (Pseudo- $F=5,9956$; $p=0,012$; PERMDISP: $p=0,3243$). O H' foi maior nas duas concentrações mais baixas de MP ($p<0,0364$). Nas comparações pareadas tanto no T6 quanto no T9, o tratamento com menor concentração (10^3 partes/mL) apresentou maior índice H' em relação ao controle e aos demais tratamentos ($p<0,0374$).

Figura 4: Média do índice de diversidade de Shannon (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Coleta após 3 (T3), 6 (T6) e 9 (T9) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em partículas/mL.

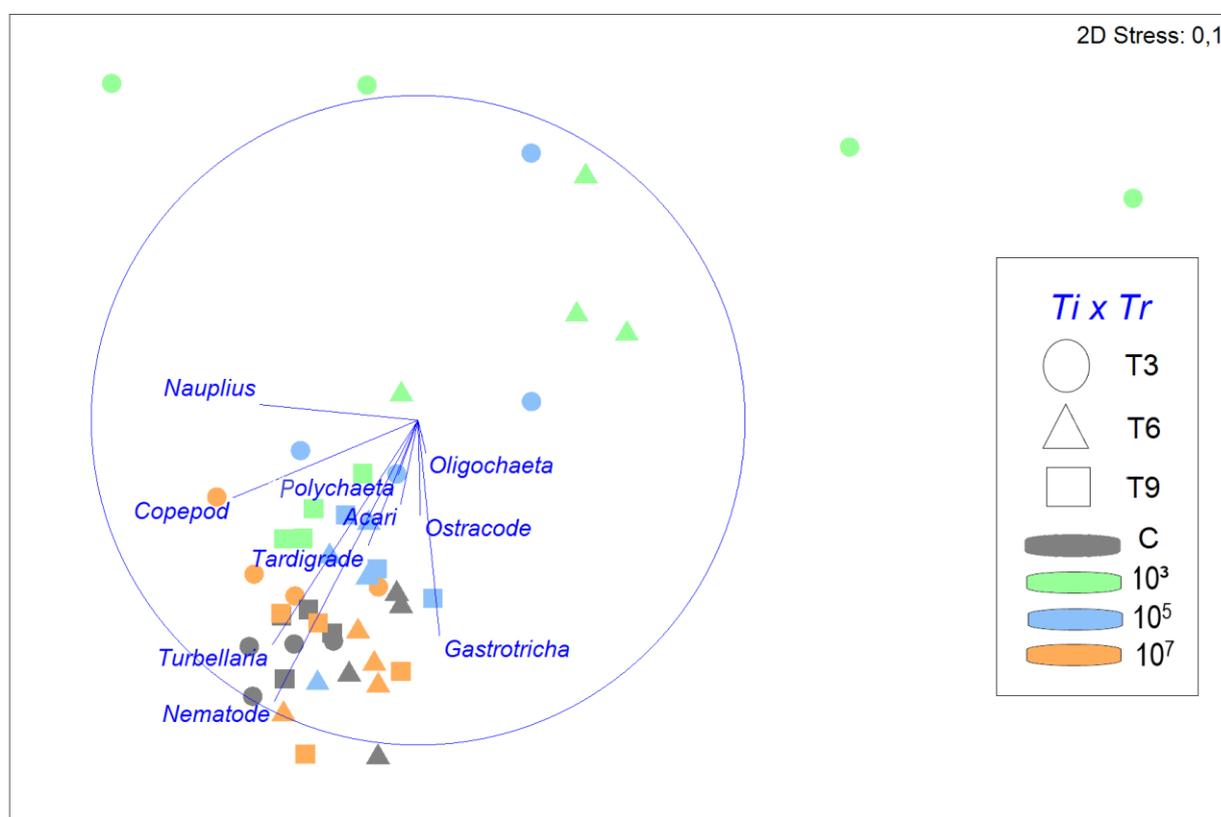


A estrutura da comunidade da meiofauna (Fig. 5) diferiu significativamente ao longo do tempo (Pseudo-F = 4,5979; $p = 0,0001$; PERMDISP: $p = 0,0018$), tratamento (Pseudo-F = 4,0359; $p = 0,0003$; PERMDISP: $p = 0,0004$) e tempo vs tratamento (Pseudo-F=2,1867; $p=0,0062$). No tratamento com concentração de 10^7 part./mL, a estrutura da comunidade da meiofauna não foi significativamente diferente daquela do controle ao longo do experimento ($p=0,6975$). Por outro lado, o tratamento com MP baixo tinha uma estrutura comunitária significativamente diferente do tratamento controle ($p<0,0499$) e do tratamento alto, enquanto a posição do tratamento com MP médio era intermediária: lembra mais o tratamento baixo após 3 dias, e o controle e alto tratamento a partir de T6. Em geral, com o tempo, a dissimilaridade entre os tratamentos diminuiu.

Os vetores de correlação de Pearson (Fig. 5) demonstram alta correlação de abundância, principalmente de Nematoda, Turbellaria, Gastrotricha e Tardígradas, com 10^7 part./mL e C em todos os tempos de exposição. Também é notável que 10^3 part./mL em T3 e T6 possuem vetores de Pearson opostos à fauna, provavelmente devido à baixa densidade e riqueza da meiofauna nesta concentração, demonstrando uma correlação negativa entre abundância e riqueza quando comparadas com amostras com 10^7 part./mL e controles. Apesar de uma maior semelhança da fauna entre 10^5 , 10^7 part./mL e C, ainda é perceptível que se forma um gradiente, em que 10^7 part./mL e C são os mais

semelhantes, seguidos de 10^5 part./mL, e por fim, 10^3 part./mL, que apresenta uma estrutura da comunidade da meiofauna menos semelhante a todas as outras.

Figura 5: Escala multidimensional não métrica (nMDS) da composição da comunidade da meiofauna em quatro tratamentos diferentes (C, 10^3 , 10^5 , 10^7 part./mL) em três tempos de incubação (T3, T6 e T9). O nMDS é baseado nas densidades dos táxons da meiofauna (transformadas na quarta raiz) e usando a similaridade de Bray-Curtis. Os vetores mostrados são vetores de correlação para os diferentes táxons da meiofauna, onde o tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson.



O teste de similaridade (SIMPER) demonstrou que C foi o tratamento com maior similaridade entre as repetições com 79,2%, seguido de 10^7 part./mL (76,0%), 10^5 part./mL (75,7%) e 10^3 part./mL (53,9%). Nematoda foi o táxon que mais contribuiu para a similaridade da fauna, tendo sua contribuição diminuído com o aumento da concentração de microplásticos, tendo contribuído com 39,8% para 10^7 part./mL e 41,4% para 10^3 part./mL. O segundo táxon que mais contribuiu para a similaridade foi Turbellaria em todas as concentrações de MP, exceto 10^3 part./mL, onde o segundo maior contribuinte foi Gastrotricha com 26,6%.

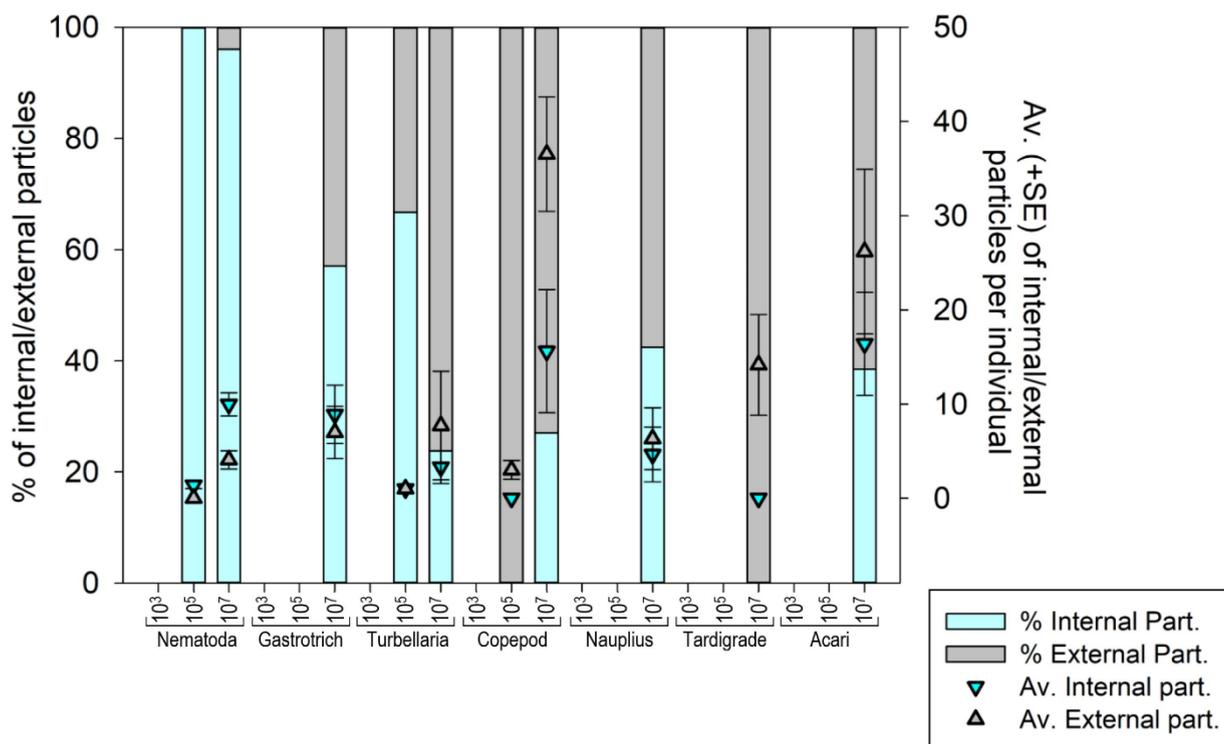
As maiores dissimilaridades entre os tratamentos foram observadas entre 10^3 e

10^7 part./mL com 43,2%, seguidas pelos tratamentos C e 10^3 part./mL, representando 42,0%. Em ambos os tratamentos, Nematoda e Turbellaria foram os principais contribuintes para a dissimilaridade. As dissimilaridades entre C e as concentrações médias e altas de MP (10^5 e 10^7 part./mL) não ultrapassaram 26%. Nematoda e Copépoda foram os táxons que mais contribuíram para a dissimilaridade entre C e 10^5 part./mL (39,7%), enquanto entre C e 10^7 part./mL Nauplius e Copepod foram os dois grupos que mais contribuíram para a dissimilaridade (33,8%).

3.3.2 Ingestão de partículas de microplásticos pelo meiofauna

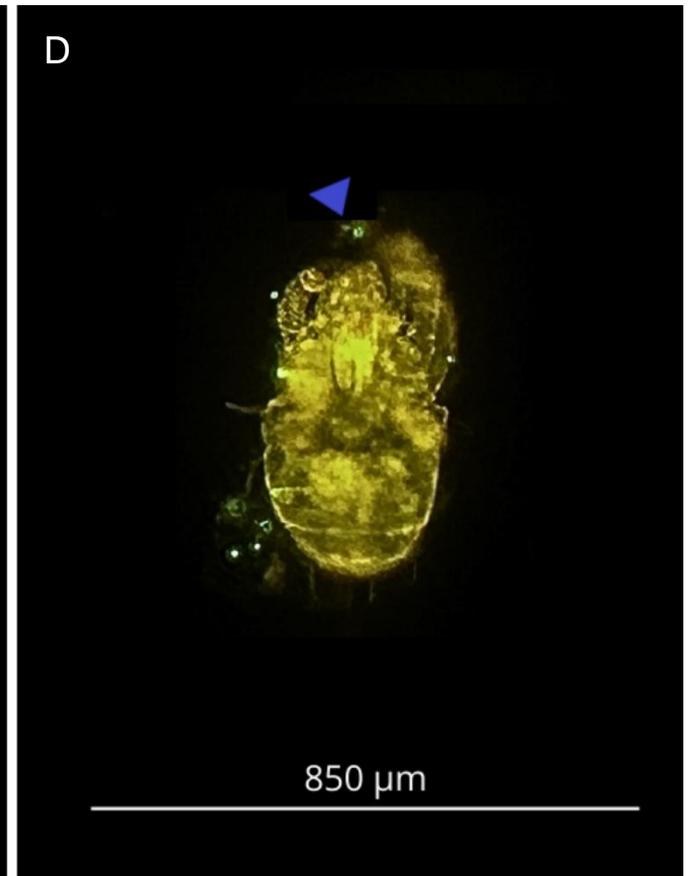
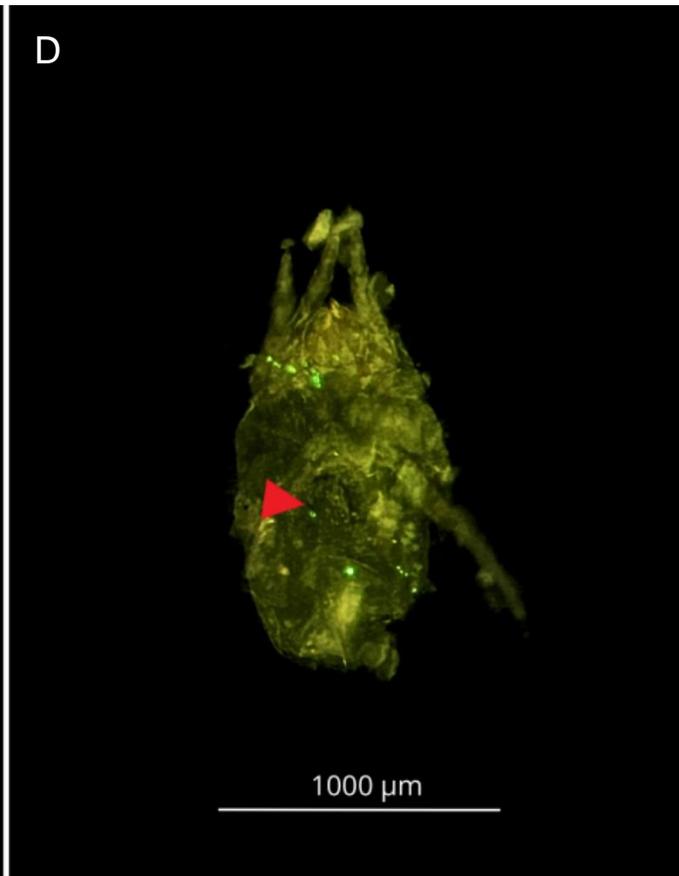
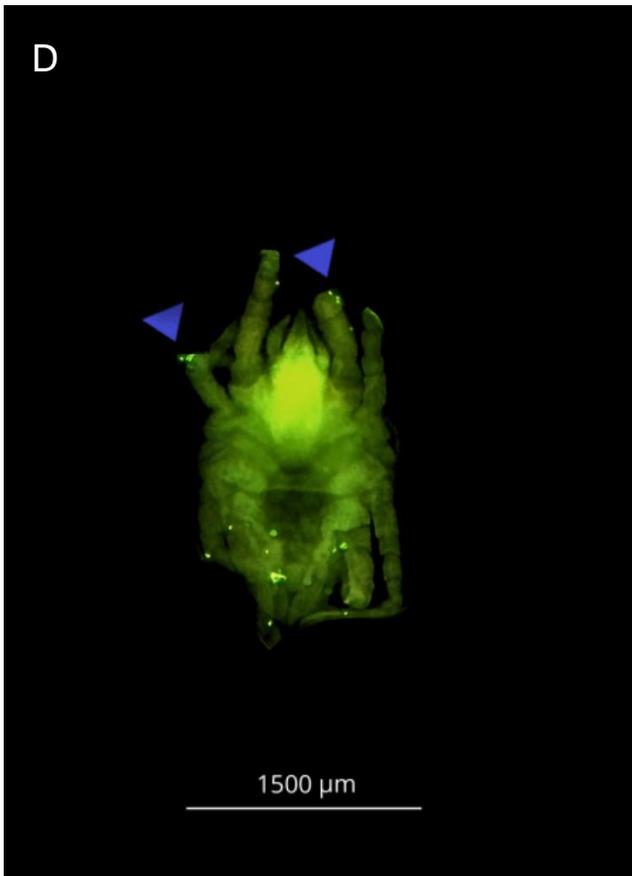
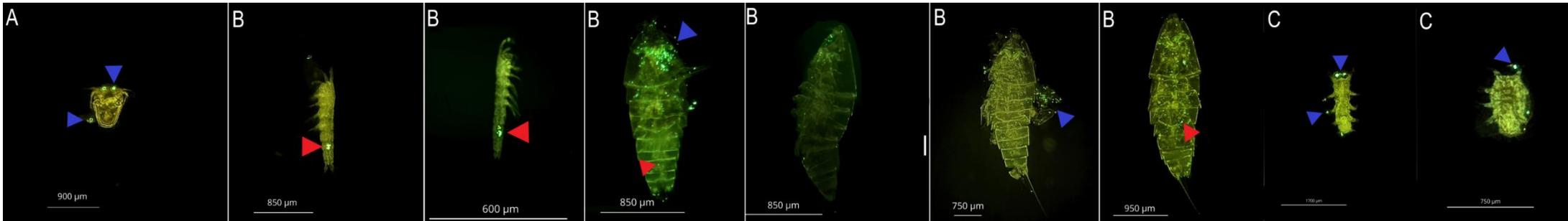
Sete grupos de meiofauna, incluindo os filos Nematoda, Tardigrada e Gastrotricha, a classe de platelmintos Turbellaria, a classe de artrópodes Copepoda e 'clado' Acari, e larvas de crustáceos (Nauplii), foram avaliados quanto à absorção interna (ingestão) e externa de microplásticos (Figura 6). Na baixa concentração de MP (10^3 part./mL), não ocorreu ingestão e partículas microplásticas também não foram detectadas externamente. Na concentração média (10^5 part./mL), apenas Nematoda e Turbellaria exibiram ingestão de microplásticos, embora em níveis muito baixos (em média 1,4 e 1,0 partículas por indivíduo, respectivamente). Copepoda nesta concentração de MP não apresentou ingestão, mas carregou em média 3 partículas externas por indivíduo (SE \pm 1,0). A maior ingestão ocorreu na concentração elevada de MP (10^7 part./mL), onde todos os grupos da meiofauna ingeriram microplásticos, exceto Tardigrada, que apresentou apenas contaminação externa (em média 14,1 partes/ind. (SE \pm 5,33) (Figura 7A-E). Acari (16,4) \pm 5,47 partículas por indivíduo) e Copepoda (15,6 \pm 6,53 partículas por indivíduo) exibiram a maior ingestão de partículas, seguido por Nematoda (9,9 \pm 1,24 partículas por indivíduo). É importante observar que o tamanho da amostra para Acari e Copepoda foi relativamente baixo.

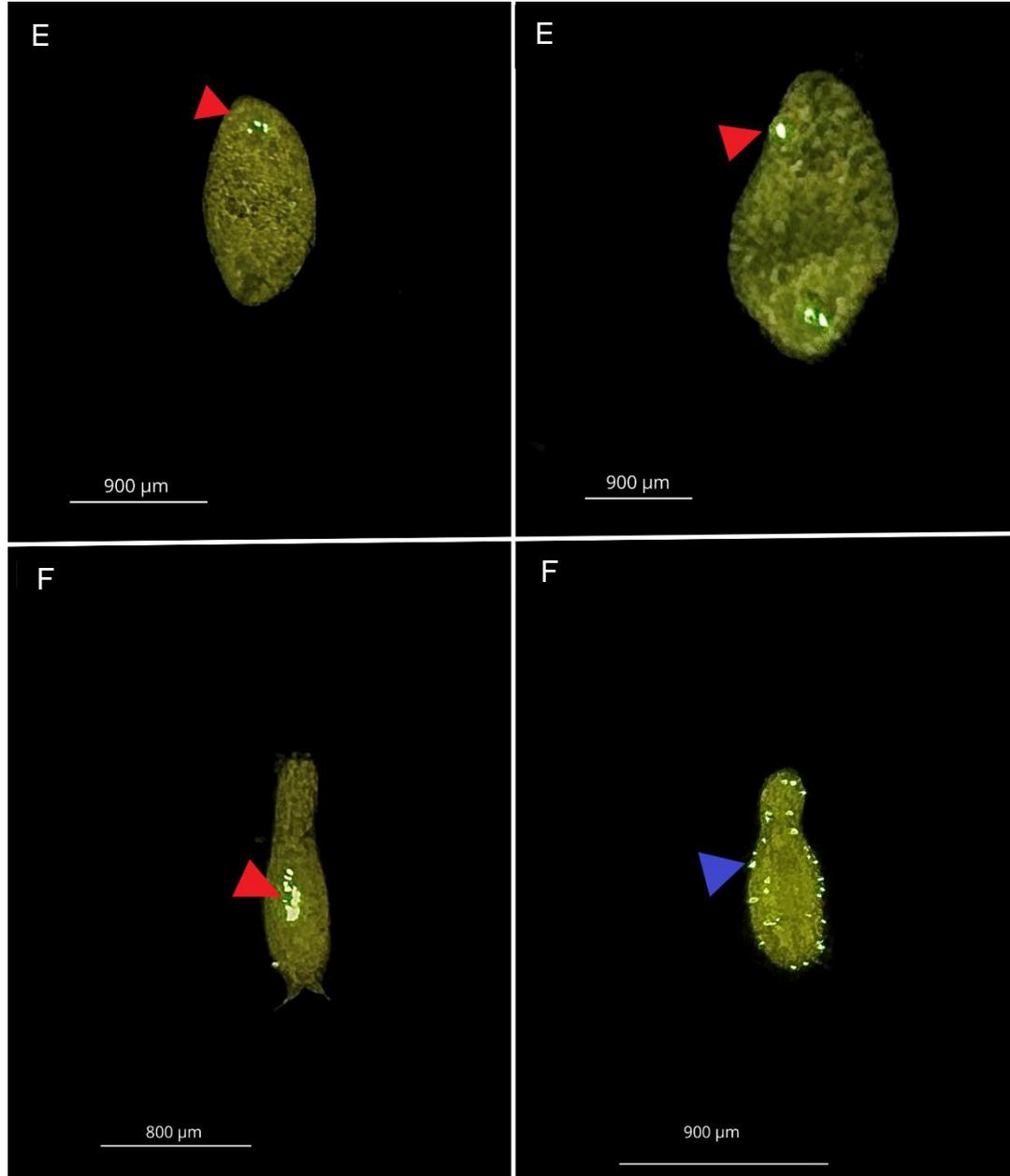
Figura 6: Contaminação interna (ingestão) e externa por partículas microplásticas em diversas concentrações. O eixo Y esquerdo representa a porcentagem de partículas internas e externas por indivíduo, enquanto o eixo Y direito ilustra a contagem média (\pm SE) de partículas internas e externas por indivíduo para cada grupo de meiofauna avaliado em cada concentração testada. Concentrações de MP em partículas/mL.



A contaminação interna e externa dos grupos de meiofauna não diferiu entre os tempos de exposição (Pseudo-F = 1,1765; $p = 0,3841$), mas apresentou diferença significativa causada pelo tratamento (Pseudo-F = 5,0052; $p = 0,0206$). Em baixa concentração de MP, não foi observada contaminação interna nem externa em nenhum grupo da meiofauna. Na concentração média, 0,98% dos Nematoda e 2,5% dos Turbellaria ingeriram microplásticos. 2,5% dos turbelários e 25% dos copépodes foram contaminados externamente (Fig. 7B). Em alta concentração de MP, foi observada contaminação interna e externa significativamente maior em comparação aos demais tratamentos ($p < 0,0399$). Mais de 50% dos nematoides ingeriram microplásticos, seguidos por Naupli (44,4%) e Gastrotricha (38,7%) (Fig. 7B). Copepoda e Turbellaria tiveram mais indivíduos contaminados externamente (36,5% e 27,8%, respectivamente) do que contaminados internamente (31,7% e 20,2%, respectivamente). Acari teve igual número de contaminados interna e externamente (35,7%). Tardigrada não apresentou ingestão de microplásticos, mas 54% dos indivíduos apresentaram presença de partículas externas, principalmente nos apêndices locomotores (Fig.7C).

Figura 7: Contaminação interna (ingestão-triângulo vermelho) e externa (triângulo azul) por microplástico PS de 1 μ m na concentração de 10⁷ part./mL. na meiofauna marinha. Nauplii (A) Copepoda (B) Tardigrade (C) Acari (D) Turbellaria (E) Gastrotricha (F).





Na concentração média de MP, as partículas foram observadas apenas na região medial do corpo, especificamente no intestino. Por outro lado, na concentração mais alta, os MP foram observados desde a cavidade oral até o final do intestino (Fig. 9), com aumento à medida que a duração experimental avançava (Fig.8).

Figura 8: Quantidade total de partículas internas em Nematoda por região corporal (faríngea, intestino médio e intestino posterior), tratamento e tempo de exposição. A cor da escala de 0 a 1000 representa a quantidade de partículas ingeridas. Cada cor representa a concentração em part./mL.

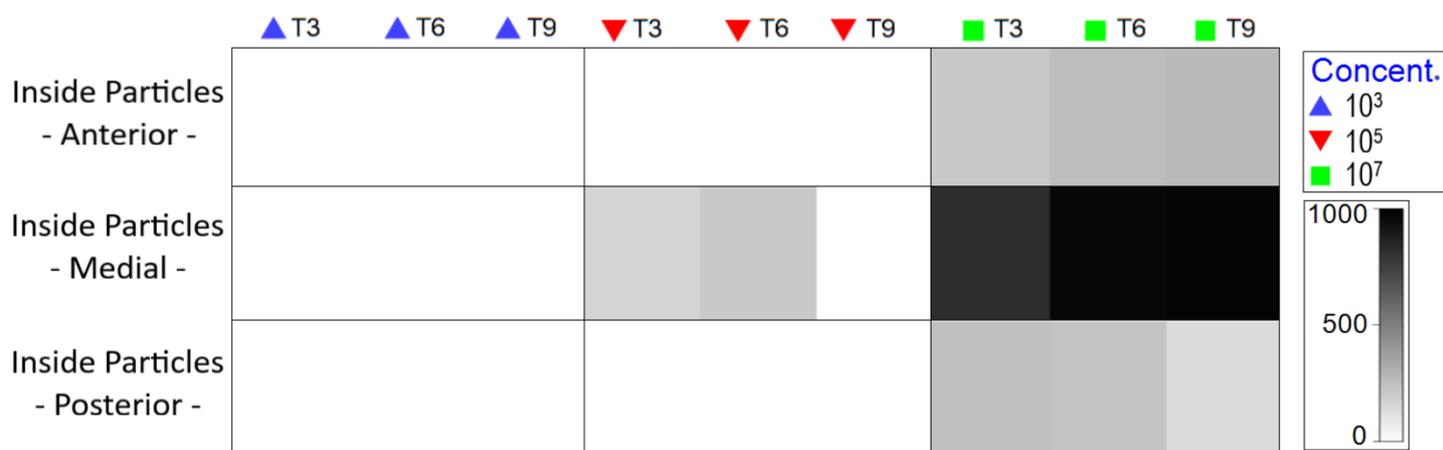
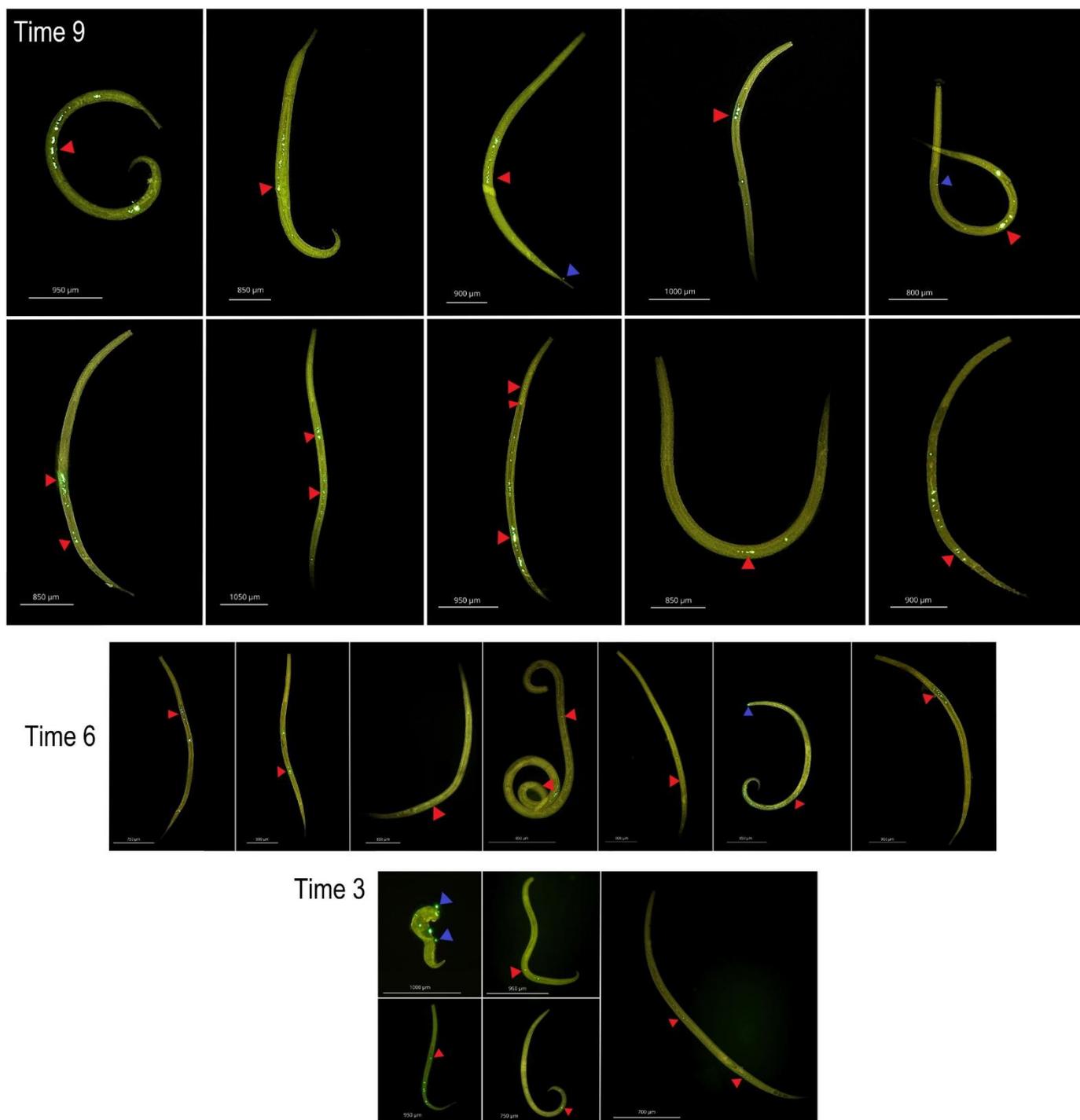


Figura 9: Contaminação interna (triângulo vermelho-ingestão) e externa (triângulo azul) em Nematoda ao longo do tempo a uma concentração de 10^7 part./mL. Três dias após a exposição ao microplástico (Tempo 3), seis dias após a exposição ao microplástico (Tempo 6) e nove dias após a exposição ao microplástico (Tempo 9).



3.4 Discussão

3.4.1 Ingestão de microplásticos por diferentes táxons da meiofauna

Todos os grupos da meiofauna examinados aqui, exceto Tardigrada, exibiram capacidade de ingerir microplásticos. Até onde sabemos, este estudo marca assim a primeira documentação da ingestão de microplásticos em Turbellaria e Gastrotricha. Os turbelários podem atacar nematoides, copépodes e até mesmo indivíduos do mesmo grupo taxonômico (GIERE, O, 2009). É, portanto, plausível que pelo menos parte do MP

ingerido seja proveniente das suas presas, indicando que os microplásticos podem de fato atravessar a cadeia trófica (COSTA, E. *et al.*, 2020a). Por outro lado, os Gastrotricha são micrófagos, alimentando-se principalmente de bactérias e protozoários (GIERE, O, 2009). É plausível que Gastrotricha tenha ingerido acidentalmente microplásticos de tamanho e formato semelhantes. Além disso, a presença de microrganismos crescendo na superfície dos microplásticos (AMELIA *et al.*, 2021; HAEGERBAEUMER *et al.*, 2019) pode ter contribuído para esta ingestão de MP (FABRA *et al.*, 2021; MURANO *et al.*, 2021). A ausência de ingestão de MP pelos Tardigrada provavelmente está ligada à estrutura do seu aparelho de alimentação, que inclui um tubo bucal com um estilete usado para perfurar e sugar, em vez de ingerir presas, sejam elas bactérias, fungos ou invertebrados (GUIDETTI *et al.*, 2012). No entanto, 54% dos tardígradas neste estudo tinham partículas aderidas aos seus corpos.

Os copépodes, juntamente com os nematoides, são os grupos da meiofauna que foram mais extensivamente examinados quanto aos efeitos dos microplásticos (LI, Zhaochuan; ZHOU, H.; *et al.*, 2020; SUN, J. *et al.*, 2021; YANG, K. *et al.*, 2022). Apesar de alguns estudos monoespecíficos com copépodes bentônicos relatarem ingestão substancial de MP (QUANBIN *et al.*, 2020; XIE, Dongmei *et al.*, 2022), e até mesmo uma preferência por MP em vez de alimentos (LEE, K.-W. *et al.*, 2013), a ingestão neste estudo foi limitada, ocorrendo apenas na concentração mais alta, em parte de acordo com outros estudos (Di Lorenzo *et al.*, 2023; Fueser *et al.*, 2020) que relataram os copépodes como o táxon meiobêntico com a menor ingestão. Ao mesmo tempo, no entanto, aproximadamente 25% dos copépodes do nosso estudo tinham partículas fixadas nos seus apêndices locomotores, um fenômeno também observado em copépodes marinhos (QUANBIN *et al.*, 2020). A presença de MP nos apêndices pode perturbar a sua locomoção, por exemplo através da redução da velocidade de natação (SUWAKI; DE-LA-CRUZ; LOPES, R. M., 2020).

Os nematoides exibiram a segunda ou terceira maior ingestão de MP, dependendo da concentração de MP. Com exceção dos nematoides que se alimentam com estilete (ausente no bentos marinho), os nematoides podem ingerir partículas grandes o suficiente para desencadear uma resposta alimentar. Muitos bacterívoros, por exemplo, podem ingerir partículas maiores que 0,5 μm , mas com um limite de 6 μm (FUESER, Hendrik *et al.*, 2019), enquanto nematoides com outras estratégias de alimentação também podem ingerir partículas consideravelmente maiores (MOENS *et al.*, 2014). Essas partículas se acumulam principalmente na faringe e no intestino dos nematoides (Fueser *et al.*, 2022, 2019; Huang *et al.*, 2023; este estudo). O número de partículas nos intestinos dos nematoides tende a aumentar ao longo do tempo de exposição (Quanbin

et al., 2020; Shang et al., 2020; Zhang et al., 2019; este estudo), embora de forma limitada. Observe que nossos resultados de ingestão são conservadores porque a elutriação e a preservação da meiofauna viva dos sedimentos podem desencadear a ingestão e/ou defecação, embora tenhamos adotado um protocolo projetado para limitar tais efeitos (MOENS; VERBEECK; VINCX, 1999).

A ingestão de MP foi mais pronunciada na concentração mais alta de MP, como esperado, mínima na concentração média e inexistente na concentração baixa. Com uma ingestão individual média de < 20 part./ind. na alta concentração de MP, e sob a suposição de que os MP não são preferencialmente selecionados e ingeridos, pode-se teoricamente esperar $< 0,2$ part./ind. na concentração média de partículas e até 100 vezes menos na concentração baixa. Isso está praticamente alinhado com nossos resultados, então a ingestão seguiu um padrão lógico dependente da densidade das partículas (FUESER, Hendrik *et al.*, 2019; FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020a; XIE, Dongmei *et al.*, 2022).

3.4.2 Efeitos do microplástico na abundância da meiofauna

Nossos resultados exibem uma “dicotomia” contra-intuitiva nos efeitos na abundância da meiofauna, por um lado, e na ingestão de partículas, por outro. O impacto da concentração de partículas na densidade da meiofauna, no entanto, exibiu um padrão muito menos esperado: foi mais pronunciado na concentração mais baixa de MP, intermediário na concentração média e (quase) ausente na concentração alta. Estas observações alinham-se com descobertas anteriores sobre a biomassa e abundância da meiofauna (WAKKAF *et al.*, 2020), no qual menores concentrações foram mais danosas em detrimento das concentrações maiores. Isto, juntamente com os resultados da ingestão, sugere que o que mais impactou a meiofauna possivelmente não foi uma “poluição” imediata por microplásticos. Caso contrário, na concentração mais elevada de MP, também teria havido reduções significativas na densidade. Isto vai contra estudos anteriores que relataram diminuição da densidade da meiofauna na presença de concentrações aumentadas de microplásticos (ALLOUCHE *et al.*, 2022; ALLOUCHE; ISHAK; *et al.*, 2021; HEDFI *et al.*, 2022). De qualquer forma, aqui observamos um padrão diferente, mas é importante notar que os polímeros plásticos utilizados nesses estudos e tamanhos também são diferentes do polímero e do tamanho aqui investigados. Embora o nosso desenho experimental não permita identificar o mecanismo subjacente, sugerimos que os microplásticos podem ter induzido uma resposta de evitação, resultando na contração do nicho e subsequente exaustão metabólica (BUCK;

WEINSTEIN; YOUNG, 2018; WEIHS; WEBB, 1984). A 10^7 part./mL, a meiofauna não teve como evitar o MP devido às suas altas concentrações. Consequentemente, os animais ingeriram inevitavelmente MP, bem como partículas orgânicas e microrganismos aderidos à sua superfície, ou seja, a chamada plastisfera (AMELIA *et al.*, 2021; HAEGERBAEUMER *et al.*, 2019). Estas partículas alimentares associadas ao MP podem ter melhorado a absorção alimentar (GAGO *et al.*, 2020; LU, Yifeng *et al.*, 2016; QI *et al.*, 2020; SHEN *et al.*, 2019) e podem, desta forma, ter neutralizado qualquer curto-circuito de efeitos negativos a longo prazo do MP na meiofauna. Notavelmente, em Nematoda, observou-se que a exposição a microplásticos eleva a taxa de bombeamento faríngeo (FUESER, Hendrik *et al.*, 2021), e este efeito é mais pronunciado após a exposição a partículas de PS de 1 μm do que quando essas partículas de PS são substituídas por células bacterianas adicionais (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020b; RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2021). É certo que esta não é a explicação mais parcimoniosa para a falta de diferença nas abundâncias da meiofauna entre os controlos e o tratamento com elevado teor de partículas, sendo a explicação mais simples que MP simplesmente não tem efeitos negativos sobre a meiofauna.

3.4.3 Efeitos dos microplásticos na diversidade e composição da comunidade da meiofauna

A poluição antropogênica normalmente causa uma diminuição na diversidade taxonômica das comunidades faunísticas, de forma consistente para diferentes aspectos da diversidade, como riqueza e equitabilidade (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022; MONTEIRO *et al.*, 2019; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022). No presente estudo, porém, a riqueza, por um lado, e a equitabilidade e a diversidade de Shannon-Wiener, por outro, comportaram-se de forma oposta. A riqueza taxonômica comportou-se de forma semelhante à abundância, com valores menores em baixas e médias concentrações de MP. Curiosamente, no entanto, a riqueza nestes tratamentos recuperou-se ao nível dos controlos no final da experiência. Isto sugere fortemente que subestimamos a riqueza destes tratamentos na primeira amostragem. Isto pode ser o resultado da abundância muito baixa da meiofauna nos dois primeiros tempos, levando a diferentes combinações de táxons representadas em diferentes réplicas, o que por sua vez pode estar relacionado com as explicações discutidas em acima. A equitabilidade e a diversidade de Shannon-Wiener, por outro lado, foram maiores na baixa concentração de MP. É necessária cautela na interpretação destes resultados, porque os tratamentos de baixa e média concentração foram caracterizados por abundâncias muito baixas de organismos, o que pode ter distorcido os cálculos de diversidade e equitabilidade. Por outro lado, poder-se-

ia esperar grandes variações em torno da média, o que não foi o caso. De qualquer forma, os diferentes índices de diversidade não apresentaram padrões típicos observados para comunidades expostas a impactos antrópicos.

A queda na riqueza taxonômica na concentração baixa e média de MP no T3 foi parcialmente explicada pela ausência consistente de Ostracoda e Acari em todas as repetições. Embora uma queda semelhante na riqueza taxonômica também tenha sido observada por (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022) após uma incubação de 3 dias com MP, Ostracoda e Acari floresceram, enquanto outros como Tardigrada, Polychaeta e Oligochaeta desapareceram. Os Ostracoda são frequentemente considerados sensíveis a impactos antrópicos (PUSCEDDU *et al.*, 2007), o que pode explicar o seu desaparecimento em baixas concentrações de MP em nosso experimento. A Tardigrada, apesar de algumas vezes ser considerada sensível (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022; PUSCEDDU *et al.*, 2007), persistiu em todos os tratamentos deste estudo.

A resposta contra-intuitiva de uma resposta comunitária pronunciada (diminuição da abundância e da riqueza taxonômica) a uma pressão antropogênica baixa, em vez de alta, pode ser atribuída a uma resposta comportamental (teoria da evitação - ver acima), ou a uma resposta ecotoxicológica. Os nossos resultados podem potencialmente indicar uma resposta hormonal, onde os organismos expostos a níveis baixos ou intermédios de poluição se “preparam” para possíveis níveis de stress mais elevados. Isto é, no entanto, normalmente entendido como um efeito que ocorre a nível celular, individual ou populacional e implica um aumento em vez de uma diminuição do desempenho em níveis de stress baixos/intermédios (CALABRESE; BALDWIN, 2002). Recentemente, no entanto, o conceito de hormese também tem sido aplicado ao nível da comunidade ou do ecossistema (EROFEEVA, 2022). Uma possível resposta hormonal negativa já foi observada em nível populacional em nematoides expostos a concentrações baixas/intermediárias de MP (SHANG, X. *et al.*, 2020), enquanto o presente estudo acrescenta (WAKKAF *et al.*, 2020) ao mostrar respostas semelhantes em o nível da comunidade. Isso pode estar relacionado aos papéis que cada grupo da meiofauna desempenha dentro da comunidade e/ou à sua sensibilidade diferencial aos MP's (EROFEEVA, 2022).

3.4.4 Considerações metodológicas

Nosso esforço foi conduzir este estudo da maneira mais realista possível para compreender não apenas os efeitos dos microplásticos na abundância da meiofauna, mas também sua influência na estrutura e diversidade da comunidade da meiofauna. As

duas concentrações mais baixas utilizadas neste estudo têm profunda relevância ambiental, dada a sua prevalência em ecossistemas aquáticos (HARRIS, 2020; HOSEINI; BOND, 2022; PABORTSAVA; LAMPITT, 2020; SCHERER *et al.*, 2020). Embora existam alguns estudos sobre a meiofauna investigando essas concentrações de MP ou similares, eles se concentram predominantemente na ingestão de partículas (FUESER, Hendrik; MUELLER; TRAUNSPURGER, Walter, 2020a) e/ou na meiofauna de água doce (RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.*, 2022a). Até o momento, conhecemos apenas dois estudos que se concentraram nos efeitos da MP na meiofauna marinha. No entanto, um estudo examinou apenas uma única concentração de MP após um único tempo de incubação (72 h), durante o qual foram observados efeitos substanciais de riqueza nos tratamentos de controle (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022), permitindo assim apenas conclusões limitadas. O outro estudo concentrou-se principalmente na ingestão de MP em relação à interação entre bactérias e microplásticos (RIDALL; ASGARI; INGELS, 2023). Portanto, nosso estudo representa a primeira exploração da meiofauna marinha centrada na análise das respostas de toda a comunidade. Além disso, investiga os padrões de ingestão em diferentes grupos de meiofauna marinha em diferentes concentrações de MP.

A abundância no controle ambiental (Camb) diferiu consideravelmente daquelas no controle após estabilização de sedimentos em laboratório (T0), consistente com experimentos anteriores de microcosmo com meiofauna (GINGOLD; MOENS; ROCHA-OLIVARES, 2013; VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018). Embora isto exija alguma cautela ao extrapolar resultados de experiências de laboratório para o campo, é mais crucial manter uma estrutura comunitária estável nos tratamentos de controle durante a incubação experimental. Aqui, nenhuma perda significativa de abundância e riqueza taxonômica foi observada nos controles, indicando que a incubação experimental por si só não teve impacto pronunciado na fauna.

3.5 Conclusão

Embora a agenda que aborda os plásticos, os microplásticos e o seu impacto no ambiente marinho tenha ganhado destaque nos últimos anos, continua a haver uma falta de estudos de impacto direcionados a organismos próximos da base das cadeias alimentares bentônicas marinhas. Neste estudo, observamos que concentrações ambientalmente relevantes (10^3 part./mL e 10^5 part./mL) resultaram em diminuição da densidade total da meiofauna e da riqueza de espécies. Por outro lado, uma concentração de MP muito maior (10^7 part./mL) não diferiu de um controle sem adição

de MP. A manutenção da comunidade faunística (densidade e riqueza) na alta concentração de MP pode ter sido influenciada pelo estímulo alimentar induzido pelos microplásticos. Na baixa concentração de MP, as menores densidades e riqueza em comparação ao controle podem ter ocorrido devido a uma estratégia da meiofauna de evitar microplásticos. Essa estratégia pode ter gerado desgaste metabólico, causando mortalidade substancial. A ingestão de microplásticos exibiu uma relação dose-dependente, com maior ingestão em altas concentrações. Nematoda, Turbellaria, Gastrotricha, Copepoda, Acari e Naupli ingeriram microplásticos, e apenas Tardigrada não o fez. Este estudo contribui para os esforços contínuos para compreender os efeitos a curto prazo dos microplásticos em concentrações ambientalmente relevantes numa comunidade de meiofauna marinha.

4. CAPÍTULO 3: EFEITO DE COMPOSTOS A BASE DE PETRÓLEO NA MEIOFAUNA MARINHA- MICROPLÁSTICOS (MP's) E HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPA'S)

RESUMO

O petróleo, constituído de hidrocarbonetos, é uma das matérias primas mais utilizadas e procuradas no mundo. A partir desse composto, vários produtos como combustível e plástico são produzidos. Devido à exploração e derramamento accidental de petróleo os hidrocarbonetos, principalmente os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) se tornam disponíveis nos ecossistemas marinhos. Além dos HPA's, o plástico é outra problemática originada do petróleo. Mediante a ineficiência de políticas públicas, boa parte desse plástico produzido acaba nos oceanos. No ambiente marinho, estes vão se fragmentando, originando os microplásticos (MP's). Os Mp's são partículas sólidas menores que cinco milímetros de comprimento originadas a base de polímeros. Muito se sabe sobre os efeitos tóxicos dos HPA's e de seu impacto nos organismos marinhos, porém, há uma subestimação quanto aos efeitos isolados dos MP's, sendo atribuído geralmente apenas uma acentuada preocupação a sua capacidade vetorial de outros contaminantes. Ambos os estressores citados possuem alta capacidade de sedimentação o que os torna disponíveis aos organismos bentônicos. A meiofauna compreende um grupo de organismos bentônicos que além da vantagem do pequeno tamanho e curto ciclo de vida, estão propensos aos dois estressores citados, o que os tornam de grande relevância nesta pesquisa. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi analisar comparativamente os efeitos individuais do microplástico PS e HPA fenantreno na comunidade da meiofauna marinha. A coleta de sedimento da meiofauna ocorreu na Praia de Cupe, localizada em Pernambuco. O sedimento foi estabilizado em laboratório, e após sete dias 48 microcosmos foram montados. Estes compreendiam quatro réplicas de: controle, controle do solvente (CS), cinco concentrações de MP (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 e 10^7 partículas/ml) e cinco concentrações de fenantreno (0,01; 0,1; 0,5; 1 e $10 \mu\text{g/mL}$). O experimento foi acompanhado temporalmente com coleta após 15 e 30 dias após montagem. Para ambos, a densidade não foi um proxy sensível, com efeitos observados nos índices de diversidade da meiofauna. A meiofauna foi impactada após 15 dias de exposição ao MP, com perda de táxons a partir de concentrações baixas, e com danos mais pronunciados com aumento de tempo de exposição e concentração. Já o fenantreno só foi danoso após 30 dias de exposição em duas concentrações (0,5 e $10 \mu\text{g/mL}$). O táxon Polychaeta foi sensível ao MP, mas tolerante ao fenantreno, enquanto que Copépoda e Nauplii demonstrou ser tolerante aos dois estressores, principalmente ao fenantreno. Diante disso, o MP causou danos mais severos a meiofauna marinha comparativamente ao HPA fenantreno, impactando a riqueza das espécies. Logo, os MP individualmente podem também apresentar por si só uma ameaça aos ecossistemas aquáticos, e ambos em concentrações ambientalmente relevantes podem ser perigosos a meiofauna marinha.

Palavras- chave: Concentrações ambientalmente relevantes, Fenantreno, Meiobentos, Microcosmo, Poliestireno.

ABSTRACT

Oil, made up of hydrocarbons, is one of the most used and sought after raw materials in the world. From this compound, various products such as fuel and plastic are produced. Due to exploration and accidental oil spills, hydrocarbons, mainly Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), become available in marine ecosystems. In addition to PAHs, plastic is another problem arising from oil. Due to inefficient public policies, much of this plastic produced ends up in the oceans. In the marine environment, these fragment, creating microplastics (MPs). MPs are solid particles smaller than five millimeters in length originating from polymers. Much is known about the toxic effects of PAHs and their impact on marine organisms, however, there is an underestimation of the isolated effects of MPs, with only an emphasis on their vector capacity for other contaminants. Both reported stressors have a high sedimentation capacity, which makes them available to benthic organisms. Meiofauna comprises a group of benthic organisms that, in addition to the advantage of their small size and short life cycle, are exposed to two aforementioned stressors, which makes them of great relevance in this research. Therefore, the objective of this study was to comparatively analyze the individual effects of the microplastic PS and HPA phenanthrene on the marine meiofauna community. Meiofauna sediment collection took place at Praia de Cupe, located in Pernambuco. The sediment was stabilized in the laboratory, and after seven days 48 microcosms were assembled. These comprised four replicates of: control, solvent control (CS), five concentrations of MP (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 and 10^7 particles/ml) and five concentrations of phenanthrene (0.01; 0.1; 0.5; 1 and $10 \mu\text{g/mL}$). The experiment was monitored temporally with collection after 15 and 30 days after assembly. For both, density was not a sensitive proxy, with real effects observed on meiofauna diversity indices. Meiofauna was impacted after 15 days of exposure to MP, with loss of taxa from low concentrations, and with more pronounced damage with increasing exposure time and concentration. Phenanthrene was only harmful after 30 days of exposure in two concentrations (0.5 and $10 \mu\text{g/mL}$). The Polychaeta taxon was sensitive to MP, but tolerant to phenanthrene, while Copépoda and Nauplii proved to be tolerant to both stressors, mainly to phenanthrene. Therefore, MP caused more severe damage to marine meiofauna compared to HPA phenanthrene, drastically impacting species richness. Therefore, individual MPs can also present a threat to aquatic ecosystems on their own, and both in environmentally relevant concentrations can be dangerous to marine fauna.

Keywords: Environmentally relevant concentrations. Phenanthrene, Meiobenthos, Microcosm, Polystyrene.

4.1 Introdução

O petróleo é umas das matérias primas economicamente mais importantes na sociedade, são constituídos de uma mistura de hidrocarbonetos, e a partir dele muitos subprodutos como combustíveis e insumos são originados (KUPPUSAMY *et al.*, 2020). No entanto, embora importante economicamente, o petróleo e seus derivados representam também grande ameaça ambiental aos ecossistemas, tendo em vista a persistência desses compostos e danos tóxicos diretos ou indiretos provocados por substâncias ou insumos originados diretamente dele.

A liberação de hidrocarbonetos e petróleo no ambiente é uma das principais causas da poluição nos ecossistemas aquáticos (BARDI *et al.*, 2000). Dentre os hidrocarbonetos, os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) são compostos químicos hidrofóbicos e persistentes (REN, Xianyun; PAN, L.; WANG, L., 2015) com grande relevância ambiental tendo em vista sua ampla distribuição em todo mundo (STOUT, S. A. *et al.*, 2015). Estes poluentes são amplamente disseminados nos oceanos (CERNIGLIA, 1993), podendo ser liberados nesses ecossistemas através de descargas industriais, derramamento acidental, exploração de petróleo, entre outros. O fenantreno é um HPA de três anéis aromáticos que se destaca por está incluso entre os poluentes prioritários pelas Agências de Proteção Ambientais mundiais (EPA, 2014; Lerda, 2011). Este possui hidrofobicidade e alta persistência ambiental (STRINGER *et al.*, 2012), com capacidade de se ligar a partículas em suspensão e decantar no ambiente bentônico (SOCLO; GARRIGUES; EWALD, 2000).

Dentre os insumos originados do petróleo, os plásticos, representam uma ameaça ambiental. Através da degradação dos plásticos, surge outra grande ameaça, os microplásticos (MP'S). Os MP's são partículas sólidas baseadas em polímeros com um tamanho menor que 5mm de comprimento (ARTHUR; BAKER, J. E.; BAMFORD, 2009). Sua chegada ao ambiente marinho ocorre através da liberação direta de fibras têxteis, produtos de limpeza entre outros, ou em sua grande maioria, da degradação dos macrolásticos (Browne *et al.*, 2011). Dentre os polímeros plásticos, o poliestireno (PS) está entre os mais utilizados no mundo (PlasticEurope,2019), e isto reflete sua abundância nos oceanos, presente em altas concentrações na coluna d'água (PABORTSAVA; LAMPITT, 2020), mas principalmente em sedimento (HOSEINI; BOND, 2022) devido a bioincrustação e densidade (GALLOWAY, T. S.; COLE; LEWIS, 2017; HARRISON *et al.*, 2018; KAISER; KOWALSKI; WANIEK, 2017).

O fenantreno assim como o PS são estressores que possuem a mesma base de origem, porém, no caso do fenantreno este já é classificado como um contaminante

químico, enquanto o MP PS ainda está sendo potencialmente reconhecido como contaminante (BUCCI, Kennedy; ROCHMAN, Chelsea M, 2022). Ambos os estressores aqui citamos possuem a capacidade de sedimentar, e como consequência, são mais abundantes no sedimento (HOSEINI; BOND, 2022; SOCLO; GARRIGUES; EWALD, 2000). Diversos efeitos do fenantreno foram observados em animais bentônicos, incluindo diminuição nos parâmetros populacionais a partir de baixas concentrações (PONTES et al., 2021), danos a estrutura da comunidade, com reduções na densidade e riqueza de espécies (LOUATI et al., 2014), além de bioacumulação gerando danos teciduais (SPANN; GOEDKOOOP; TRAUNSPURGER, Walter, 2015). Embora já tenha sido evidenciado que o MP PS cause danos na aptidão de espécies, diminuindo a taxa de sobrevivência, reprodução e crescimento (BEJGARN, Sofia *et al.*, 2015b; MUELLER; FUESER, Hendrik; HÖSS; *et al.*, 2020; SHANG, X. *et al.*, 2020), e danos fisiológicos, como estresse oxidativo (ACOSTA-COLEY *et al.*, 2019a; LEI, L.; LIU, Mengting; *et al.*, 2018), os efeitos do MP são reduzidos a estresses físicos e mecânicos ou a sua capacidade vetorial de outros contaminantes (AMELIA et al., 2021). Isso acaba refletindo no maior volume de pesquisas voltadas a questões relativas a absorção e acumulação dessas partículas (RIDALL; ASGARI; INGELS, 2023).

Nesse sentido, é importante compreendermos se os efeitos do MP são potencialmente danosos a fauna, e se podem possuir danos significativamente tão graves quanto compostos que possuem a mesma base de origem. Para isto, tendo em vista que ambos estão mais propensos a atingirem diretamente a fauna bentônica, e tendo em vista a grande importância ecológica da meiofauna no bentos, utilizamos esta como modelo biológico. A meiofauna compreende um conjunto de metazoários diminutos menores que 1mm de comprimentos, sendo representados por diferentes grupos zoológicos (GIERE, O, 2009). Além de estarem propensos aos impactos do fenantreno e MP PS, estes são uma excelente ferramenta de estudo, pois, são pequenos, possuem ciclos de vida relativamente curto, além de possuírem um íntimo contato com o substrato (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018), o que nos permite avaliar de forma mais eficiente os impactos desses estressores. Além da usabilidade da meiofauna como ferramenta, é importante ressaltar que esta comunidade possui fundamental importância ecológica no bentos, pois eles são base da cadeia trófica, conectando níveis tróficos inferiores com superiores, além de participarem da ciclagem de nutrientes, e desempenharem mudanças nas propriedades químicas, físicas e biológicas do sedimento (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018).

Portanto, este trabalho é de importância relevância por I) testar diferentes concentrações de fenantreno na comunidade da meiofauna, testando a abundância e índices de diversidade II) avaliar as diferentes concentrações de MP PS na comunidade da meiofauna, testando a abundância e índices de diversidade e III) Comparar os efeitos de dois estressores com mesma base de origem, porém com propriedade físico-químicas diferentes. Tendo em vista isso, este estudo objetiva investigar os efeitos individuais e comparativos dos microplásticos (MP) e Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA's) na abundância e índices de diversidade da meiofauna marinha. Para isso, hipotetizamos que: H_{1.1}: os MP'S serão menos danosos para a estrutura da comunidade da meiofauna do que os HPA's, tendo em vista que os HPA's são contaminantes químicos e tóxicos conhecidos, enquanto os microplásticos estão mais associados a danos mecânicos. H_{1.2}: Os efeitos de ambos os estressores individualmente serão dependentes de dose e de tempo, com danos mais severos em um maior tempo de exposição e em maiores concentrações.

4.2 Materiais e métodos

4.2.1 Área de estudo, transporte, período de estabilização e amostragem

A coleta da meiofauna foi realizada na Praia de Cupe na Cidade de Ipojuca, Pernambuco, Brasil (8°27'29.4"S 34°59'03.2"W), uma praia arenosa de sedimento fino, com forte presença de arrecifes, o que possibilita a formação de piscinas naturais. A amostragem da meiofauna compreendeu na raspagem dos dois primeiros centímetros do sedimento superficial (COULL; CHANDLER, 1992) e logo em seguida foram homogeneizados cuidadosamente com uma pá. Este foi levado ao laboratório com auxílio de bomba de ar para manter a oxigenação, e lá foram mantidos sob temperatura e salinidade (28°C e 35 respectivamente) controlados durante sete dias, configurando a estabilização da fauna antes da montagem do experimento, cujo objetivo foi reduzir o estresse no momento da coleta (MONTEIRO *et al.*, 2019; VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018). Ainda na área da coleta quatro réplicas de 10cm² do sedimento natural representando o controle ambiental (Camb) foram preservados em formaldeído a 4%. Após o período de estabilização, quatro réplicas de 10cm² foram amostrados antes da montagem do experimento (T0).

4.2.2 Suspensão do microplástico e diluição do fenantreno

O poliestireno (PS) que foi utilizado neste estudo é uma microesfera fluorescente de 1µm de diâmetro obtido através da Fluoresbrite® amarelo-verde (máximo de

excitação: 441 nm, máximo de emissão: 485 nm; Polysciences Europe GmbH, Baden-Wuerttemberg, Alemanha). As concentrações de microplásticos foram preparadas diluindo uma concentração estoque de $4,55 \times 10^{10}$ partículas/mL (part./mL) com água destilada e misturando-a completamente na quantidade apropriada com sedimento defaunado para criar sedimento com uma concentração de 4×10^7 part./mL em 100g. A defaunação foi feita utilizando três ciclos de congelamento (-20°C , 12h) e descongelamento (18°C , 48h). 100g deste sedimento defaunado poluído com MP foram então cuidadosamente misturados com 300g de sedimento natural com fauna, resultando em sedimento com 10^7 part. de MP/mL. As concentrações nominais mais baixas de MP (10^3 a 10^6 part./mL) foram então obtidas diluindo o sedimento defaunado poluído (100g de sedimento a 10^7 part./mL) com sedimento defaunado livre de MP, portanto, uma diluição em série foi realizada de modo que 10g de sedimento a 10^7 part./mL com mais 90g de sedimento defaunado livre de MP foram homogeneizados até a obtenção das concentrações nominais mais baixas. Seguindo estudos experimentais com meiofauna (Fueser et al., 2019, 2020) a maior concentração foi usada com finalidade de testar uma concentração numa perspectiva futura em sedimentos marinhos costeiros (HARRIS, 2020). Já as concentrações mais baixas foram escolhidas com base nesses mesmos estudos experimentais e por serem concentrações ambientalmente relevantes em ecossistemas bentônicos aquáticos de água doce e marinho (HARRIS, 2020; HOSEINI; BOND, 2022; SCHERER *et al.*, 2020).

O fenantreno usado neste estudo foi obtida da Sigma-Aldrich com 98% de pureza (Lot.:S37908-048), e consistia em um pó fino branco. Para realizar as diluições uma concentração mãe de 2000 $\mu\text{g/mL}$ foi preparada em acetona (99% de pureza- Sigma-Aldrich), e a partir dela, foram realizadas diluições em 100g de sedimento para que quando misturados com 300g de sedimento natural contendo fauna, fosse obtido as concentrações testes nominais de 0,01; 0,1; 0,5; 1 e 10 $\mu\text{g/mL}$. O solvente acetona em outros estudos testando HPA na meiofauna tem se mostrado eficiente nas diluições, além de não ser tóxico para meiofauna (ALLOUCHE *et al.*, 2020; LOUATI *et al.*, 2014; SAID, BEN *et al.*, 2015). Porém, apesar disso, além do controle experimental (C), um controle do solvente (CS) foi feito. Todos os tratamentos no qual foi utilizado a acetona, a contaminação do sedimento foi realizada 24h antes do dia da montagem do experimento para permitir que a acetona evaporasse e o fenantreno fosse adsorvido pelo sedimento (SAID, BEN *et al.*, 2015). Todas as concentrações de fenantreno testadas aqui já são ambientalmente relevantes, encontradas em sedimentos marinhos (DUDHAGARA *et al.*, 2016; MACDONALD, 1994; MCCREADY *et al.*, 2006), além disso, até o momento só

temos um estudo testando o HPA fenantreno na comunidade da meiofauna, porém a concentração testada é dez vezes maior do que a maior testada aqui (LOUATI *et al.*, 2014), tornando este estudo relevante tendo em vista o gradiente de concentrações investigado e o realismo destas.

4.2.3 Configuração do microcosmo e design experimental

O experimento seguiu a mesma configuração experimental previamente realizado (VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018; WAKKAF *et al.*, 2020). Tanques com água destilada monitorados com termostatos serviram como reguladores térmicos de béqueres ou microcosmos de 1L (dimensões: 18 cm de altura e 11 cm de diâmetro). No microcosmo o sedimento ficou submerso em água do mar, e a camada de sedimento foi < 5cm de profundidade, para evitar hipoxia e anoxia. Todo o sedimento foi oxigenado por uma sistema de aeração que ciclou o sedimento através de pressão negativa, projetado para evitar também hipóxia e anoxia (VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018). Os microcosmos foram condicionados em uma sala climatizada a 28°C e foram monitorados diariamente sob temperatura a 28°C e salinidade a 35 com variação de ± 1 para ambos, por 30 dias.

O experimento ocorreu em quadriplicata, totalizando 48 microcosmos: I) controle experimental (C) II) Controle do solvente (CS) III) 10^3 part./mL e 10^4 part./mL (Concentração baixa de PS) V) 10^5 part./mL (Concentração intermediária de PS); VI) 10^6 part./mL e 10^7 part./mL (Concentração alta de PS) VIII) 0,01 μ g/mL e 0,1 μ g/mL (Concentração baixa de HPA) X) 0,5 μ g/mL (Concentração média de HPA) XI) 1 μ g/mL e 10 μ g/mL (Concentração alta de HPA). O experimento foi rodado em um único site experimental, porém, cada resultado foi analisado independentemente. Ambos com o mesmo controle experimental.

4.2.4 Coleta em laboratório e processamento das amostras

A coleta em laboratório foi realizada ao decorrer dos 30 dias de exposição, com amostragem após T15 (T15) e 30 dias (30) de exposição ao microplástico ou fenantreno. A amostragem de 10cm² foi realizada em cada réplica de cada tratamento do mesmo microcosmo. As amostras foram lavadas com peneira de malha de 300 μ m e 38 μ m, seguido de elutriação para separar a meiofauna do sedimento, uma vez que esse método tem demonstrado eficiência na extração de animais (MURRELL; FLEEGER, John W, 1989). A meiofauna foi preservada em 4% de formaldeído e corada com rosa de bengala para facilitar no processo de contagem e identificação que foi realizado através de esteromicroscópio dos principais grupos em nível de ordem ou superior.

4.2.5 Análise de dados

Para analisar o efeito do microplástico e fenantreno temporalmente em diferentes concentrações na comunidade da meiofauna, uma análise multivariada foi realizada. Para isso, os dados de densidade foram transformados em raiz quarta e a matriz de similaridade foi calculada usando o índice de Bray-Curtis. Para visualizar esses padrões de similaridade, os dados foram ordenados usando uma análise de escala multidimensional não métrica (nMDS). Com o objetivo de estabelecer a distribuição de cada táxon entre os tratamentos ou dentro do tratamento, a análise multivariada de percentagem de similaridade (SIMPER) também foi realizada. Para avaliar o efeito do microplástico e fenantreno temporalmente em diferentes concentrações testando a diferença da abundância total e dos índices de diversidade da meiofauna, uma análise univariada foi realizada. Para isso, os dados de densidade foram transformados em raiz quarta e a matriz de similaridade foi calculada usando o índice de Distância Euclidiana. Os índices de diversidade calculados foram três: Shannon Wiener (H'), Pielou (J) e riqueza de espécies (S) (ANDERSON, 2008). Para testar a significância ($p \leq 0,05$) das análises uni e multivariada uma ANOVA Permutacional (Permanova) foi aplicada. No caso de diferença significativa no tempo e tratamento uma comparação de pares (Pair-Wise) foi realizada a fim de observar quais concentrações diferiu entre si e em quais tempos testados. Ainda, uma análise Permutacional de Dispersões (PERMDISP) foi aplicada para testar a homogeneidade entre os dados. As análises uni e multivariada e o gráfico nMDS foram realizadas pelo software PRIMER 7.1 + PERMANOVA. O software Sigmaplot 12.5. foi usado para plotar os dados de densidade total da meiofauna e dos índices de diversidades.

4.3 Resultados

4.3.1 Estabilização experimental

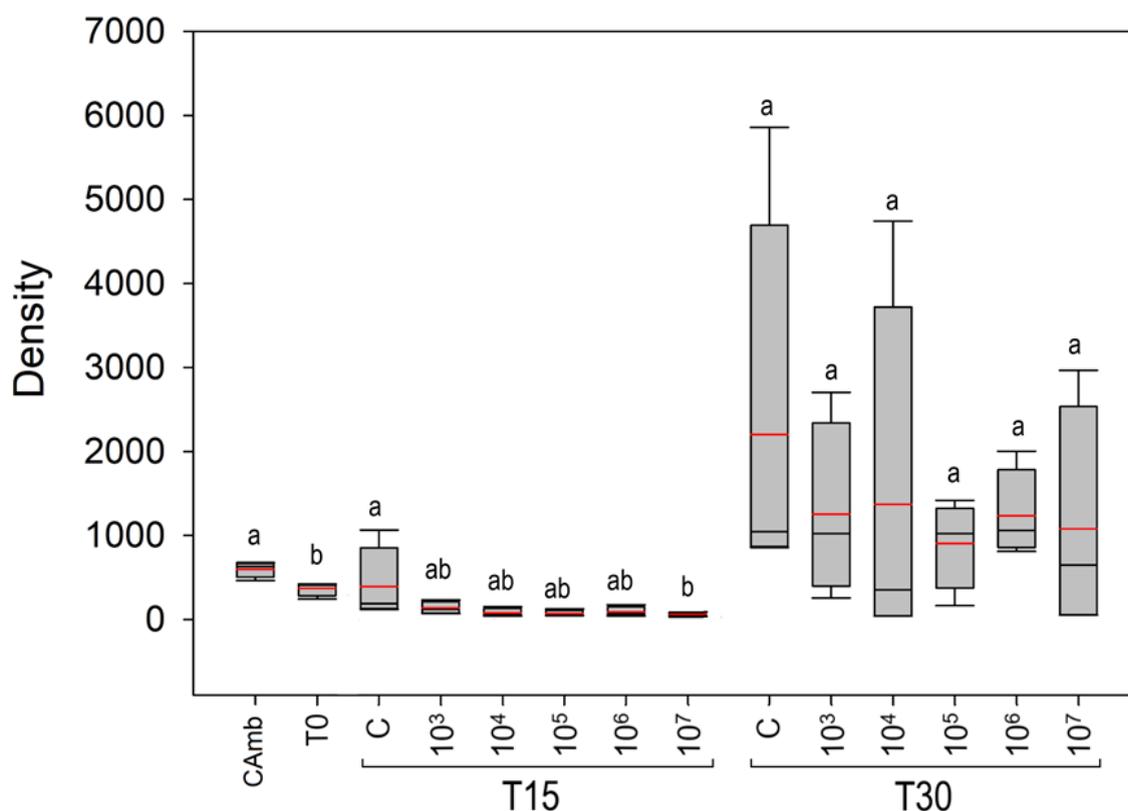
A densidade da meiofauna total, bem como a riqueza de espécies após o período de estabilização de sedimento em laboratório (T_0), foi significativamente menor (Pseudo- $F = 11, 661$; $p = 0,0141$; Pseudo- $F = 8, 4988$; $p = 0,0241$ respectivamente), em relação ao controle ambiental (CAmb), demonstrando que houve efeito de tempo e possível estresse mecânico decorrente da amostragem.

4.3.2 Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do PS na comunidade da meiofauna

Densidade total da meiofauna

A densidade total da meiofauna (Figura 1) diferiu significativamente no tempo (Pseudo-F=49,728; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,0044$), mas não no tratamento (Pseudo-F= 1,1504; $p=0,3684$; PERMDISP: $p=0,9987$) nem no tempo versus (vs) tratamento (Pseudo-F= 0,2475; $p=0,934$). Na comparação pareada (Pair-wise) conseguimos observar um aumento significativo da densidade total da meiofauna após 30 dias de exposição ao microplástico quando comparado com o primeiro tempo experimental ($p=0,0001$). E, apesar de o tempo ser o único fator que influenciou na densidade da meiofauna, vale ressaltar após 15 dias de exposição (T15) o tratamento de maior concentração (10^7 part./mL) teve densidades significativamente menor que o Controle (C) ($p=0,05$). E além disso, mesmo não sendo estatisticamente significativo, nos dois tempos experimentais conseguimos observar um padrão de diminuição da densidade total da meiofauna nos tratamentos com microplástico em relação ao C.

Figura 1: Densidade da meiofauna por 10 cm^2 sob exposição ao microplástico. Média da densidade total da meiofauna em ind/ 10 cm^2 (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T30) dias de exposição ao poliestireno (PS). As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em partículas/mL.



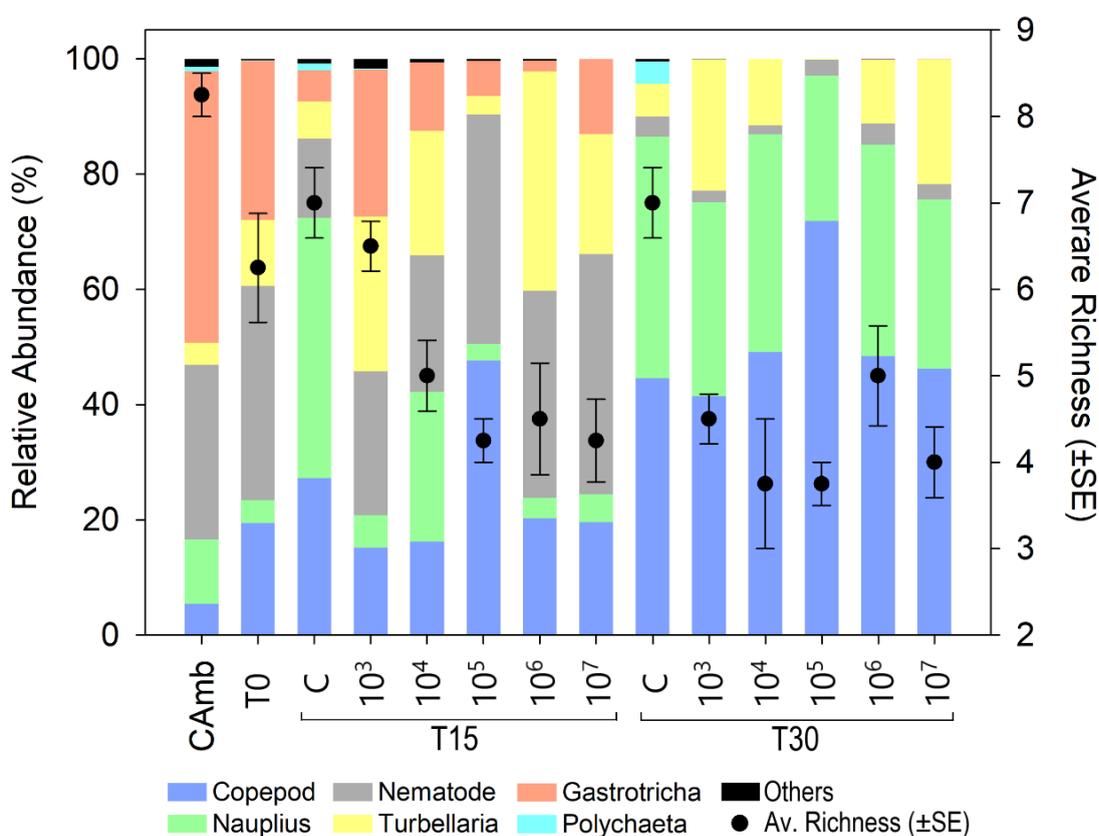
Respostas da meiofauna aos índices de diversidade e estrutura da comunidade

Este experimento apresentou uma riqueza de dez grupos da meiofauna, sendo eles: Nematoda, Copepoda, Gastrotricha, Nauplii, Turbellaria, Polychaeta, Oligochaeta, Ostracoda, Acari e Tardigrada. Tendo em vista a baixa densidade de Acari, Oligochaeta, Ostracode e Tardigrada estes foram plotados graficamente como outros (Figura 2). A riqueza da meiofauna (Figura 2) diferiu significativamente no tempo (Pseudo-F=8,9354; $p=0,0088$; PERMDISP: $p=0,6226$), no tratamento (Pseudo-F= 6,1996; $p=0,0019$; PERMDISP: $p=0,0425$) e no tempo vs tratamento (Pseudo-F= 3,3278; $p=0,026$). Quando analisados em pares, no T15 todos os tratamentos, exceto o de menor concentração (10^3 part./mL), possuem uma riqueza significativamente menor ($p<0,0228$) pela perda de táxon Polychaeta quando comparados ao C. A maior concentração (10^7 part./mL) apresenta maiores diferenças comparativamente ao C, pois além do desaparecimento de Polychaeta, todos os grupos incluídos em outros, e considerados raros, também desapareceram ($p=0,0076$). Os efeitos do microplástico sob a riqueza de espécies torna-se mais severamente fortes a medida em que o tempo de exposição aumenta, já que no T30, todos os tratamentos, incluindo o de menor concentração, possuem menor riqueza pelo desaparecimento Polychaeta quando comparados com o C ($p<0,0357$). Nas concentrações menores e intermediária (10^3 , 10^4 e 10^5 part./mL) além do

desaparecimento de polychaeta, há também desaparecimento de Gastrotricha ($p < 0,0177$), enquanto em 10^7 part./mL observamos perda de Polychaeta e de todos os grupos incluídos em outros ($p = 0,0031$).

Com relação a abundância relativa (Figura 2) no T15 conseguimos observar que nos tratamentos com microplástico, há tendência de dominância por Nematoda e Turbellaria, diferentemente do C que há uma dominância de Copepoda e Naupli. No T30, no entanto, Nematoda perde espaço em detrimento de Copepoda e Naupli, que é o mesmo padrão observado no C tanto no T15 quanto no T30, enquanto Turbellaria, apesar de perder um pouco de espaço, ainda se mantém como um dos mais representativos.

Figura 2: Abundância relativa e riqueza de espécies sob exposição ao microplástico. Barra multicolorida representa a abundância relativa (%) no eixo Y esquerdo e pontos com barras de whiskers representa a riqueza (\pm SE) de espécies no eixo Y direito dos grupos da meiofauna em cada tratamento. Cada cor representa um táxon encontrado no experimento. Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T15) dias de exposição ao PS. Concentrações em partículas/mL.



A equitabilidade da comunidade da meiofauna não foi influenciada pelo tempo (Pseudo-F=2,0402; $p=0,1652$; PERMDISP: $p=0,9656$) tratamento (Pseudo-F=2,2445; $p=0,097$; PERMDISP: $p=0,9887$) ou pelo tempo vs tratamento (Pseudo-F=0,18095; $p=0,965$) (Tabela 1). Muito embora a equitabilidade da meiofauna não mostre diferença e nem mesmo padrão claro entre os tratamentos com microplástico e o C, a exposição ao microplástico afetou a diversidade de Shannon (H') (Tabela1). O índice H' diferiu no tempo (Pseudo-F=11,915; $p=0,0031$; PERMDISP: $p=0,6975$) e no tratamento (Pseudo-F=3,4815; $p=0,0233$; PERMDISP: $p=0,5758$). A diversidade de Shannon diminuiu com o aumento do tempo de exposição ao microplástico, sendo significativamente maior no T15 do que no T30 ($p=0,0027$), porém, nenhum padrão claro foi observado com relação aos tratamentos com microplástico, onde apenas as concentrações 10^5 e 10^6 part./mL tiveram um índice H' menor em comparação ao C no T15 ($p<0,0256$) e no T30 apenas 10^5 part./mL continuou menor em relação ao C ($p<0,0091$).

Tabela 1: Resultados PERMANOVA E PAIR-WISE para os índices de diversidade (Shannon e Pielou) sob exposição ao microplástico. Valores de P (perm) $<0,05$ estão sinalizados em negrito. df, grau de liberdade; MS, média quadrada, Res, residual. Concentração de MP em partículas/mL.

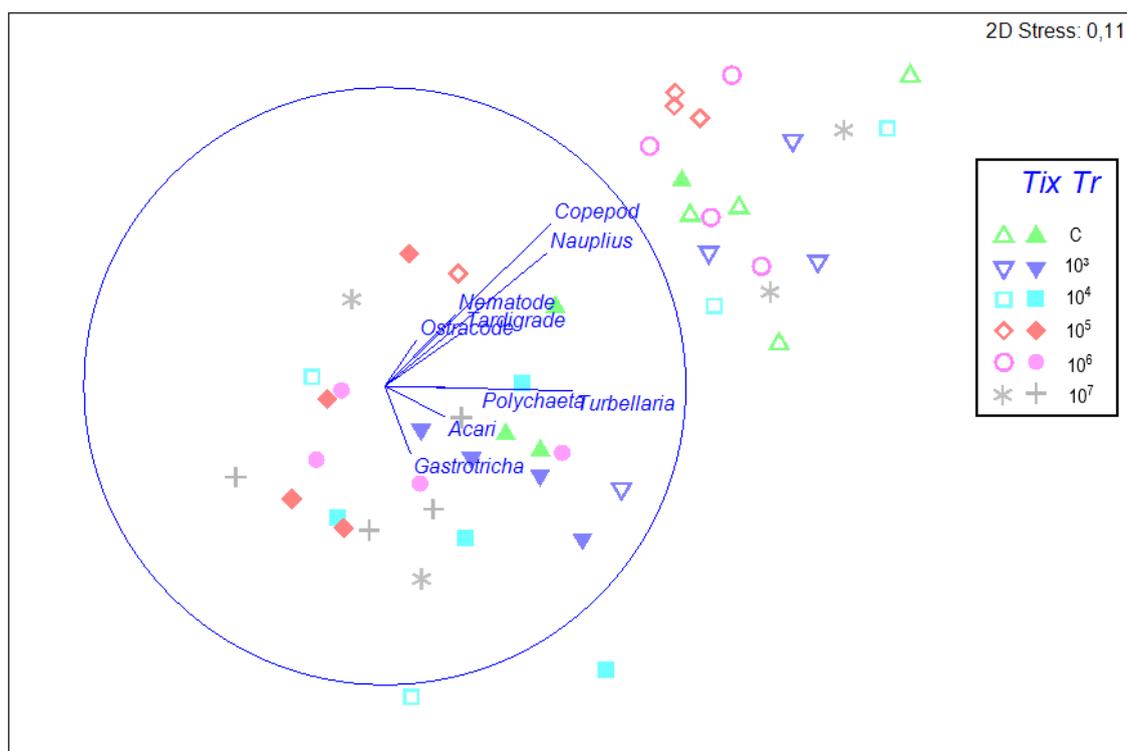
Índices	Source	PERMANOVA				Grupo	PAIR-WISE	
		df	MS	pseudo-F	P (perm)		t	P (perm)
Diversidade de Shannon (H')	Tempo	1	0,11434	11,915	0.0031	C, 10^3	1,7461	0,125
	Tratamento	5	5,3375	3,4815	0,0233	C, 10^4	1,5343	0,1779
	TixTr	5	1,1038	1,1509	0,3697	C, 10^5	4,526	0,0047
	Res	18				C, 10^6	2,7378	0,0328
	Total	11				C, 10^7	1,4752	0,1881
Equitabilidade de Pielou (J')	Tempo	1	5,3792	2,0402	0,1652	C, 10^3	3,6107	0,9741
	Tratamento	5	5,4507	2,2445	0,097	C, 10^4	1,8173	0,1185
	TixTr	5	4,7709	0,18095	0,965	C, 10^5	1,2717	0,2506
	Res	18				C, 10^6	0,25781	0,8022
	Total	11				C, 10^7	0,98233	0,3642

A estrutura da comunidade da meiofauna (Figura 3) foi impactada pelo microplástico ao longo do tempo (Pseudo-F=30,88; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,1391$) e em diferentes concentrações (Pseudo-F=2,0384; $p=0,0119$; PERMDISP: $p=0,7407$). A estrutura da comunidade no T15 e no T30 são significativamente diferentes ($p=0,0001$),

no qual conseguimos observar dois grupos opostos separados pelo tempo. Além do fator tempo, o tratamento de 10^5 part./mL possui a estrutura da comunidade da meiofauna mais diferente do C ($p=0,027$), comparado aos outros tratamentos com microplástico. E apesar de 10^6 e 10^7 part./mL no T15 também terem diferido do C ($p<0,0358$) a dispersão observada dentro dos tratamentos nos permite apenas interpretações marginais. No T30 a estrutura da comunidade nos tratamentos com microplástico não diferem do C.

Os vetores de correlação de Person (Figura 3) demonstram que as maiores concentrações de microplástico no T15 (10^5 , 10^6 e 10^7 part./mL) estão opostas ou mais distantes da fauna, provavelmente devido à menor abundância e riqueza nesse tempo. Além disso, no T30 os vetores de Person demonstram uma maior correlação na abundância de Copepoda e Naupli neste tempo, em contrapartida, observamos uma correlação negativa entre Gastrotricha com as concentrações no T30.

Figura 3: Estrutura da comunidade sob exposição ao microplástico. Escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) baseado em densidades de grupos de meiofauna (padronizado na raiz quarta, usando o índice de similaridade Bray-Curtis) demonstrando a similaridade da estrutura da comunidade nos diferentes tratamentos (C, 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 part./mL) e tempos (T15 e T30), com vetores da correlação de Person das taxa da meiofauna encontrados, aonde o tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson. O T15 está representado pelos símbolos preenchidos enquanto no T30 não preenchidos, para 10^7 part./mL a + representa T15 enquanto * T30.



O teste de similaridade (SIMPER) demonstrou que o tratamento com maior similaridade entre a fauna foi o C (57,96%), seguidos de 10^3 part./mL (54,25%), 10^5 part./mL (51,81%), 10^6 part./mL (50,55%), 10^7 part./mL (47,75%) e 10^4 part./mL (45,22%). No C os táxons que mais contribuíram com essa similaridade foram Naupli e Copépoda (54,09%), enquanto 10^3 e 10^4 part./mL foram os táxons Nematoda e Turbellaria contribuindo com mais de 50% para a similaridade. Nos tratamentos de concentrações maiores e intermediária de microplástico (10^5 , 10^6 e 10^7 part./mL) os táxons Nematoda e Copépoda contribuíram com mais de 68% da similaridade, e embora em 10^5 e em 10^6 part./mL Copépoda tenha sido o que mais contribuiu com a similaridade, em 10^7 part./mL Nematoda foi o maior contribuidor, ultrapassando 43% dessa contribuição.

As maiores dissimilaridades foram observadas entre os tratamentos C e 10^7 part./mL, seguidos de C e 10^4 part./mL e C e 10^5 part./mL. Em ambos, Copepoda e Naupli contribuem com mais de 59% para a dissimilaridade, e isto é justificado pela disparidade entre as médias das abundâncias desses táxons nos respectivos tratamentos.

4.3.3 Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do HPA fenantreno na comunidade da meiofauna

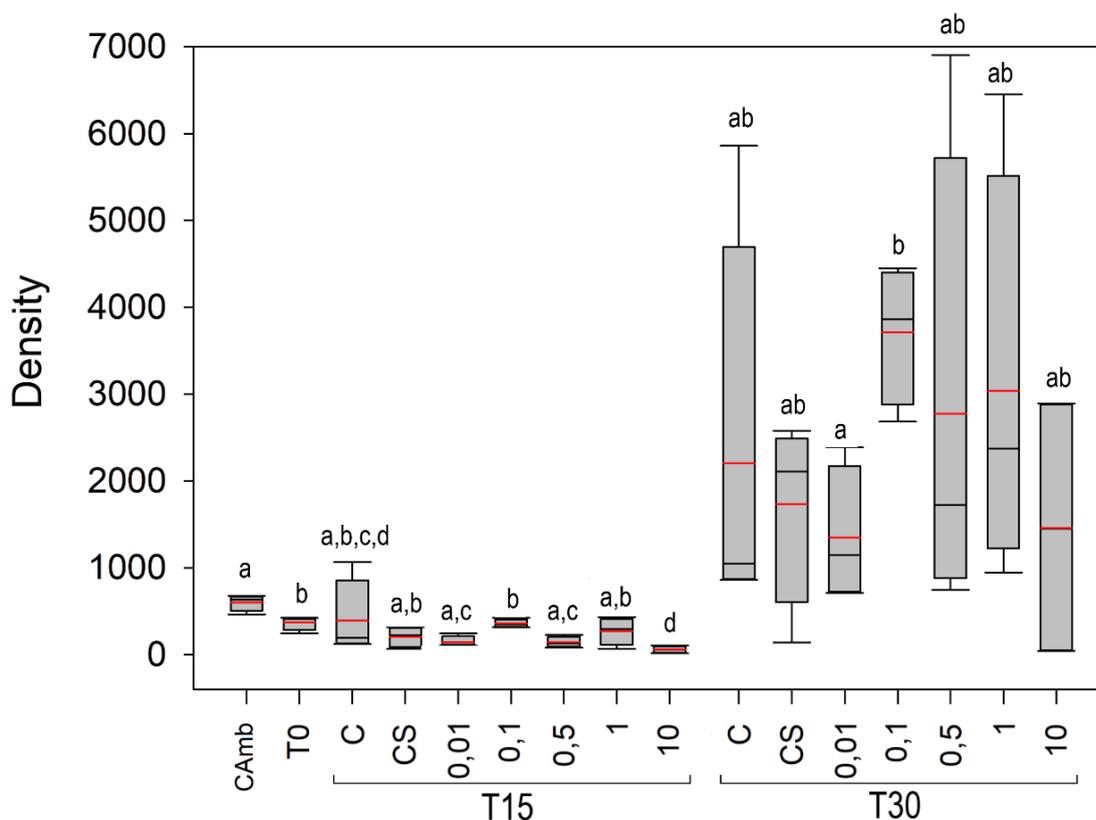
Para todas os índices de diversidade (J, H', S) e abundância, além das análises de estrutura da comunidade, o controle experimental (C) e o controle do solvente (CS) não diferiram (com $p < 0,05$ para todas as análises), sendo possível inferir que o solvente não causou efeito no nosso experimento.

Densidade total da meiofauna

A densidade total da meiofauna exposta a diferentes concentrações de fenantreno (Figura 4) diferiu significativamente no tempo (Pseudo-F=92,7182; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,0001$), mas não no tratamento (Pseudo-F= 1,3511; $p=0,2811$; PERMDISP: $p=0,8726$) e no tempo versus (vs) tratamento (Pseudo-F= 0,86563; $p=0,5456$). Na comparação pareada observamos que a densidade da meiofauna foi influenciada pelo fator tempo, no qual observamos uma maior densidade no T30 em comparação ao T15 ($p=0,0001$). Ao longo do tempo nenhum tratamento diferiu do C experimental, mas no T15 o tratamento de maior concentração ($10\mu\text{g/mL}$) teve menor densidade total da meiofauna comparativamente aos outros tratamentos com fenantreno ($p < 0,05$), e ainda que $10\mu\text{g/mL}$ diferiu do controle do solvente (CS)

($p=0,0473$) demonstrando menor densidade. No T30 nenhum tratamento com fenantreno difere dos controles experimentais (C, CS), havendo diferença apenas entre as duas menores concentrações (0,01 e 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Ainda, conseguimos observar que mesmo que não haja diferença entre os tratamentos com fenantreno e o C, observamos um padrão de diminuição na densidade total da meiofauna no T15 em relação ao C, porém, em T30 o padrão tende a ser de aumento da densidade da meiofauna nas concentrações 0,1; 0,5 e 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, e de diminuição na maior concentração (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) em comparação ao C.

Figura 4: Densidade total da meiofauna por 10 cm^2 sob exposição ao fenantreno. Média da densidade total da meiofauna em ind/10 cm^2 (linha vermelha) e mediana (linha preta) da meiofauna ao longo do tempo. Controle ambiental (Camb), Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T30) dias de exposição ao HPA fenantreno. As letras diferentes simbolizam diferenças significativas dentro de cada tempo experimental. Concentrações em $\mu\text{g}/\text{mL}$.



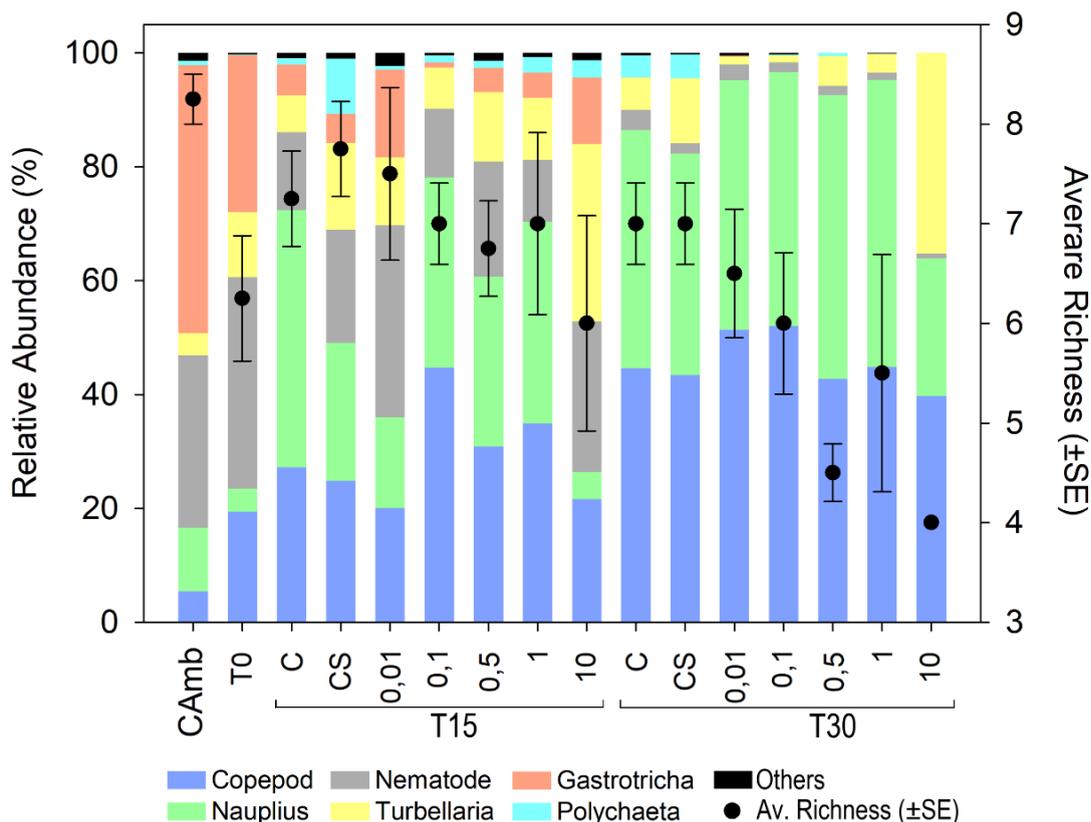
Respostas da meiofauna aos índices de diversidade e estrutura da comunidade

Este experimento apresentou uma riqueza de dez grupos da meiofauna, sendo eles: Nematoda, Copépoda, Gastrotricha, Nauplii, Turbellaria, Polychaeta, Oligochaeta, Ostracoda, Acari e Tardigrada. Tendo em vista a baixa densidade de Acari, Oligochaeta,

Ostracode e Tardigrada estes foram plotados graficamente como outros (Figura 5). A riqueza de espécies da meiofauna sob exposição ao fenantreno diferiu no tempo (Pseudo-F=14,369; $p=0,001$; PERMDISP: $p=0,0714$), tratamento (Pseudo-F= 3,5581; $p=0,0144$; PERMDISP: $p=0,0113$), mas não no tempo vs tratamento (Pseudo-F=0,7265; $p=0,6252$). O fenantreno impactou mais severamente a riqueza de espécies com o aumento do tempo de exposição, onde a riqueza é menor no T30 em comparação ao T15 ($p=0,0013$). Na comparação pareada nenhum tratamento difere do C no T15, e todos os grupos da meiofauna permanecem nos tratamentos. Já no T30 0,05 $\mu\text{g/mL}$ possui menor riqueza de espécies em comparação ao C pela perda de Gastrotricha. A maior concentração (10 $\mu\text{g/mL}$) teve mais impacto sobre a riqueza, pois além de Gastrotricha, Polychaeta, e todos os táxons incluídos em "outros", e que são considerados raros, desaparecem nesse tratamento.

A abundância relativa da meiofauna (Figura 5) no T15 nos tratamentos com fenantreno possui o mesmo padrão observado nos controles experimentais, no qual Naupli, Copépoda e Nematoda são os mais dominantes na comunidade, porém, importante notar que 10 $\mu\text{g/mL}$ possui um padrão diferente, no qual, ao invés de Naupli, Turbellaria é um dos grupos mais representativos. No T30, enquanto no C e CS Naupli e Copepoda representam 80% da abundância relativa, nos tratamentos com fenantreno esta dominância ultrapassa 90%, e em 0,01; 0,1 e 1 $\mu\text{g/mL}$ ultrapassa a 95% de dominância desses grupos. Entretanto, em 10 $\mu\text{g/mL}$ a dominância de Naupli e Copépoda diminui (63%) e Turbellaria representa 35%, sendo basicamente a comunidade neste tratamento representada por eles.

Figura 5: Abundância relativa e riqueza de espécies sob exposição ao fenantreno. Barra multicolorida representa a abundância relativa (%) no eixo Y esquerdo e pontos com barras de whiskers representa a riqueza ($\pm\text{SE}$) de espécies no eixo Y direito dos grupos da meiofauna em cada tratamento. Cada cor representa um táxon encontrado no experimento. Controle após a estabilização (T0), coleta após 15 (T15) e 30 (T15) dias de exposição ao fenantreno. Concentrações em $\mu\text{g/mL}$.



A equitabilidade da comunidade da meiofauna diferiu no tempo (Pseudo-F=30,911; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,0413$) e tratamento (Pseudo-F=3,0781; $p=0,027$; PERMDISP: $p=0,8696$), mas não no tempo vs tratamento (Pseudo-F=0,7526; $p=0,6214$) (Tabela 2). A equitabilidade dos grupos da meiofauna no T15 foi significativa maior do que no T30 ($p=0,0001$), e conseguimos observar isto pelo fato de que no T30 há dominância de alguns grupos em detrimento de outros (Figura 5). Embora as diferentes concentrações de fenantreno não tenha diferido dos controles experimentais, o tratamento de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ possuiu equitabilidade significativamente maior do que 0,01; 0,1 e 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($p<0,049$).

A diversidade de Shannon (H') diferiu no tempo (Pseudo-F=102,916; $p=0,0001$; PERMDISP: $p=0,1353$) e tratamento (Pseudo-F=3,253; $p=0,0218$; PERMDISP: $p=0,3085$), mas não no tempo vs tratamento (Pseudo-F=1,8377; $p=0,1422$) (Tabela 2). Assim como foi para equitabilidade, o fenantreno impactou mais a fauna a medida em que o tempo de exposição aumentou, tendo em vista que o índice H' no T15 foi maior do que o observado no T30 ($p=0,001$). Não observamos padrão de efeito claro em relação aos tratamentos com fenantreno e controles, com diferença significativa pela menor diversidade H em 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ em comparação ao C ($p=0,0403$). Além disso, os tratamentos de 0,1; 0,5 e 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ possui índice H' menor do que CS ($p<0,0222$).

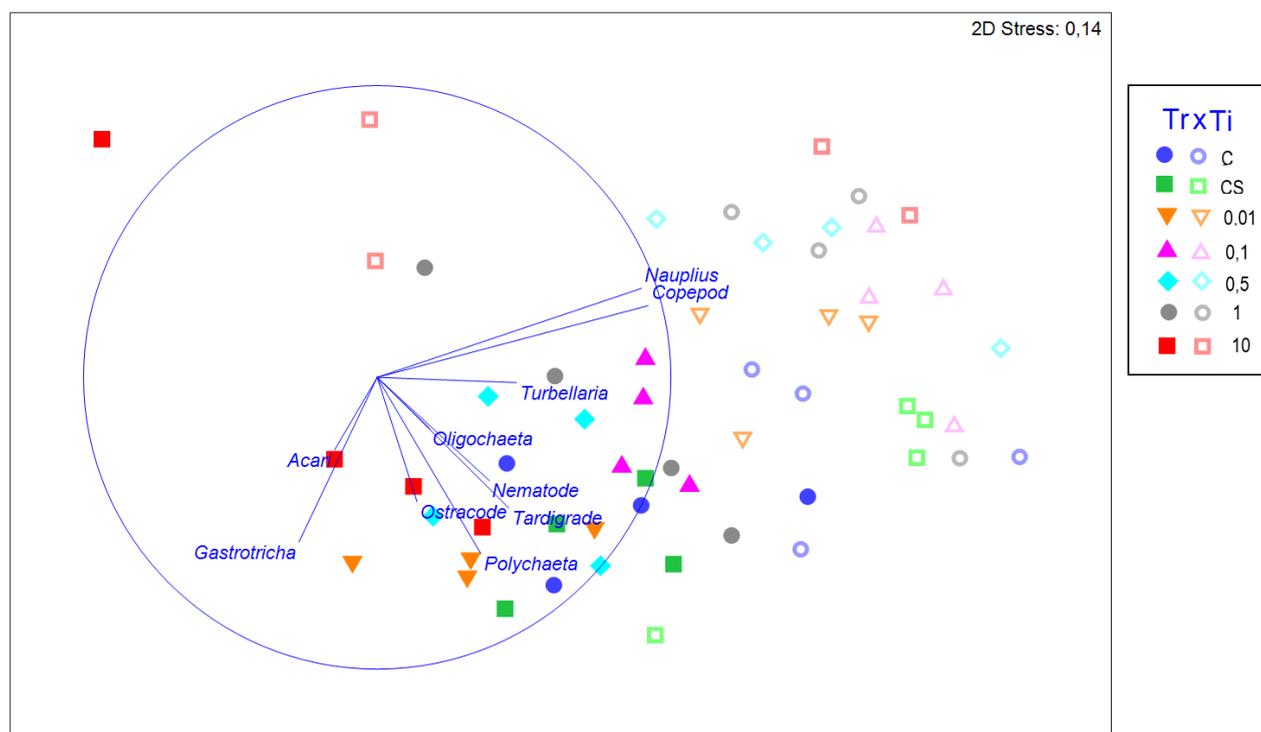
Tabela 2: Resultados PERMANOVA E PAIR-WISE para os índices de diversidade (Shannon e Pielou) sob exposição ao fenantreno. Valores de P (perm) <0,05 estão sinalizados em negrito. df, grau de liberdade; MS, média quadrada, Res, residual. Concentração de fenantreno em µg/mL.

Índices	Source	PERMANOVA				Grupo	PAIR-WISE	
		df	MS	pseudo-F	P (perm)		t	P (perm)
Diversidade de Shannon (H')	Tempo	1	0,5895	102,16	0,0001	C; CS	1,5219	0,1759
	Tratamento	6	3,0293	3,253	0,0218	C; 0,01	0,67832	0,5186
	TixTr	6	1,0605	1,8377	0,1422	C; 0,1	2,6022	0,0403
	Res	21				C; 0,5	1,2748	0,2439
	Total	13				C; 1	2,284	0,0676
					C;10	0,99605	0,3479	
Equitabilidade de Pielou (J')	Tempo	1	0,15863	30,911	0,0001	C; CS	1,124	0,311
	Tratamento	6	1,2333	3,0781	0,027	C; 0,01	0,44021	0,6694
	TixTr	6	3,8626	0,75265	0,6214	C; 0,1	1,6153	0,1627
	Res	21				C; 0,5	0,39525	0,7089
	Total	13				C; 1	0,73643	0,4897
					C;10	1,3049	0,2423	

A estrutura da comunidade da meiofauna (Figura 6) diferiu no tempo (Pseudo-F=56,553; p=0,0001; PERMDISP: p= 0,0595) e tratamento (Pseudo-F=2,2913; p=0,0101; PERMDISP: p= 0,2986), mas não no tempo vs tratamento (Pseudo-F=1,3474; p=0,1706). A estrutura da comunidade do T15 e do T30 são significativamente diferentes (p=0,0001), no qual conseguimos observar dois grupos distantes um do outro, separados pelo tempo. Além do fenantreno ter influenciado a estrutura da comunidade temporalmente, conseguimos também observar que o tratamento de maior concentração (10 µg/mL) difere na estrutura da comunidade dos controles experimentais (p<0,05) e dos demais tratamentos (p<0,05) no T15. No entanto, no T30, a estrutura da comunidade não muda entre os tratamentos com fenantreno em comparação com os controles. Mas observamos uma estrutura da comunidade diferente entre 0,01 e 0,1 µg/mL nesse mesmo tempo.

Os vetores da correlação de Person (Figura 6) demonstra que no T15 os grupos da meiofauna correlaciona positivamente com todas as concentrações de fenantreno e também com os controles, possuindo apenas uma menor correlação com 10 µg/mL. Já no T30 os grupos da meiofauna que apresentam alta correlação com todos os tratamentos, principalmente com as diferentes concentrações de fenantreno, são Copepoda e Nauplii.

Figura 6: Estrutura da comunidade sob exposição ao fenantreno. Escalonamento multidimensional não métrico (nMDS) baseado em densidades de grupos de meiofauna (padronizado na quarta raiz, usando Bray-Curtis) demonstrando a similaridade da estrutura da comunidade nos diferentes tratamentos (C, CS, 0,01; 0,1; 0,5; 1 e 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e tempos (T15 e T30), com vetores da correlação de Person dos taxa da meiofauna encontrados, aonde o tamanho do vetor indica o valor da correlação de Pearson. O T15 está representado pelos símbolos preenchidos enquanto no T30 não preenchidos.



O tratamento com maior similaridade entre a fauna foi 0,1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (64,4%), seguindo de CS (59,11%), 0,01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (58,38%), C (57,83%), 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (55,30%), 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (52,76%) e 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (44,38%). Nos controles experimentais, bem como em 0,1; 0,5 e 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ os dois grupos responsáveis por contribuir com essa similaridade foi Copepoda e Naupli, sendo ainda possível observar que esta contribuição foi maior para os tratamentos com fenantreno, onde no caso de 0,1 e 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ essa contribuição ultrapassa 70%, enquanto nos controles não ultrapassa 55%. No tratamento de 0,01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ Nematoda e Copepoda são os grupos que mais contribuem para a similaridade observada nesse tratamento, e em 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ os táxons que mais contribuíram foram Nematoda e Turbellaria, que juntos, contribuem 61% para a similaridade neste tratamento.

As maiores dissimilaridades foram observadas entre os tratamentos de maior concentração de fenantreno (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e todos os demais tratamentos, com

dissimilaridade ultrapassando 53%. Em todos, Copepoda e Naupli contribuem com mais de 53%, tendo aumento nessa dissimilaridade quando comparamos 10 µg/mL com as demais concentrações de fenantreno.

4.3.4 Comparação da resposta da meiofauna entre os efeitos do microplástico (PS) e HPA (fenantreno)

Tendo em vista que o ambos os experimentos foram realizados no mesmo tempo experimental, e para ambos se utilizou os mesmos controles, é possível compararmos os efeitos dos dois estressores. No entanto, apenas o efeito é comparável já que as concentrações testadas não são equivalentes, porém possuem relevância ambiental semelhantes.

O padrão de respostas de ambos os estressores na densidade total da meiofauna demonstra que o impacto sobre a densidade da meiofauna foi severa após 15 dias de exposição aos estressores. A maior concentração de microplástico aqui testada (10^7 part./mL) é a única que causa danos a meiofauna, com densidade significativamente menor quando comparada ao C no T15. Para fenantreno, no T15, observamos que mesmo que não haja diferença entre os tratamentos com fenantreno e os controles, a densidade da meiofauna é significativamente menor em 10µg/mL do que nos demais tratamentos. Mas no T30, para ambos, a densidade da meiofauna não difere entre os tratamentos com os respectivos estressores ou dos estressores com o C. Embora esteja claro que a concentração não tenha sido um fator relevante para densidade quando comparamos com o C, vale a pena ressaltar que no T15 de ambos observamos um padrão de diminuição da densidade em relação ao C, no T30 para microplástico este mesmo padrão de diminuição é repetido, em contrapartida, um padrão de aumento em relação ao controle foi observado para as concentrações (0,1; 0,5 e 1µg/mL), e um de diminuição na maior concentração (10µg/mL) de fenantreno. Mesmo que a densidade não tenha sido um proxy sensível as diferentes concentrações testadas, o tempo de exposição demonstrou ser o principal causador de efeito para ambos os estressores investigados. A densidade total da meiofauna em T30 aumenta significativamente em comparação com o T15, no entanto, deve-se tomar cuidado, pois apesar do aumento, é interessante observamos quais grupos são mais representativos.

Nesse sentido, após 15 dias de exposição ao microplástico a partir de 10^4 part./mL houve perda significativa da riqueza de espécies em comparação ao C, sendo o impacto sobre a riqueza ainda mais forte em 10^7 part./mL, pois além de perda de Polychaeta, comum a todas as outras concentrações, neste tratamento houve o desaparecimento de

táxons raros (i.e: Acari, Oligochaeta, Ostracoda e Tardigrada). A riqueza de espécies não foi afetada após 15 dias de exposição ao fenantreno. Após 30 dias de exposição ao microplástico o impacto sobre a riqueza foi ainda mais severo, com perda de Polychaeta e Gastrotricha a partir da menor concentração (10^3 , 10^4 e 10^5 part./mL), enquanto para 10^6 part./mL e 10^7 part./mL o mesmo padrão do T15 foi observado. Para fenantreno, após 30 dias de exposição apenas 0,5 $\mu\text{g/mL}$ e 10 $\mu\text{g/mL}$ causaram impacto na comunidade da meiofauna. Em 0,5 $\mu\text{g/mL}$ houve desaparecimento de Polychaeta e Gastrotricha, enquanto em 10 $\mu\text{g/mL}$, além desses táxons, todos os grupos raros, também desapareceram. Assim, conseguimos notar que os microplásticos afetaram a riqueza de espécies após 15 dias exposição, enquanto para fenantreno, só conseguimos observar efeito após 30 dias de exposição. Ainda é importante salientar que Polychaeta demonstrou-se ser o mais sensível dos grupos, além de ser mais sensível ao microplástico, com seu desaparecimento nas menores concentrações e no primeiro tempo de exposição. Os táxons raros foram sensíveis as maiores concentrações de ambos os estressores, porém, mas sensível também ao microplástico, já que desapareceram também no primeiro tempo experimental.

Quanto aos índices de diversidade (J e H'), a presença do microplástico não causou diferença na equitabilidade da meiofauna, mesmo após 30 dias de exposição. Já na presença de fenantreno, notamos que a equitabilidade da meiofauna diminui com o aumento do tempo de exposição. E ainda que 10 $\mu\text{g/mL}$ apresenta uma equitabilidade significativamente maior do que 0,01; 0,1 e 1 $\mu\text{g/mL}$, mas não em relação ao C. Ainda assim, é possível notar que a menor equitabilidade no T30 é decorrente do desaparecimento de alguns táxons, em detrimento da dominância de outros. Já a maior equitabilidade em 10 $\mu\text{g/mL}$ se dá pelo fato de que os poucos grupos que permaneceram nesse tratamento possuem uma equitabilidade semelhante, e isto é possível porque ambos possuem um comportamento oportunista. O índice de diversidade de Shannon (H') diferiu temporalmente para ambos os tratamentos, sendo significativamente menor no T30. Porém, nenhum padrão claro foi observado para ambos os estressores. No T15, 10^5 e 10^6 part./mL possuem menor índice H' em comparação ao C, enquanto no T30 apenas 10^5 part./mL continuou menor em relação ao C. Apenas 0,1 $\mu\text{g/mL}$ de fenantreno possui menor índice H' comparativamente ao C.

Quando observamos a estrutura da comunidade da meiofauna, é notório que o tempo foi o fator que mais influenciou na dinâmica da comunidade quando expostos a ambos os estressores. No T15 os estressores correlacionam mais positivamente com diferentes grupos da meiofauna, enquanto no T30 há uma correlação mais forte de Copépoda e Naupli com os ambos os estressores.

Por fim, avaliando a distribuição e contribuição de cada grupo da meiofauna por tratamento, no C Copépoda e Naupli contribuem com 54,09% da similaridade. Nas menores concentrações de microplástico (10^3 e 10^4 part./mL) Nematoda e Turbellaria são os grupos que mais contribuem para essa similaridade, enquanto 10^5 , 10^6 e 10^7 part./mL Copepoda e Nematoda são os responsáveis pela maior similaridade dentro desses tratamentos, porém, é importante ressaltar, que para 10^7 part./mL Nematoda contribui mais do que Copépoda. Quando observamos fenantreno, os tratamentos de 0,1; 0,5 e 1 $\mu\text{g/mL}$ possuem o mesmo padrão visto no C, com a diferença de que nesses tratamentos, a contribuição na similaridade de Copepoda e Naupli é maior. Nematoda e Copepoda são os que mais contribuem em 0,01 $\mu\text{g/mL}$, enquanto em 10 $\mu\text{g/mL}$ foi Nematoda e Turbellaria.

4.4 Discussão

4.4.1 Estabilização experimental

No nosso estudo o controle ambiental (CAmb) e o controle após estabilização no laboratório (T0) foram estatisticamente diferentes em termos de abundância e riqueza de espécies, onde CAmb apresentou maior densidade de organismos por 10cm^2 e riqueza de espécies em comparação ao T0. Isto provavelmente pode está atrelado ao fato de que durante o processo de coleta até a chegada ao laboratório houve um estresse mecânico (GINGOLD; MOENS; ROCHA-OLIVARES, 2013; LINDGREN; HASSELLÖV; DAHLLÖF, 2012) reforçando a importância da estabilização antes da montagem do experimento (MONTEIRO *et al.*, 2019; VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018).

4.4.2 Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do PS na comunidade da meiofauna

As diferentes concentrações do MP PS não teve um efeito significativo na densidade da meiofauna, e apesar de um padrão de redução, com o aumento da concentração (ALLOUCHE *et al.*, 2022; ALLOUCHE; ISHAK; *et al.*, 2021; HEDFI *et al.*, 2022), apenas a maior concentração testada aqui (10^7 part./mL) causou uma redução após 15 dias significativamente diferente do controle experimental. Além das diferentes concentrações de MP não terem impacto significativo sobre a densidade da meiofauna, a exposição prolongada também parece não ter causado efeito, pois mesmo que após 15 dias a densidade da meiofauna tenha sido menor, o que já é esperado, tendo em vista que a meiofauna ainda pode está passando por um processo de recuperação pós

montagem experimental (LINDGREN; HASSELLÖV; DAHLLÖF, 2012; VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018), após 30 dias a densidade total aumenta, mas nenhum tratamento diferiu do controle, o que sugere que mesmo após 30 dias essas concentrações, e o tempo de exposição aqui testado, não causou danos a densidade da fauna.

Embora a densidade não tenha sido um proxy sensível as diferentes concentrações de MP, e a densidade total da meiofauna tenha aumentado com o aumento do tempo de exposição, é importante avaliarmos quais grupos predominaram nesses tratamentos, que permaneceram, e quais desapareceram. Tendo em vista isso, o táxon Polychaeta foi de longe, o mais sensível ao MP, uma vez que este desapareceu até mesmo nas menores concentrações, e este desaparecimento, se perpetuou ao longo do tempo de exposição. Polychaeta, desapareceu após apenas três dias de exposição ao MP e em uma concentração 1000 vezes mais baixa do que a mais baixa testada aqui (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022). Logo, apesar de ecologicamente Polychaeta ser tolerante a flutuações ambientais (GIERE, O, 2009) e a outros estressores (PUSCEDDU *et al.*, 2007; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022), ao MP Polychaeta foi o mais sensível, e embora não possamos entender os mecanismos por trás desse resultados, podemos sugerir que talvez os MP's tenham se aderidos aos apêndices cefálicos e locomotores tão robustos deste grupo (GUSMAO *et al.*, 2016), talvez impossibilitando locomoção e estratégia de alimentação, como já visto para outros grupos da meiofauna com apêndices locomotores desenvolvidos (SUWAKI; DE-LA-CRUZ; LOPES, R. M., 2020).

Além da inesperada sensibilidade de Polychaeta, outros grupos da meiofauna com sensibilidade conhecida a estresses antrópicos desapareceram com o aumento do tempo de exposição, no caso de Gastrotricha, e na maior concentração (10^7 pat./mL), no caso dos táxons raros (i.e: Acari, Oligochaeta, Ostracoda e Tardigrada). Todos esses táxons além da sensibilidade a diferentes impactos (BAGULEY *et al.*, 2015; GAMBI *et al.*, 2020; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022), incluindo MP (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022), possuem outras desvantagens em relação aos outros grupos da meiofauna, pois já possuem uma baixa densidade no ambiente natural (GIERE, O, 2009), os que os deixam sujeitos a desaparecerem pela sua dificuldade de competirem por espaço e recurso.

Outro resultado interessante neste estudo foi a persistência de Copépoda, Nauplii e Turbellaria. Apesar de não existir até o momento estudo avaliando Turbellaria em comunidade ou individualmente com MP, neste estudo Turbellaria se manteve em todos os tratamentos com MP, e no T15 junto com Nematoda, foi um dos mais abundantes, persistindo, apesar de menor abundância relativa, ao longo do tempo de exposição. Os turbelários sob exposição ao MP PS demonstrou grande sucesso e resistência ao longo do tempo, e isso pode ser atribuído ao seu hábito alimentar, já que alguns podem preda

outros táxons da meiofauna permitindo-os se sobressaírem em situações de competição por recurso e espaço (GIERE, O, 2009), mas comparando a outros estressores os turbelários tendem a ser mais sensíveis com redução significativa em sua densidade (VAFEIADOU, A. M. *et al.*, 2018) ou desaparecimento ao longo do tempo de exposição (GHOSH; MANDAL, 2021).

Os copépodos por outro lado, já foram amplamente avaliados monoespecificamente, quanto aos efeitos do MP. Concentrações a partir de 12,5µg/mL causaram atrasos no desenvolvimento e inibição da eclosão de ovos em copépodos marinhos bentônicos (YU, Juan *et al.*, 2020). Já foi observado também a diminuição na sobrevivência e fecundidade a partir de 1,25µg/mL (LEE, K.-W. *et al.*, 2013) nos copépodos marinhos intersticiais. De forma geral, os MP's podem também induzir estresse oxidativo (XIE, Dongmei *et al.*, 2022), se acumular e causar danos mecânicos (LI, Zhaochuan; ZHOU, H.; *et al.*, 2020; ZHANG, C. *et al.*, 2019), além de também ser transferido na cadeia trófica (COSTA, E. *et al.*, 2020b). Isso sugere que MP causa danos em copépoda bentônicos, mas aqui nenhuma concentração testada foi capaz de impactar os copépodos. Vale considerar que os estudos até o momento, foram realizados monoespecificamente, nosso estudo trás os efeitos do MP em comunidade, o que pode ter favorecido a manutenção desse grupo, já que o desaparecimento de outros grupos sensíveis ao MP pode ter gerado disponibilidade de recuso alimentar para os copépodos, que são principalmente alimentadores de detritos (GIERE, O, 2009).

A composição da estrutura da comunidade após 15 dias de exposição ao MP foi diferente da observada após 30 dias de exposição. Após 15 dias, Nematoda e Turbellaria possuem maior abundância relativa nos tratamentos com MP, enquanto o controle, possui maiores abundância de Copépoda e Nauplii. No T30, a comunidade da meiofauna está muito semelhante ao controle, com Copépoda e Nauplii sendo predominante. Isso pode sugerir que o MP pode ser mais danoso em um curto período de tempo (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022; JAAPAR; MD AMIN; *et al.*, 2021b; YU, Juan *et al.*, 2020). Mas, é importante ressaltar, que mesmo que a equitabilidade e estrutura da comunidade da meiofauna não tenha diferido do controle após 30 dias, e que a densidade se reestabeleceu, ainda assim, houve perda de diferentes grupos da meiofauna, com danos ainda mais pronunciados no tratamento de 10^7 part./mL, que desde o primeiro tempo experimental já tinha perdido metade dos grupos da meiofauna (Polychaeta, Acari, Oligochaeta, Ostracode e Tardigrade) quando comparado com o controle.

As concentrações de MP aqui testadas, exceto as duas maiores concentrações (10^6 e 10^7 part./mL) são concentrações ambientalmente relevantes, encontradas naturalmente no ambiente (HARRIS, 2020; HOSEINI; BOND, 2022; PABORTSAVA; LAMPITT, 2020;

SCHERER *et al.*, 2020). Apesar da densidade da meiofauna não ter sido impactada temporalmente pelas diferentes concentrações de MP, uma tendência de diminuição foi observada. Quanto aos índices de diversidade, o MP foi danoso, com perdas significativas, de grupos sensíveis, com o aumento da concentração e ao longo do tempo de exposição. Dessa forma, algum cuidado se deve ter quanto as interpretações dos efeitos do MP, pois mesmo que a densidade da meiofauna não tenha sido afetada, os índices de diversidades foram significativamente afetados por concentrações que já estão disponíveis naturalmente no ambiente.

4.4.3 Efeito de longa exposição a diferentes concentrações do HPA fenantreno na comunidade da meiofauna

O controle experimental e o controle do solvente não diferiram neste estudo, sendo assim, a acetona não foi tóxica para a meiofauna, o que já era esperado, tendo em vista que a acetona já foi utilizada como solvente de HPA em outros estudos experimentais com meiofauna (ALLOUCHE *et al.*, 2020; LOUATI *et al.*, 2014; SAID, BEN *et al.*, 2015). Além disso, a metodologia aplicada aqui evitou o total contato da acetona com a meiofauna, tendo em vista que utilizamos um período de 24h para evaporação, e já foi demonstrado que o período noturno já era suficiente (LOUATI *et al.*, 2014; SAID, BEN *et al.*, 2015).

Os HPA's são conhecidos por possuírem características físico-químicas que impactam diretamente a densidade da meiofauna, com reduções significativas com o aumento das concentrações testadas, devido ao grau de toxicidade destes compostos (BAGULEY *et al.*, 2015; FLEEGER, J W *et al.*, 2018; GHOSH; MANDAL, 2021; MONTEIRO *et al.*, 2019). Todavia, não observamos esse padrão neste estudo. Aqui, nenhuma concentração testada, nem mesmo a maior (10µg/mL) conseguiu impactar a densidade de organismos. Após 15 dias de exposição ao fenantreno 10µg/mL diminui a densidade total da meiofauna, porém, isso só foi significativo quando comparado com as outras concentrações testadas. Embora um padrão de diminuição seja observado após 15 dias, no T30 esse padrão se inverte para as concentrações intermediárias (0,1; 05, e 1µg/mL) onde notamos densidades maiores quando comparados com o controle, enquanto que 10µg/mL permanece com o mesmo padrão observado no T15. As concentrações testadas aqui não impactaram a densidade da meiofauna, porém, é importante ressaltar que, os estudos com HPA e meiofauna geralmente usam um mix de HPA, ou seja, o petróleo bruto, neste estudo, avaliamos apenas o fenantreno. Louati *et al.*, (2014) testou o HPA fenantreno na meiofauna, e reduções drásticas foram observadas, porém, este estudo utilizou uma concentração 10 vezes maior do que a

maior testada aqui (100µg/mL), o que não representa a realidade encontrada no ambiente natural.

Não houve um padrão claro observado quanto as concentrações aqui testadas na riqueza de espécies, equitabilidade e diversidade de Shannon. Apenas 0,5 e 10µg/mL diferiram na riqueza de espécies. Em ambas, o táxon Gastrotricha desapareceu, mas além de Gastrotricha, em 10µg/mL também houve desaparecimento de Polychaeta dos táxons raros (i.e: Acari, Oligochaeta, Ostracoda e Tardigrada). Inesperadamente, o fenantreno só impactou na riqueza de espécies após 30 dias de exposição, porém o desaparecimento desses grupos já foi observado por outros estudos, onde a presença de HPA's levou ao desaparecimento de táxons sensíveis como Gastrotricha, Ostracoda, e Tardigrada (GAMBI *et al.*, 2020; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022).

A diversidade de Shannon e o a equitabilidade da comunidade da meiofauna diferiu principalmente no tempo. Após 15 dias de exposição ao fenantreno, os índices de diversidade estavam mis altos do que após 30 dias. Este resultado reflete justamente a composição da comunidade nesses dois tempos experimentais. A comunidade da meiofauna no T15 estava mais bem distribuída, apesar de uma predominância de Nematoda, Copepoda e Turbellaria. Mas ainda assim, conseguíamos observar a presença de táxons raros em todos os tratamentos. Após 30 dias de exposição a comunidade é dominada por Copepoda e Nauplii, composto por 80% da abundância relativa no controle, e ultrapassando 95% da abundância relativa nos tratamentos com fenantreno (0,1; 0,5 e 1µg/mL). Essa predominância de dois únicos grupos e desaparecimento de táxons raros é responsável pela diminuição nos índices de diversidade (GAMBI *et al.*, 2020; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022).

A grande predominância de Copepoda e Nauplii (que provavelmente são de Copépoda, tendo em vista sua grande abundância) nos tratamentos com fenantreno foi inesperada, e seguiu um padrão diferente do que normalmente é observado em estudos experimentais, onde Copépoda apresenta grande sensibilidade com diminuição de sua densidade sob exposição a HPA'S (GHOSH; MANDAL, 2021; MONTAGNA *et al.*, 2013). Em contrapartida, em alguns estudos com derramamento de óleo os Copépodos bentônicos apresentaram resistência, mantendo suas densidades mesmo na presença de HPA' S(DANOVARO, Roberto *et al.*, 1995; FLEEGER, J W; CHANDLER, 1983), e o mesmo comportamento foi visto para copépodos planctônicos, onde estes sob exposição prolongada apresentou tolerância, com recuperação na sobrevivência e taxas de eclosão de ovos (KRAUSE; DINH; NIELSEN, 2017). Na comunidade de meiofauna, Copépoda juntamente com Nematoda foram os táxons que se recuperaram mais rapidamente após derramamento de petróleo bruto, ambos juntamente com os anelídeos compreendiam

quase 90% da comunidade da meiofauna (FLEEGER, J W *et al.*, 2018). Nesse sentido, Copépoda pode ter demonstrado tolerância ao HPA fenantreno tendo em vista seu poder de recuperação a impactos por HPA, e tendo em vista até mesmo a plasticidade evolutiva de Copépodas, que já foi evidenciado que pós derramamento da Deepwater Horizon de 2010 os Copépodas demonstraram evidência de evolução da tolerância ao petróleo bruto (LEE, C. E. *et al.*, 2017).

Desta forma, a alta abundância observadas nas concentrações do fenantreno (0,1; 0,5 e 1µg/mL) são justificadas pela grande densidade e predominância de Copépoda e Nauplii que demonstram tolerância as diferentes concentrações de fenantreno aqui investigadas. Embora essas concentrações tenham tido um padrão de aumento em relação ao controle, na maior concentração de fenantreno (10µg/mL) observamos um padrão de diminuição. E conseguimos também notar que a abundância relativa de Copépoda e Nauplii também diminuiu, dando espaço a Turbellaria. Portanto, apesar de Copépodas e Nauplii possuírem tolerância, talvez exista um limite de tolerância. Com a redução na abundância relativa de Copépoda e Nauplii, Turbellaria que persiste em todas as concentrações, porém em com baixa abundância relativa, ganha espaço em 10 µg/mL, representando 35% da abundância relativa. Turbellaria apresentou altas abundâncias sob exposição a HPA's (VEIGA; RUBAL; BESTEIRO, 2009), e já também demonstrou certo grau de tolerância a HPA's (GIERE, Olav, 1979), porém há uma escassez de estudo voltados a este grupo, assim, mais estudos são necessários.

Todas as concentrações aqui testadas são encontradas no ambiente natural (MACDONALD, 1994; MCCREADY *et al.*, 2006), até mesmo maior concentração em ambientes mais impactados (DUDHAGARA *et al.*, 2016). Dessa forma, este é o primeiro estudo testando concentrações realistas de fenantreno na comunidade da meiofauna marinha, pois o único estudo existente testou apenas uma concentração extremamente alta (100µg/mL) (LOUATI *et al.*, 2014). Portanto, fenantreno foi danoso à comunidade meiofaunística apenas após 30 dias de exposição e na maior concentração testada, e por mais que tenhamos observados apenas padrões na densidade total, os índices de diversidade foram afetados em um tempo de exposição mais prolongado (30 dias).

4.4.4 Comparação da resposta da meiofauna entre os efeitos do microplástico (PS) e HPA (fenantreno)

A densidade e os índices de diversidade são comumente utilizados como proxy para entendimento dos efeitos de estressores na comunidade da meiofauna (BALSAMO *et al.*, 2012; ZEPILLI *et al.*, 2015). A densidade inclusive se demonstrou sensível a

diferentes poluições químicas (BALSAMO *et al.*, 2012), porém neste estudo, a densidade não foi um proxy sensível. As concentrações de MP e fenantreno testadas aqui não impactaram a meiofauna, com ressalvas apenas para as maiores concentrações. Apesar de padrões claros observados para ambos os estressores, não houve diferença estatística significativa entre o controle e os tratamentos.

Embora a densidade da meiofauna tenha sido menos impactada, dois padrões observados para MP e fenantreno após 30 dias de exposição sugere mecanismos de ação desses estressores e resposta da meiofauna distintas e dependente da poluição. Para MP, um padrão de diminuição foi observado, condizente com outros estudos (ALLOUCHE; ISHAK; *et al.*, 2021; HEDFI *et al.*, 2022). Já para fenantreno, a menor concentração testada (0,01 µg/mL) não demonstrou nenhum padrão diferente do controle, porém nas concentrações 0,1; 0,5 e 1 µg/mL a densidade aumentou em comparação com o controle, demonstrando um efeito estimulatório, possivelmente adaptativo, mediante o estresse sofrido (CALABRESE; BALDWIN, 2002). Mas em 10 µg/mL, o mesmo padrão visualizado após 15 dias, foi observado após 30 dias, diminuição da abundância em relação ao controle. Resultado semelhante testando fenantreno em uma espécie de nematoide com concentrações parecidas também foi observado (PONTES *et al.*, 2021). Dessa forma, talvez com um maior tempo de exposição, esse padrão se tornasse mais claro, no entanto, podemos inferir que após 30 dias o MP parece ser mais danoso, tendo em vista que a meiofauna parece nem ter tido chance de adaptação, com todos os tratamentos com padrão claro de diminuição. Enquanto para o fenantreno, nas concentrações de 0,1; 0,5 e 1 µg/mL a meiofauna ainda conseguiu responder, e esta resposta foi observada com o aumento da densidade.

Quanto aos índices de diversidade, na riqueza de espécies, o MP foi também o mais danoso, tendo em vista que houve perda de grupos da meiofauna após 15 dias de exposição (10^4 a 10^7 part./mL), com danos ainda mais proeminentes após 30 dias, no qual a perda de grupos ocorreu desde a menor concentração de MP. Em contrapartida, o fenantreno foi danoso apenas após 30 dias, porém, só 0,5 e 10 µg/mL causaram desaparecimento de táxons. Um ponto em comum de ambos os estressores foi o fato de ambos na maior concentração testada causaram o desaparecimento de táxons raros (i.e: Acari, Oligochaeta, Ostracoda e Tardigrada), implicando que ambos afetam táxons sensíveis da meiofauna (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022; GAMBI *et al.*, 2020; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022). Quanto aos outros índices de diversidade, apesar de não haver padrão claro para ambos estressores, é importante notar que MP não afetou a equitabilidade dos grupos mesmo após 30 dias de exposição, já fenantreno após 30 dias foi observado uma clara dominância de Copépoda e Naupli principalmente nos

tratamentos contendo fenantreno. Isso implicou numa equitabilidade mais baixa após 30 dias.

Outro ponto importante que vale apenas ressaltar, foi a sensibilidade de Polychaeta a MP, e a resistência de Copépoda e Nauplii a ambos os estressores. Polychaeta desapareceu em todas as concentrações de MP aqui testadas, por outro lado, permaneceu em todas as concentrações, exceto 10 µg/mL de fenantreno. Que alguns Polychaetas são tolerantes a HPA's já se sabe, ele tende a aumentar em locais fortemente impactados por HPA tendo em vista sua tolerância a flutuações ambientais (PUSCEDDU *et al.*, 2007; SILVA, R. B. DA *et al.*, 2022). Sua sensibilidade a MP também já foi observada (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022), mas os mecanismos por trás desse achado ainda carece de mais estudos.

Os Copépodos e Nauplii por outro lado, vem sendo apontado com um grupo sensível tanto a HPA (LOUATI *et al.*, 2014; STRINGER *et al.*, 2012) quanto a MP (QUANBIN *et al.*, 2020; XIE, Dongmei *et al.*, 2022). Mas aqui, demonstrou ser tolerante a ambos. O padrão de distribuição desses dois grupos nos tratamentos com MP e nos tratamentos com fenantreno são distintos. Após 15 dias de exposição ao MP Copépoda e Nauplii não tinham abundâncias relativas altas, o T15 possuía mais predominância de Nematoda e Turbellaria. Mas sob exposição ao fenantreno após 15 dias já havia uma predominância desses dois grupos. Após 30 dias tanto em MP quanto em fenantreno os dois grupos predominaram, no entanto, na presença de MP ainda era possível observar a abundância relativa de Turbellaria, já em fenantreno a comunidade majoritariamente era composta por Copépoda e Nauplii, chegando a ultrapassar 95% em alguns tratamentos com fenantreno (0,01; 0,1 e 1 µg/mL). Isso pode sugerir que os Copépodos e Nauplii foram mais tolerantes ao fenantreno, e isso pode ser justificado com base no que foi discutido acima (Ver sessão 4.4.3-§.5).

Portanto, podemos notar que mesmo que MP seja uma partícula sólida, este pode causar danos tão significativos ou até mais pronunciado do que um composto químico, como o fenantreno. Ambos os estressores em concentrações ambientalmente relevantes parecem afetar mais os índices de diversidade do que a densidade de organismos. E isto, pode se configurar como sendo mais perigoso, uma vez que perder a diversidade de espécies, principalmente de grupos tão importante no bentos marinho, implica em todo um desequilíbrio ecossistêmico, uma vez que estes são base da cadeia trófica (SCHRATZBERGER; INGELS, 2018). Sendo assim, mais estudos em nível de comunidade são necessários, a escassez de estudo para meiofauna tanto testando MP (CORINALDESI, Cinzia *et al.*, 2022), quanto fenantreno (LOUATI *et al.*, 2014) não nos permite maiores entendimentos dos achados observados aqui, mas este estudo pode

somar esforços na compreensão mais completa de como a meiofauna se comporta perante dois estressores de mesma base de origem petrolífera.

4.5 Conclusão

Diferente do que foi hipotetizado anteriormente, os microplásticos foram mais danosos para a comunidade da meiofauna do que o HPA fenantreno. A partir de baixas concentrações de microplástico houve desaparecimento de táxons, com um efeito mais pronunciado a medida em que o tempo de exposição e concentração aumentaram. O efeito do fenantreno só foi observado após 30 dias de exposição, e apenas em duas concentrações testadas, uma intermediária (0,5 µg/mL) e a mais alta (10 µg/mL). Polychaeta foi sensível ao MP, mas tolerante ao fenantreno, tendo desaparecido apenas após 30 dias na concentração mais alta. Ambos tiveram uma estrutura da comunidade completamente distinta após 15 e 30 dias de exposição, e apesar de após 15 dias os efeitos sobre a densidade serem mais fortes, os índices de diversidade foram mais afetados em um tempo de incubação mais prolongado. O padrão observado na densidade e distribuição dos táxons para MP e fenantreno, sugere que estes estressores afetam a comunidade da meiofauna de maneira distinta, porém, esse achado não pode ser elucidado por este estudo, sendo necessários estudos em um tempo de incubação mais prolongado possivelmente. Porém, de qualquer forma, conseguimos concluir que concentrações de MP e fenantreno que são naturalmente encontradas do ambiente afetam a estrutura da comunidade da meiofauna marinha.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo deste estudo foi compreender os efeitos dos microplásticos e sua potencial toxicidade na meiofauna marinha, além de aumentar a compreensão sobre os efeitos dos microplásticos e proporcionar um direcionamento nas pesquisas futuras através dos resultados obtidos na revisão. Os estudos até o presente momento com MP e meiofauna possuem uma certa tendência na utilização do polímero poliestireno (PS) do tipo microesfera. Muito embora, tenhamos conseguido também observar que os polímeros mais densos, e que possuem maior importância ambiental, por serem os mais representativos no bentos, foram os mais danosos para a meiofauna. Outro ponto que também conseguimos observar foi que os parâmetros como crescimento, sobrevivência e reprodução foram os mais avaliados, mas foram parâmetros pouco afetados pelo MP, sendo possível perceber que os danos fisiológicos como o estresse oxidativo, foram mais pronunciados. Assim, sugerimos que estudos com polímeros mais densos (PET, PA, PVC) sejam conduzidos para entendimento mais realistas dos efeitos do MP, tanto individualmente, quanto no nível comunitário.

Embora o PS tenha sido um dos polímeros plásticos que menos afetou a meiofauna, é importante ressaltar que a maioria dos estudos incluídos na revisão foram realizados com uma única espécie, pertencente a um grupo da meiofauna, sendo assim, nossos resultados são limitados e não extrapolam interpretações em nível de comunidade. Portanto, a utilização desse polímero em nossos experimentos em nível de comunidade se torna completamente plausível. Uma exposição curta (9 dias) ao PS foi capaz de reduzir a densidade total da meiofauna, além de impactar diretamente táxons raros (Tardigrada, Acari e Ostracoda). Ainda, esse impacto foi mais pronunciado na menor concentração testada, enquanto que a maior concentração foi desde o segundo tempo experimental (6 dias) muito semelhante ao controle. Esse achado foi contrário ao que observamos quanto a ingestão de MP, que alinhado com o que vem sendo encontrado, a maior ingestão foi observada na maior concentração, e em todos os táxons avaliados (Nematoda, Turbellaria, Copépoda, Nauplii, Acari e Gastrotricha), com exceção de Tardigrada, que acumulou MP apenas nos apêndices locomotores. Acreditamos que na menor concentração, a meiofauna conseguiu evitar o MP, e ao evitando, acabou esgotando força metabólica, perda de recuso alimentar e espaço, isso explica porque as densidades são tão baixas, e perda de riqueza. Já na maior concentração, foi inevitável evitar o MP, isso culminou na alta ingestão, e conseqüentemente, ao ingerir MP os animais

provavelmente também ingeriram alimento e MP com alimento, uma vez que MP tende a se ligar a partículas orgânicas no meio, isso possivelmente explica a semelhança com o controle.

Quando observamos os efeitos do MP de longo prazo (30 dias), notamos que diferente do observado no de curto prazo, agora notamos um padrão de diminuição na densidade total da meiofauna e perda na riqueza de espécies na medida em que a concentração e tempo de exposição aumentam. Isso sugere que o aumento do tempo de exposição, mesmo na maior concentração que antes tornou possível a manutenção de oportunistas (Nematoda), a meiofauna é prejudicada, com baixa densidade e perda de metade dos táxons, na maior concentração. Além disso, observamos que MP que é uma partícula sólida, aparentemente inerte, pode ser tão tóxica ou até mais do que compostos químicos. Já que quando comparado os efeitos do MP e fenantreno nas mesmas condições experimentais, notamos danos mais severos na riqueza de espécies para MP, já que fenantreno só foi capaz de afetar a comunidade da meiofauna após 30 dias de exposição e na maior concentração, enquanto MP começou a demonstrar efeitos significativos após 15 dias, com intensificação após 30 dias.

REFERÊNCIAS

ACOSTA-COLEY, I. *et al.* Quantification of microplastics along the Caribbean Coastline of Colombia: Pollution profile and biological effects on *Caenorhabditis elegans*. **Marine Pollution Bulletin**, 2019a. v. 146, n. June, p. 574–583.

ALLOUCHE, M. *et al.* Migratory behavior of free-living marine nematodes surrounded by sediments experimentally contaminated by mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of King Saud University-Science**, 2020. v. 32, n. 2, p. 1339–1345.

ALLOUCHE, M.; ISHAK, S.; *et al.* What Is the Impact of Microplastics and Lipid Regulators on Marine Meiofauna? Case Study of Polyvinyl Chloride, Atorvastatin, and Simvastatin. **Sustainability**, 2021. v. 13, n. 23, p. 13190.

ALLOUCHE, M.; NASRI, A.; *et al.* Meiobenthic nematode *Oncholaimus campylocercoides* as a model in laboratory studies: selection, culture, and fluorescence microscopy after exposure to phenanthrene and chrysene. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021. p. 1–14.

ALLOUCHE, M. *et al.* Molecular interactions of polyvinyl chloride microplastics and beta-blockers (Diltiazem and Bisoprolol) and their effects on marine meiofauna: Combined in vivo and modeling study. **Journal of Hazardous Materials**, 2022. v. 431, p. 128609.

AMELIA, T. A. N. S. M. A. Y. *et al.* UPTAKE AND EGESTION OF POLYHYDROXYALKANOATE MICROBEADS. **Journal of Sustainability Science and Management**, 2020. v. 15, n. 4, p. 45–53.

AMELIA, T. S. M. *et al.* Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. **Progress in Earth and Planetary Science**, 2021. v. 8, n. 1, p. 1–26.

AN, D. *et al.* Size-dependent chronic toxicity of fragmented polyethylene microplastics to *Daphnia magna*. **Chemosphere**, 2021. v. 271, p. 129591.

ANDERSON, M. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. **Primer-E Limited.**, 2008.

APIRATIKUL, R.; PONGPIACHAN, S.; HASHMI, M. Z. Health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal soils of Koh Samed Island (Thailand) after the oil spill incident in 2013. **Marine pollution bulletin**, 2020. v. 150, p. 110736.

ARTHUR, C.; BAKER, J. E.; BAMFORD, H. A. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris, September 9-11, 2008, University of Washington Tacoma, Tacoma, WA, USA. 2009.

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

BAGULEY, J. G. *et al.* Community response of deep-sea soft-sediment metazoan meiofauna to the Deepwater Horizon blowout and oil spill. **Marine Ecology Progress Series**, 2015. v. 528, p. 127–140.

BALSAMO, M. *et al.* Meiofauna as a tool for marine ecosystem biomonitoring. **Marine ecosystems**, 2012. v. 4, p. 77–104.

BARDI, L. *et al.* Hydrocarbon degradation by a soil microbial population with β -cyclodextrin as surfactant to enhance bioavailability. **Enzyme and Microbial technology**, 2000. v. 27, n. 9, p. 709–713.

BARNES, D. K. A. *et al.* Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. **Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences**, 2009. v. 364, n. 1526, p. 1985–1998.

BEJGARN, Sofia *et al.* Toxicity of leachate from weathering plastics: An exploratory screening study with *Nitocra spinipes*. **Chemosphere**, 2015a. v. 132, p. 114–119. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.010>>.

BERMÚDEZ, J. R.; SWARZENSKI, P. W. A microplastic size classification scheme aligned with universal plankton survey methods. **MethodsX**, 2021. v. 8, p. 101516.

BESSELING, E. *et al.* Effects of microplastic on fitness and PCB bioaccumulation by the lugworm *Arenicola marina* (L.). **Environmental science & technology**, 2013. v. 47, n. 1, p. 593–600.

BONGERS, T.; BONGERS, M. Functional diversity of nematodes. **Applied soil ecology**, 1998. v. 10, n. 3, p. 239–251.

BONGERS, T; FERRIS, H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. **Trends in Ecology & Evolution**, 1999. v. 14, n. 6, p. 224–228.

BOOTS, B.; RUSSELL, C. W.; GREEN, D. S. Effects of microplastics in soil ecosystems: above and below ground. **Environmental science & technology**, 2019. v. 53, n. 19, p. 11496–11506.
BRANDON, A. M. *et al.* Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. **Environmental science & technology**, 2018. v. 52, n. 11, p. 6526–6533.

BROWNE, M. A. *et al.* Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. **Environmental science & technology**, 2011. v. 45, n. 21, p. 9175–9179.

BUCCI, K; T, M.; ROCHMAN, C M. What is known and unknown about the effects of plastic pollution: A meta-analysis and systematic review. **Ecological Applications**, 2020. v. 30, n. 2, p. e02044.

BUCCI, Kennedy; ROCHMAN, Chelsea M. Microplastics: a multidimensional contaminant requires a multidimensional framework for assessing risk. **Microplastics and Nanoplastics**, 2022. v. 2, n. 1, p. 7.

BUCK, J. C.; WEINSTEIN, S. B.; YOUNG, H. S. Ecological and evolutionary consequences of parasite avoidance. **Trends in ecology & evolution**, 2018. v. 33, n. 8, p. 619–632.
CALABRESE, E. J.; BALDWIN, L. A. Defining hormesis. **Human & experimental toxicology**, 2002. v. 21, n. 2, p. 91–97.

CARRASCO-NAVARRO, V. *et al.* Toxicity of tire rubber microplastics to freshwater sediment organisms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 2022. v. 82, n. 2, p. 180–190.

CASTILLO, A. B.; AL-MASLAMANI, I.; OBBARD, J. P. Prevalence of microplastics in the marine waters of Qatar. **Marine pollution bulletin**, 2016. v. 111, n. 1–2, p. 260–267.

CASTRO, G. B.; BERNEGOSI, A. C.; PINHEIRO, F. R.; *et al.* The silent harm of polyethylene microplastics: Invertebrates growth inhibition as a warning of the microplastic pollution in continental waters. **Limnologica**, 2022a. v. 93, p. 125964.

CASTRO, G.B *et al.* Polyethylene microplastics and substrate availability can affect emergence responses of the freshwater insect *Chironomus sancticarloi*. **Ecotoxicology**, 2022. v. 31, n. 4, p. 679–688.

CASTRO, G. B.; BERNEGOSI, A. C.; PINHEIRO, F. R.; *et al.* The silent harm of polyethylene microplastics: Invertebrates growth inhibition as a warning of the microplastic pollution in

continental waters. **Limnologia**, 2022b. v. 93, n. November 2021, p. 125964. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.limno.2022.125964>>.

CAUWENBERGHE, L. VAN *et al.* Microplastics in sediments: a review of techniques, occurrence and effects. **Marine environmental research**, 2015. v. 111, p. 5–17.

CERNIGLIA, C. E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Current opinion in biotechnology**, 1993. v. 4, n. 3, p. 331–338.

CHEN, Haibo *et al.* Transgenerational neurotoxicity of polystyrene microplastics induced by oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, 2021. v. 272, p. 129642.

CHEN, M. *et al.* Assessment of microplastics derived from mariculture in Xiangshan Bay, China. **Environmental Pollution**, 2018. v. 242, p. 1146–1156.

CHEN, W.; YE, X.; *et al.* Cyanidin-3-O-glucoside reduces nanopolystyrene-induced toxicity and accumulation: Roles of mitochondrial energy metabolism and cellular efflux. **Environmental Science: Nano**, 2022.

CHOI, J. S.; HONG, S. H.; PARK, J.-W. Evaluation of microplastic toxicity in accordance with different sizes and exposure times in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Marine environmental research**, 2020a. v. 153, p. 104838.

CHU, Q. *et al.* Fecal microbiota transplantation attenuates nano-plastics induced toxicity in *Caenorhabditis elegans*. **Science of the Total Environment**, 2021. v. 779, p. 146454. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146454>>.

CLARKE, K. R.; GORLEY, R. N. **PRIMER v6: user manual**. Tutorial.

CLEMENTS, W. H.; ROHR, J. R. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, 2009. v. 28, n. 9, p. 1789–1800.

COHEN, J. H.; MCCORMICK, L. R.; BURKHARDT, S. M. Effects of dispersant and oil on survival and swimming activity in a marine copepod. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 2014. v. 92, p. 381–387.

COMMAND, D. H. I. U. **Deepwater Horizon MC252 Response**:. [S.l.]: Unified Area Command, 2010.

CORINALDESI, Cinzia *et al.* Organic enrichment can increase the impact of microplastics on meiofaunal assemblages in tropical beach systems. **Environmental Pollution**, 2022. v. 292, p. 118415.

COSTA, E. *et al.* Trophic transfer of microplastics from copepods to jellyfish in the marine environment. **Frontiers in Environmental Science**, 2020a. v. 8, p. 571732.

COULL, B. C.; CHANDLER, G. T. Pollution and meiofauna: field, laboratory, and mesocosm studies. **Oceanography and Marine Biology: An Annual Review**, 1992.

CULLEN, D. J. Bioturbation of superficial marine sediments by interstitial meiobenthos. **Nature**, 1973. v. 242, n. 5396, p. 323–324.

DAI, Z. *et al.* Occurrence of microplastics in the water column and sediment in an inland sea affected by intensive anthropogenic activities. **Environmental pollution**, 2018. v. 242, p. 1557–1565.

DANOVARO, Roberto *et al.* Meiofauna of the deep Eastern Mediterranean Sea: distribution and abundance in relation to bacterial biomass, organic matter composition and other environmental factors. **Progress in oceanography**, 1995. v. 36, n. 4, p. 329–341.

DANOVARO, R. **Methods for the study of deep-sea sediments, their functioning and biodiversity**. [S.l.]: CRC press, 2009.

DING, J. *et al.* Accumulation, tissue distribution, and biochemical effects of polystyrene microplastics in the freshwater fish red tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Environmental pollution**, 2018. v. 238, p. 1–9.

DINH, K. V *et al.* Interactive effects of extreme temperature and a widespread coastal metal contaminant reduce the fitness of a common tropical copepod across generations. **Marine Pollution Bulletin**, 2020. v. 159, p. 111509.

DISNER, G. R.; TORRES, M. The environmental impacts of 2019 oil spill on the Brazilian coast: Overview. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, 2020.

DONG, S. *et al.* Combinational effect of titanium dioxide nanoparticles and nanopolystyrene particles at environmentally relevant concentrations on nematode *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2018. v. 161, p. 444–450.

DUDHAGARA, D. R. *et al.* Distribution, sources and ecological risk assessment of PAHs in historically contaminated surface sediments at Bhavnagar coast, Gujarat, India. **Environmental pollution**, 2016. v. 213, p. 338–346.

ERIKSEN, M. *et al.* Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. **PLoS one**, 2014. v. 9, n. 12, p. e111913.

ERNI-CASSOLA, G. *et al.* Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis. **Journal of hazardous materials**, 2019. v. 369, p. 691–698.

EROFEEVA, E. A. Environmental hormesis: from cell to ecosystem. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, 2022. p. 100378.

EUROPE, P. Plastics—the facts: an analysis of European plastics production, demand and waste data. **Plastics Europe, Brussels** https://www.plasticseurope.org/download_file/force/2367/181. Accessed, 2019. v. 11.

FABRA, M. *et al.* The plastic Trojan horse: Biofilms increase microplastic uptake in marine filter feeders impacting microbial transfer and organism health. **Science of the Total Environment**, 2021. v. 797, p. 149217.

FAJARDO, C. *et al.* Assessing the role of polyethylene microplastics as a vector for organic pollutants in soil: Ecotoxicological and molecular approaches. **Chemosphere**, 2022. v. 288, p. 132460.

FICOCIELLO, G. *et al.* Molecular and cellular responses to short exposure to bisphenols A, F, and S and eluates of microplastics in *C. elegans*. **Environmental Science and Pollution Research**, 2021. v. 28, n. 1, p. 805–818.

FISNER, M. *et al.* Colour spectrum and resin-type determine the concentration and composition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in plastic pellets. **Marine pollution bulletin**, 2017. v. 122, n. 1–2, p. 323–330.

FLEEGER, J W *et al.* Recovery of saltmarsh meiofauna six years after the Deepwater Horizon oil spill. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 2018. v. 502, p. 182–190.

FLEEGER, J W; CHANDLER, G. T. Meiofauna responses to an experimental oil spill in a Louisiana salt marsh. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 1983. v. 11, p. 257–264.

FOLEY, C. J. *et al.* A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. **Science of the total environment**, 2018. v. 631, p. 550–559.

FRANZELLITTI, S. *et al.* Microplastic exposure and effects in aquatic organisms: a physiological perspective. **Environmental toxicology and pharmacology**, 2019. v. 68, p. 37–51.

FRYDKJÆR, C. K.; IVERSEN, N.; ROSLEV, P. Ingestion and egestion of microplastics by the Cladoceran *Daphnia magna*: effects of regular and irregular shaped plastic and Sorbed Phenanthrene. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, 2017. v. 99, n. 6, p. 655–661.

FUESER, Hendrik *et al.* Ingestion of microplastics by nematodes depends on feeding strategy and buccal cavity size. **Environmental Pollution**, 2019. v. 255, p. 113227.

FUESER, H *et al.* Food bacteria and synthetic microparticles of similar size influence pharyngeal pumping of *Caenorhabditis elegans*. **Aquatic Toxicology**, 2021. v. 235, p. 105827.

FUESER, H *et al.* Polystyrene microbeads influence lipid storage distribution in *C. elegans* as revealed by coherent anti-Stokes Raman scattering (CARS) microscopy. **Environmental Pollution**, 2022. v. 294, p. 118662.

FUESER, H; MUELLER, M.-T.; TRAUNSPURGER, Walter. Ingestion of microplastics by meiobenthic communities in small-scale microcosm experiments. **Science of The Total Environment**, 2020a. v. 746, p. 141276.

FUESER, H *et al.* Rapid ingestion and egestion of spherical microplastics by bacteria-feeding nematodes. **Chemosphere**, 2020b. v. 261, p. 128162.

GAGO, J. *et al.* Ingestion of plastic debris (macro and micro) by longnose lancetfish (*Alepisaurus rostratus*) in the North Atlantic Ocean. **Regional Studies in Marine Science**, 2020. v. 33, p. 100977.

GALLOWAY, T. S.; COLE, M.; LEWIS, C. Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem. **Nature ecology & evolution**, 2017. v. 1, n. 5, p. 116.

GAMBI, C. *et al.* Impact of historical contamination on meiofaunal assemblages: The case study of the Bagnoli-Coroglio Bay (southern Tyrrhenian Sea). **Marine environmental research**, 2020. v. 156, p. 104907.

GAO, Z. *et al.* A battery of baseline toxicity bioassays directed evaluation of plastic leachates—Towards the establishment of bioanalytical monitoring tools for plastics. **Science of The Total Environment**, 2022. v. 828, p. 154387.

GEWERT, B.; MACLEOD, Matthew; BREITHOLTZ, Magnus. Variability in toxicity of plastic leachates as a function of weathering and polymer type: a screening study with the copepod *Nitocra spinipes*. **The Biological Bulletin**, 2021. v. 240, n. 3, p. 191–199.

GHOSH, M.; MANDAL, S. Deciphering the synergistic impact of elevated temperature and oil pollution on meiobenthic community structure: A benthocosm study. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2021. v. 207, p. 111549.

GIERE, O. **The microscopic motile fauna of aquatic sediments. Meiobenthology.** Berlin/Heidelberg, Germany: Springer.

GIERE, Olav. The impact of oil pollution on intertidal meiofauna. Field studies after the La Coruna-spill, May 1976. **Cahiers de Biologie marine**, 1979. v. 20, p. 231–251.

GINGOLD, R.; MOENS, T.; ROCHA-OLIVARES, A. Assessing the Response of Nematode Communities to Climate Change-Driven Warming: A Microcosm Experiment. **PLoS ONE**, 2013. v. 8, n. 6, p. e66653.

GODDARD, K. Microplastics, Marine Copepods & Freshwater Cladocerans: Investigations for

College Biology Laboratory Classes. **AMERICAN BIOLOGY TEACHER**, 2022. v. 84, n. 4, p. 223–228.

GONZÁLEZ-PLEITER, M. *et al.* Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments. **Environmental Science: Nano**, 2019. v. 6, n. 5, p. 1382–1392.

GOUIN, T. Toward an improved understanding of the ingestion and trophic transfer of microplastic particles: critical review and implications for future research. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 2020. v. 39, n. 6, p. 1119–1137.

GREEN, D. S. *et al.* Effects of conventional and biodegradable microplastics on a marine ecosystem engineer (*Arenicola marina*) and sediment nutrient cycling. **Environmental pollution**, 2016. v. 208, p. 426–434.

GRISSE, D. Redescription ou modification de quelques techniques utilisées dans l'étude des nématodes phytoparasitaires. **Mededelingen van de Rijks Faculteit Landbouwwetenschappen Gent**, 1969. v. 34, p. 351.

GUIDETTI, R. *et al.* Form and function of the feeding apparatus in Eutardigrada (Tardigrada). **Zoomorphology**, 2012. v. 131, p. 127–148.

GUSMÃO, F. *et al.* In situ ingestion of microfibrils by meiofauna from sandy beaches. **Environmental Pollution**, 2016. v. 216, p. 584–590.

HAEGERBAEUMER, A. *et al.* Impacts of micro- and nano-sized plastic particles on benthic invertebrates: a literature review and gap analysis. **Frontiers in Environmental Science**, 2019. v. 7, p. 17.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. [S.l.]: Oxford university press, USA, 2015.

HARRIS, P. T. The fate of microplastic in marine sedimentary environments: a review and synthesis. **Marine Pollution Bulletin**, 2020. v. 158, p. 111398.

HARRISON, J. P. *et al.* Microplastic-associated biofilms: a comparison of freshwater and marine environments. **Freshwater microplastics: emerging environmental contaminants?**, 2018. p. 181–201.

HEDFI, A. *et al.* The exposure to polyvinyl chloride microplastics and chrysene induces multiple changes in the structure and functionality of marine meiobenthic communities. **Journal of Hazardous Materials**, 2022. p. 129161.

HELLOU, J. Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. **Environmental Science and Pollution Research**, 2011. v. 18, p. 1–11.

HOLMES, L. A.; TURNER, A.; THOMPSON, R. C. Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. **Marine Chemistry**, 2014. v. 167, p. 25–32.

HOSEINI, M.; BOND, T. Predicting the global environmental distribution of plastic polymers. **Environmental Pollution**, 2022. v. 300, p. 118966.

HOSS, S. *et al.* Food availability is crucial for effects of 1- μ m polystyrene beads on the nematode *Caenorhabditis elegans* in freshwater sediments. Ecosa, Giselstr 6, D-82319 Starnberg, Germany: **CHEMOSPHERE**, 2022. v. 298.

HU, L. *et al.* Microplastics in small waterbodies and tadpoles from Yangtze River Delta, China. **Environmental science & technology**, 2018. v. 52, n. 15, p. 8885–8893.

HUANG, C.-W. *et al.* Nanoplastic exposure in soil compromises the energy budget of the soil nematode *C. elegans* and decreases reproductive fitness. **Environmental Pollution**, 2022. v. 312, p. 120071.

HUANG, Danlian *et al.* Research progress of microplastics in soil-plant system: ecological effects and potential risks. **Science of the Total Environment**, 2022. v. 812, p. 151487.

HUANG, G. *et al.* Evaluation of nanoplastics toxicity in the soil nematode *Caenorhabditis elegans* by iTRAQ-based quantitative proteomics. **Science of The Total Environment**, 2023. v. 862, p. 160646.

JAAPAR, A. N.; MD AMIN, R.; *et al.* Changes in the development and reproductive output of *Nitokra lacustris pacifica* (Crustacea: Copepoda) Yeatman, 1983 under short and long term exposure to synthetic and biodegradable microbeads. **Journal of Polymers and the Environment**, 2021a. v. 29, n. 12, p. 4060–4072.

JAIKUMAR, G. *et al.* Reproductive toxicity of primary and secondary microplastics to three cladocerans during chronic exposure. **Environmental Pollution**, 2019. v. 249, p. 638–646. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.085>>.

JAMBECK, J. R. *et al.* Plastic waste inputs from land into the ocean. **Science**, 2015. v. 347, n. 6223, p. 768–771.

JEONG, C. B. *et al.* Microplastic Size-Dependent Toxicity, Oxidative Stress Induction, and p-JNK and p-p38 Activation in the Monogonont Rotifer (*Brachionus koreanus*). **Environmental Science and Technology**, 2016. v. 50, n. 16, p. 8849–8857.

JI, Z. *et al.* Effects of pristine microplastics and nanoplastics on soil invertebrates: A systematic review and meta-analysis of available data. **Science of the Total Environment**, 2021. v. 788, p. 147784.

JUDY, J. D. *et al.* Microplastics in municipal mixed-waste organic outputs induce minimal short to long-term toxicity in key terrestrial biota. **Environmental Pollution**, 2019. v. 252, p. 522–531.

KAISER, D.; KOWALSKI, N.; WANIEK, J. J. Effects of biofouling on the sinking behavior of microplastics. **Environmental research letters**, 2017. v. 12, n. 12, p. 124003.

KANG, H. M. *et al.* Arsenic exposure combined with nano- or microplastic induces different effects in the marine rotifer *Brachionus plicatilis*. **Aquatic Toxicology**, 2021. v. 233, n. February, p. 105772. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2021.105772>>.

KANG, T.; KIM, Dongsung; OH, J. H. Ingestion of microplastics by free-living marine nematodes, especially *Enoplolaimus* spp., in Mallipo Beach, South Korea. **Plankton and Benthos Research**, 2021. v. 16, n. 2, p. 109–117.

KATAOKA, T. *et al.* Assessment of the sources and inflow processes of microplastics in the river environments of Japan. **Environmental pollution**, 2019. v. 244, p. 958–965.

KELPSIENE, E. *et al.* Long-term exposure to nanoplastics reduces life-time in *Daphnia magna*. **Scientific reports**, 2020. v. 10, n. 1, p. 5979.

KHAN, F. R. *et al.* Influence of polyethylene microplastic beads on the uptake and localization of silver in zebrafish (*Danio rerio*). **Environmental pollution**, 2015. v. 206, p. 73–79.

KIM, H. M. *et al.* Uptake of nanopolystyrene particles induces distinct metabolic profiles and toxic effects in *Caenorhabditis elegans*. **Environmental pollution**, 2019. v. 246, p. 578–586.

KIM, K. *et al.* Chronic effects of nano and microplastics on reproduction and development of marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2022. v. 243,

p. 113962.

KIM, S. W. *et al.* Size-dependent effects of polystyrene plastic particles on the nematode *Caenorhabditis elegans* as related to soil physicochemical properties. **Environmental Pollution**, 2020. v. 258, p. 113740.

KIM, S. W. *et al.* Time-dependent toxicity of tire particles on soil nematodes. **Frontiers in Environmental Science**, 2021. p. 414.

KIYAMA, Y.; MIYAHARA, K.; OHSHIMA, Y. Active uptake of artificial particles in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Journal of experimental biology**, 2012. v. 215, n. 7, p. 1178–1183.

KRAUSE, K. E.; DINH, K. V; NIELSEN, T. G. Increased tolerance to oil exposure by the cosmopolitan marine copepod *Acartia tonsa*. **Science of the Total Environment**, 2017. v. 607, p. 87–94.

KUPPUSAMY, S. *et al.* An overview of total petroleum hydrocarbons. **Total Petroleum Hydrocarbons: Environmental Fate, Toxicity, and Remediation**, 2020. p. 1–27.

LAGOS, A. M. *et al.* Effects of microplastics pollution on the abundance and composition of interstitial meiofauna. **Revista de Biología Tropical**, 2023. v. 71, n. 1, p. e50031–e50031.

LAHIVE, E. *et al.* Microplastic particles reduce reproduction in the terrestrial worm *Enchytraeus crypticus* in a soil exposure. **Environmental Pollution**, 2019. v. 255, p. 113174.

LEE, C. E. *et al.* Evolutionary responses to crude oil from the Deepwater Horizon oil spill by the copepod *Eurytemora affinis*. **Evolutionary applications**, 2017. v. 10, n. 8, p. 813–828.

LEE, K.-W. *et al.* Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Environmental science & technology**, 2013. v. 47, n. 19, p. 11278–11283.

LEI, L.; WU, S.; *et al.* Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans*. **Science of the total environment**, 2018. v. 619, p. 1–8.

LIU, Mengting; *et al.* Polystyrene (nano) microplastics cause size-dependent neurotoxicity, oxidative damage and other adverse effects in *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Science: Nano**, 2018. v. 5, n. 8, p. 2009–2020.

LERDA, D. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) factsheet. **Belgium, Joint Research Centre, European Commission**, 2011. p. 34.

LI, Dan; JI, J.; *et al.* Toxicity comparison of nanopolystyrene with three metal oxide nanoparticles in nematode *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, 2020. v. 245, p. 125625.

LI, Dan *et al.* Assessment of nanopolystyrene toxicity under fungal infection condition in *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2020. v. 197, p. 110625.

LI, J.; SONG, Y.; CAI, Y. Focus topics on microplastics in soil: analytical methods, occurrence, transport, and ecological risks. **Environmental Pollution**, 2020. v. 257, p. 113570.

LI, X.; HU, J.; *et al.* Joint toxic effects of polystyrene nanoparticles and organochlorine pesticides (chlordane and hexachlorocyclohexane) on *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Science: Nano**, 2020. v. 7, n. 10, p. 3062–3073.

LI, Zhaochuan; ZHOU, H.; *et al.* Acute and chronic combined effect of polystyrene microplastics and dibutyl phthalate on the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Chemosphere**, 2020. v. 261, p. 127711.

LIN, D. *et al.* Microplastics negatively affect soil fauna but stimulate microbial activity: insights from a field-based microplastic addition experiment. **Proceedings of the Royal Society B**, 2020. v. 287, n. 1934, p. 20201268.

LINDGREN, J. F.; HASSELLÖV, I.-M.; DAHLLÖF, I. Meiofaunal and bacterial community response to diesel additions in a microcosm study. **Marine pollution bulletin**, 2012. v. 64, n. 3, p. 595–601.

LITHNER, D.; LARSSON, Å.; DAVE, G. Environmental and health hazard ranking and assessment of plastic polymers based on chemical composition. **Science of the total environment**, 2011. v. 409, n. 18, p. 3309–3324.

LIU, H.; KWAK, J. II; *et al.* Multigenerational effects of polyethylene terephthalate microfibers in *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Research**, 2021. v. 193, p. 110569.

LIU, H; TIAN, L.; *et al.* Size-dependent transgenerational toxicity induced by nanoplastics in nematode *Caenorhabditis elegans*. **Science of The Total Environment**, 2021. v. 790, p. 148217.

LIU, Qianyun *et al.* Neurodevelopmental toxicity of polystyrene nanoplastics in *Caenorhabditis elegans* and the regulating effect of presenilin. **ACS omega**, 2020. v. 5, n. 51, p. 33170–33177.

LIU, Z. Q. *et al.* Polystyrene nanoplastic exposure induces immobilization, reproduction, and stress defense in the freshwater cladoceran *Daphnia pulex*. **CHEMOSPHERE**, 2019. v. 215, p. 74–81.

LORENZO, T. DI *et al.* Ingestion of Microplastics and Textile Cellulose Particles by Some Meiofaunal Taxa of an Urban Stream. **Available at SSRN 4151482**, [s.d.].

LOTUFO, G. R. Toxicity of sediment-associated PAHs to an estuarine copepod: effects on survival, feeding, reproduction and behavior. **Marine environmental research**, 1997. v. 44, n. 2, p. 149–166.

LOUATI, H. *et al.* Biostimulation as an attractive technique to reduce phenanthrene toxicity for meiofauna and bacteria in lagoon sediment. **Environmental Science and Pollution Research**, 2014. v. 21, n. 5, p. 3670–3679.

LU, Yifeng *et al.* Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. **Environmental science & technology**, 2016. v. 50, n. 7, p. 4054–4060.

LYU, K. *et al.* The thermal regime modifies the response of aquatic keystone species *Daphnia* to microplastics: Evidence from population fitness, accumulation, histopathological analysis and candidate gene expression. **Science of The Total Environment**, 2021. v. 783, p. 147154.

MACDONALD, D. D. **Development and evaluation of sediment quality assessment guidelines, v. 1 of.** Approach to the assessment of sediment quality in Florida coastal water

MAO, X. *et al.* The impact of microplastic pollution on ecological environment: A review. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, 2022. v. 27, n. 2, p. 46.

MARTÍN, C. *et al.* Bioassays to assess the ecotoxicological impact of polyethylene microplastics and two organic pollutants, simazine and ibuprofen. **Chemosphere**, 2021. v. 274, p. 129704.

MATTSSON, K.; HANSSON, L. A.; CEDERVALLA, T. Processes & Impacts. [s.d.].

MCCREADY, S. *et al.* An evaluation of Australian sediment quality guidelines. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 2006. v. 50, n. 3, p. 306–315.

MOENS, T. *et al.* Diatom feeding across trophic guilds in tidal flat nematodes, and the importance of diatom cell size. **Journal of Sea Research**, 2014. v. 92, p. 125–133.

MOENS, T; VERBEECK, L.; VINCX, M. Preservation and incubation time-induced bias in tracer-aided grazing studies on meiofauna. **Marine Biology**, 1999. v. 133, p. 69–77.

MONTAGNA, P. A. *et al.* Deep-sea benthic footprint of the Deepwater Horizon blowout. **PloS one**, 2013. v. 8, n. 8, p. e70540.

MONTEIRO, L. *et al.* Effects of the water-soluble fraction of a crude oil on freshwater meiofauna and nematode assemblages. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2019. v. 176, p. 186–195.

MUELLER, M.-T.; FUESER, Hendrik; TRAC, L. N.; *et al.* Surface-related toxicity of polystyrene beads to nematodes and the role of food availability. **Environmental Science & Technology**, 2020. v. 54, n. 3, p. 1790–1798.

MUELLER, MT; FUESER, H; HÖSS, S.; *et al.* Species-specific effects of long-term microplastic exposure on the population growth of nematodes, with a focus on microplastic ingestion. **Ecological Indicators**, 2020. v. 118, p. 106698.

MÜLLER, C. A. *et al.* Meiofaunal diversity in the Atlantic Forest soil: A quest for nematodes in a native reserve using eukaryotic metabarcoding analysis. **Forest Ecology and Management**, 2019. v. 453, p. 117591.

MURANO, C. *et al.* Impact of microbial colonization of polystyrene microbeads on the toxicological responses in the sea urchin *Paracentrotus lividus*. **Environmental Science & Technology**, 2021. v. 55, n. 12, p. 7990–8000.

MURRELL, M. C.; FLEEGER, John W. Meiofauna abundance on the Gulf of Mexico continental shelf affected by hypoxia. **Continental Shelf Research**, 1989. v. 9, n. 12, p. 1049–1062.

NADLER, A. M. Effects of Crude Oil on Tumor Suppressor p53 Polymorphisms in Laboratory-Exposed Atlantic Killifish, *Fundulus heteroclitus*. 2017.

NUGNES, R. *et al.* Toxic impact of polystyrene microplastic particles in freshwater organisms. **Chemosphere**, 2022. v. 299, p. 134373.

OBBARD, R. W. *et al.* Global warming releases microplastic legacy frozen in Arctic Sea ice. **Earth's Future**, 2014. v. 2, n. 6, p. 315–320.

OLIVEIRA, P. *et al.* Effects of microplastics and mercury in the freshwater bivalve *Corbicula fluminea* (Müller, 1774): filtration rate, biochemical biomarkers and mercury bioconcentration. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2018. v. 164, p. 155–163.

PABORTSAVA, K.; LAMPITT, R. S. High concentrations of plastic hidden beneath the surface of the Atlantic Ocean. **Nature communications**, 2020. v. 11, n. 1, p. 1–11.

PALMER, J.; HERAT, S. Ecotoxicity of Microplastic Pollutants to Marine Organisms: a Systematic Review. **Water, Air, & Soil Pollution**, 2021. v. 232, n. 5, p. 1–21.

PARLAPIANO, I. *et al.* Multi-endpoint effects of derelict tubular mussel plastic nets on *Tigriopus fulvus*. **Environmental Science and Pollution Research**, 2022. v. 29, n. 55, p. 83554–83566.

PONTES, L. P. *et al.* Toxic effects of phenanthrene intensify with an increase of temperature for the populations of a free-living nematode. **Ecological Indicators**, 2021. v. 120, p. 106868.

PRATA, J. C. Microplastics in wastewater: State of the knowledge on sources, fate and solutions. **Marine pollution bulletin**, 2018. v. 129, n. 1, p. 262–265.

PUSCEDDU, A. *et al.* Trophic state, ecosystem efficiency and biodiversity of transitional aquatic ecosystems: analysis of environmental quality based on different benthic indicators. **Chemistry and Ecology**, 2007. v. 23, n. 6, p. 505–515.

QI, R. *et al.* Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 703, p. 134722.

QIAO, R. *et al.* Accumulation of different shapes of microplastics initiates intestinal injury and gut microbiota dysbiosis in the gut of zebrafish. **Chemosphere**, 2019. v. 236, p. 124334.

QIU, Y.; LIU, Yaqi; *et al.* Effect of chronic exposure to nanopolystyrene on nematode *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, 2020. v. 256, p. 127172.

QIU, Y; LUO, L.; *et al.* Potential toxicity of nanopolystyrene on lifespan and aging process of nematode *Caenorhabditis elegans*. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 705, p. 135918.

QU, M *et al.* Neuronal damage induced by nanopolystyrene particles in nematode *Caenorhabditis elegans*. Southeast Univ, Med Sch, Key Lab Environm Med Engr, Minist Educ, Nanjing 210009, Jiangsu, Peoples R China FU - Scientific Research Foundation of Graduate School of Southeast University [YBPY1945] FX - This study was supported by the grant of Scientific : **ENVIRONMENTAL SCIENCE-NANO**, 2019. v. 6, n. 8, p. 2591–2601.

QU, Man *et al.* Using *acs-22* mutant *Caenorhabditis elegans* to detect the toxicity of nanopolystyrene particles. **Science of the Total Environment**, 2018. v. 643, p. 119–126.

QU, Man *et al.* Exposure to nanopolystyrene and its 4 chemically modified derivatives at predicted environmental concentrations causes differently regulatory mechanisms in nematode *Caenorhabditis elegans*. **Chemosphere**, 2022. p. 135498.

QUANBIN, L. *et al.* Uptake and elimination of microplastics by *Tigriopus japonicus* and its impact on feeding behavior. **Asian Journal of Ecotoxicology**, 2020. n. 4, p. 184–191.

RAUCHSCHWALBE, M.-T. *et al.* Bacterial consumption by nematodes is disturbed by the presence of polystyrene beads: The roles of food dilution and pharyngeal pumping. **Environmental Pollution**, 2021. v. 273, p. 116471.

RAUCHSCHWALBE *et al.* Long-term exposure of a free-living freshwater micro-and meiobenthos community to microplastic mixtures in microcosms. **Science of the Total Environment**, 2022a. v. 827, p. 154207.

RAZA, Z. A.; ABID, S.; BANAT, I. M. Polyhydroxyalkanoates: Characteristics, production, recent developments and applications. **International Biodeterioration & Biodegradation**, 2018. v. 126, p. 45–56.

REN, Xianyun; PAN, L.; WANG, L. The detoxification process, bioaccumulation and damage effect in juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to chrysene. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2015. v. 114, p. 44–51.

RIDALL, A.; ASGARI, S.; INGELS, J. The role of microbe-microplastic associations in marine Nematode feeding behaviors. **Environmental Pollution**, 2023. v. 335, p. 122308.

RILLIG, M. C. *et al.* Evolutionary implications of microplastics for soil biota. **Environmental Chemistry**, 2018. v. 16, n. 1, p. 3–7.

ROCHMAN, Chelsea M *et al.* Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite. **Environmental toxicology and chemistry**, 2019. v. 38, n. 4, p. 703–711.

RODRIGUES, D. *et al.* Distribution patterns of microplastics in subtidal sediments from the Sado river estuary and the Arrábida marine park, Portugal. **Frontiers in Environmental Science**, 2022. v. 10, p. 998513.

SAGAWA, N.; KAWAAI, K.; HINATA, H. Abundance and size of microplastics in a coastal sea: comparison among bottom sediment, beach sediment, and surface water. **Marine pollution**

bulletin, 2018. v. 133, p. 532–542.

SAID, O. BEN *et al.* Changes of benthic bacteria and meiofauna assemblages during bio-treatments of anthracene-contaminated sediments from Bizerta lagoon (Tunisia). **Environmental Science and Pollution Research**, 2015. v. 22, p. 15319–15331.

SANTOS, A. C. C. *et al.* Is the microcosm approach using meiofauna community descriptors a suitable tool for ecotoxicological studies? **Ecotoxicology and environmental safety**, 2018. v. 147, p. 945–953.

SANTOS, R. G. *et al.* Marine debris ingestion and Thayer's law—The importance of plastic color. **Environmental Pollution**, 2016. v. 214, p. 585–588.

SCHERER, C. *et al.* Feeding type and development drive the ingestion of microplastics by freshwater invertebrates. **Scientific reports**, 2017. v. 7, n. 1, p. 1–9.

SCHERER, C *et al.* Comparative assessment of microplastics in water and sediment of a large European river. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 738, p. 139866.

SCHLINING, K. *et al.* Debris in the deep: Using a 22-year video annotation database to survey marine litter in Monterey Canyon, central California, USA. **Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers**, 2013. v. 79, p. 96–105.

SCHOPFER, L. *et al.* Microplastics Effects on Reproduction and Body Length of the Soil-Dwelling Nematode *Caenorhabditis elegans*. Univ Hohenheim, Inst Soil Sci & Land Evaluat, Fac Agr Sci, Soil Biol Dept, Stuttgart, Germany: **FRONTIERS IN ENVIRONMENTAL SCIENCE**, 2020. v. 8.

SCHÖPFER, L. *et al.* Microplastics effects on reproduction and body length of the soil-dwelling nematode *Caenorhabditis elegans*. **Frontiers in Environmental Science**, 2020. v. 8, p. 41.

SCHRATZBERGER, M.; INGELS, J. Meiofauna matters: the roles of meiofauna in benthic ecosystems. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, 2018. v. 502, p. 12–25.

SCHRATZBERGER, M; SOMERFIELD, P. J. Effects of widespread human disturbances in the marine environment suggest a new agenda for meiofauna research is needed. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 728, p. 138435.

SCHWARZER, M. *et al.* Shape, size, and polymer dependent effects of microplastics on *Daphnia magna*. **Journal of Hazardous Materials**, 2022. v. 426, p. 128136.

SHANG, X. *et al.* Microplastic (1 and 5 μm) exposure disturbs lifespan and intestine function in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 705, p. 135837.

SHANG, Y. *et al.* Polystyrene nanoparticles induced neurodevelopmental toxicity in *Caenorhabditis elegans* through regulation of *dpy-5* and *rol-6*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2021. v. 222, p. 112523.

SHEN, M. *et al.* Recent advances in toxicological research of nanoplastics in the environment: A review. **Environmental pollution**, 2019. v. 252, p. 511–521.

SHI, W. *et al.* Adverse Effects of Co-Exposure to Cd and Microplastic in *Tigriopus japonicus*. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2022. v. 19, n. 20, p. 13215.

SILVA, C. J. M. *et al.* Combined effects of polyethylene microplastics and natural stressors on *Chironomus riparius* life-history traits. **Environmental Research**, 2022. v. 213, p. 113641.

SILVA, R. B. DA *et al.* Effects of PAHs on meiofauna from three estuaries with different levels of

urbanization in the South Atlantic. **PeerJ**, 2022. v. 10, p. e14407.

SILVA, S. A. M. *et al.* Effects of Polyurethane Small-Sized Microplastics in the Chironomid, *Chironomus riparius*: Responses at Organismal and Sub-Organismal Levels. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 2022. v. 19, n. 23, p. 15610.

SOCLO, H. H.; GARRIGUES, P. H.; EWALD, M. Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: case studies in Cotonou (Benin) and Aquitaine (France) areas. **Marine pollution bulletin**, 2000. v. 40, n. 5, p. 387–396.

SORENSEN, L. *et al.* Sorption of PAHs to microplastic and their bioavailability and toxicity to marine copepods under co-exposure conditions. **ENVIRONMENTAL POLLUTION**, 2020. v. 258.

SPANN, N.; GOEDKOOP, W.; TRAUNSPURGER, Walter. Phenanthrene bioaccumulation in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Environmental science & technology**, 2015. v. 49, n. 3, p. 1842–1850.

STOUT, S. A. *et al.* Beyond 16 priority pollutant PAHs: a review of PACs used in environmental forensic chemistry. **Polycyclic Aromatic Compounds**, 2015. v. 35, n. 2–4, p. 285–315.

STRAUB, S.; HIRSCH, P. E.; BURKHARDT-HOLM, P. Biodegradable and Petroleum-Based Microplastics Do Not Differ in Their Ingestion and Excretion but in Their Biological Effects in a Freshwater Invertebrate *Gammarus fossarum*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL RESEARCH AND PUBLIC HEALTH**, 2017. v. 14, n. 7.

STRINGER, T. J. *et al.* Development of a harpacticoid copepod bioassay: selection of species and relative sensitivity to zinc, atrazine and phenanthrene. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2012. v. 80, p. 363–371.

SUN, J. *et al.* Release of microplastics from discarded surgical masks and their adverse impacts on the marine copepod *Tigriopus japonicus*. **Environmental Science & Technology Letters**, 2021. v. 8, n. 12, p. 1065–1070.

SUN, Y. *et al.* Health risk analysis of microplastics in soil in the 21st century: A scientometrics review. **Frontiers in Environmental Science**, 2022. p. 1523.

SUWAKI, C. H.; DE-LA-CRUZ, L. T.; LOPES, R. M. Impacts of microplastics on the swimming behavior of the copepod *Temora Turbinata* (Dana, 1849). **Fluids**, 2020. v. 5, n. 3, p. 103.

SYRANIDOU, E. *et al.* Development of tailored indigenous marine consortia for the degradation of naturally weathered polyethylene films. **PloS one**, 2017. v. 12, n. 8, p. e0183984.

THOMPSON, R. C. *et al.* Lost at sea: where is all the plastic? **Science**, 2004. v. 304, n. 5672, p. 838.

THOMPSON, E. *et al.* Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. **Philosophical transactions of the royal society B: biological sciences**, 2009. v. 364, n. 1526, p. 2153–2166.

TRESTRAIL, C. *et al.* Foaming at the mouth: Ingestion of floral foam microplastics by aquatic animals. **SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT**, 2020. v. 705.

TRESTRAIL, Charlene; NUGEGODA, Dayanthi; SHIMETA, Jeff. Invertebrate responses to microplastic ingestion: Reviewing the role of the antioxidant system. **Science of The Total Environment**, 2020. v. 734, p. 138559.

TRETT, M. W. *et al.* Terrestrial meiofauna and contaminated land assessment. **Environmental science & technology**, 2000. v. 34, n. 8, p. 1594–1602.

TSALIK, E. L.; HOBERT, O. Functional mapping of neurons that control locomotory behavior in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of neurobiology**, 2003. v. 56, n. 2, p. 178–197.

UGWU, K.; HERRERA, A.; GÓMEZ, M. Microplastics in marine biota: A review. **Marine pollution bulletin**, 2021. v. 169, p. 112540.

VAFEIADOU, A. M. *et al.* Global warming-induced temperature effects to intertidal tropical and temperate meiobenthic communities. **Marine Environmental Research**, 2018. v. 142, n. September, p. 163–177. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.10.005>>.

VEIGA, P.; RUBAL, M.; BESTEIRO, C. Shallow sublittoral meiofauna communities and sediment polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content on the Galician coast (NW Spain), six months after the Prestige oil spill. **Marine pollution bulletin**, 2009. v. 58, n. 4, p. 581–588.

WAKKAF, T. *et al.* The individual and combined effects of cadmium, polyvinyl chloride (PVC) microplastics and their polyalkylamines modified forms on meiobenthic features in a microcosm. **Environmental Pollution**, 2020. v. 266, p. 115263.

WANG, Can *et al.* Biodegradable microplastics (BMPs): a new cause for concern? **Environmental Science and Pollution Research**, 2021. v. 28, p. 66511–66518.

WANG, Shuting *et al.* Response of tyramine and glutamate related signals to nanoplastic exposure in *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 2021. v. 217, p. 112239.

WANG, Wenfeng; GE, J.; YU, Xiangyang. Bioavailability and toxicity of microplastics to fish species: A review. **Ecotoxicology and environmental safety**, 2020. v. 189, p. 109913.

WAYMAN, C.; NIEMANN, H. The fate of plastic in the ocean environment—a minireview. **Environmental Science: Processes & Impacts**, 2021. v. 23, n. 2, p. 198–212.

WEIHS, D.; WEBB, P. W. Optimal avoidance and evasion tactics in predator-prey interactions. **Journal of Theoretical Biology**, 1984. v. 106, n. 2, p. 189–206.

WENDT-POTTHOFF, K. *et al.* Mikroplastik in binnengewässern. **Handbuch Angewandte Limnologie: Grundlagen-Gewässerbelastung-Restaurierung-Aquatische Ökotoxikologie-Bewertung-Gewässerschutz**, 2014. p. 1–35.

WONG, J. K. H. *et al.* Microplastics in the freshwater and terrestrial environments: Prevalence, fates, impacts and sustainable solutions. **Science of the total environment**, 2020. v. 719, p. 137512.

WOODALL, L. C. *et al.* The deep sea is a major sink for microplastic debris. **Royal Society open science**, 2014. v. 1, n. 4, p. 140317.

XIE, Dongmei *et al.* Mercury can be transported into marine copepod by polystyrene nanoplastics but is not bioaccumulated: An increased risk? **Environmental Pollution**, 2022. v. 303, p. 119170.

XU, B. *et al.* Microplastics in the soil environment: occurrence, risks, interactions and fate—a review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, 2020. v. 50, n. 21, p. 2175–2222.

YANG, B. *et al.* Concentration-dependent impacts of microplastic additions on soil nematode community in bulk soils of maize: Evidence from a pot experiment. **Frontiers in Environmental Science**, 2022. p. 659.

YANG, K. *et al.* Acute toxicity of tire wear particles, leachates and toxicity identification evaluation of leachates to the marine copepod, *Tigriopus japonicus*. **Chemosphere**, 2022. v. 297, p. 134099.

- YOUSSEF, K. *et al.* Microfluidic electric parallel egg-laying assay and application to in-vivo toxicity screening of microplastics using *C. elegans*. **Science of the Total Environment**, 2021. v. 783, p. 147055. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147055>>.
- YU, Juan *et al.* Effects of microplastics exposure on ingestion, fecundity, development, and dimethylsulfide production in *Tigriopus japonicus* (Harpacticoida, copepod). **Environmental Pollution**, 2020. v. 267, p. 115429.
- YU, L. *et al.* Distribution characteristics of microplastics in agricultural soils from the largest vegetable production base in China. **Science of the Total Environment**, 2021. v. 756, p. 143860.
- YU, Y. *et al.* Polystyrene microplastics (PS-MPs) toxicity induced oxidative stress and intestinal injury in nematode *Caenorhabditis elegans*. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 726, p. 138679.
- YU, Y *et al.* Carboxyl-modified polystyrene microplastics induces neurotoxicity by affecting dopamine, glutamate, serotonin, and GABA neurotransmission in *Caenorhabditis elegans*. **Journal of Hazardous Materials**, 2023. v. 445, p. 130543.
- ZEPILLI, D. *et al.* Is the meiofauna a good indicator for climate change and anthropogenic impacts? **Marine Biodiversity**, 2015. v. 45, p. 505–535.
- ZHANG, C. *et al.* Transgenerational proteome plasticity in resilience of a marine copepod in response to environmentally relevant concentrations of microplastics. **Environmental Science & Technology**, 2019. v. 53, n. 14, p. 8426–8436.
- ZHANG, L. *et al.* Long-term exposure to polystyrene nanoparticles causes transgenerational toxicity by affecting the function and expression of MEV-1 and DAF-2 signals in *Caenorhabditis elegans*. **NanoImpact**, 2022. v. 26, p. 100403.
- ZHAO, Li *et al.* Transgenerational toxicity of nanopolystyrene particles in the range of $\mu\text{g L}^{-1}$ in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Environmental Science: Nano**, 2017. v. 4, n. 12, p. 2356–2366.
- ZHAO, S. *et al.* Review on migration, transformation and ecological impacts of microplastics in soil. **Applied Soil Ecology**, 2022. v. 176, p. 104486.
- ZHAO, Yingyue *et al.* Toxicity induction of nanopolystyrene under microgravity stress condition in *Caenorhabditis elegans*. **Science of the Total Environment**, 2020. v. 703, p. 135623.
- ZHENG, S. *et al.* Seasonal characteristics of microplastics ingested by copepods in Jiaozhou Bay, the Yellow Sea. **Science of the Total Environment**, 2021. v. 776, p. 9317.
- ZHU, J. *et al.* Microplastic pollution in the Maowei Sea, a typical mariculture bay of China. **Science of the Total Environment**, 2019. v. 658, p. 62–68.