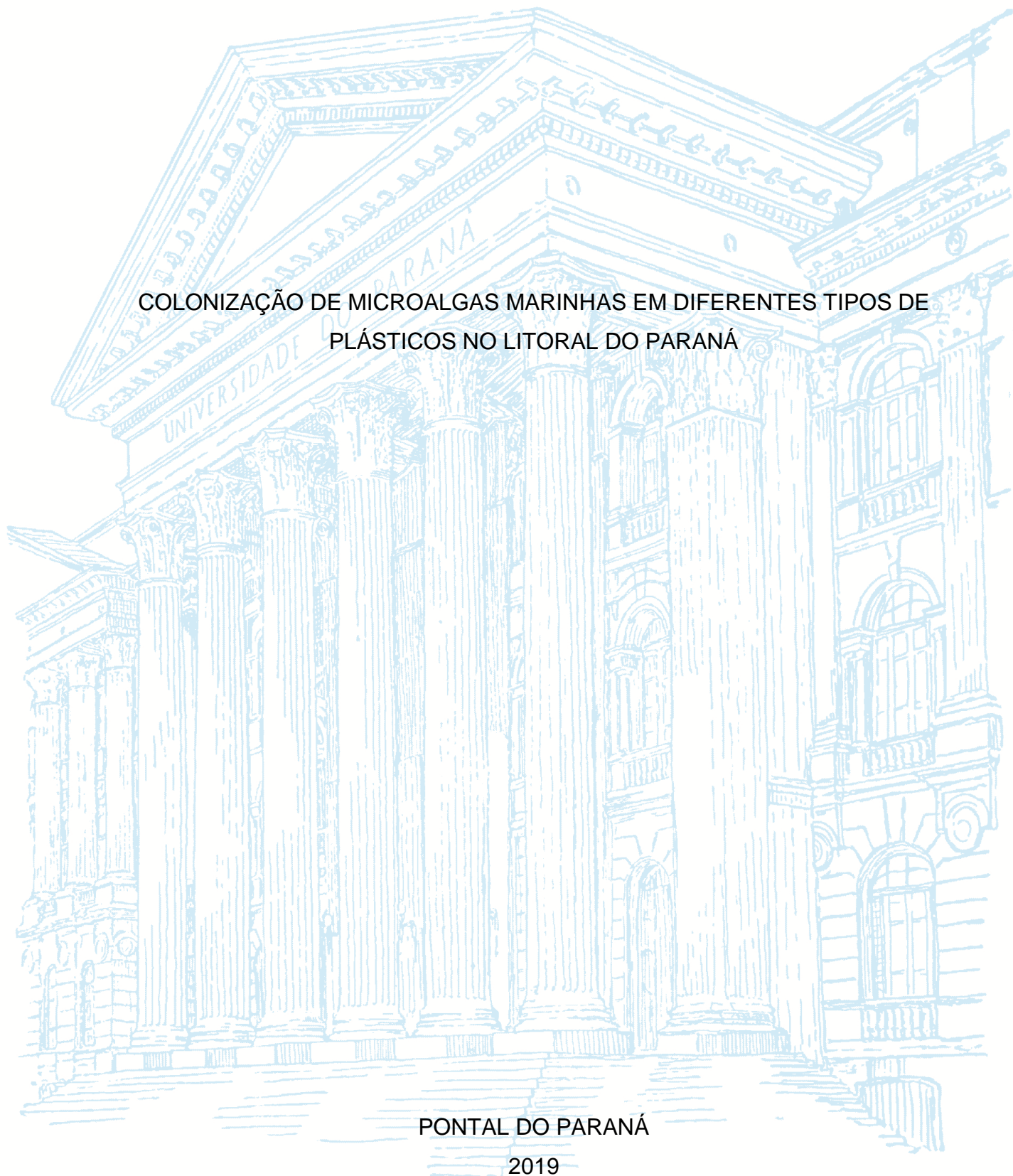


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

TALITA VANDERLEIA VIEIRA BATISTA

COLONIZAÇÃO DE MICROALGAS MARINHAS EM DIFERENTES TIPOS DE
PLÁSTICOS NO LITORAL DO PARANÁ



PONTAL DO PARANÁ

2019

TALITA VANDERLEIA VIEIRA BATISTA

COLONIZAÇÃO DE MICROALGAS MARINHAS EM DIFERENTES TIPOS DE
PLÁSTICOS NO LITORAL DO PARANÁ

Monografia apresentada ao curso de Pós-Graduação em Oceanografia, Setor de Ciências da terra, Universidade Federal do Paraná, Campus Pontal do Paraná, Centro de estudos do Mar, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Oceanografia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Laureno Mafra Junior

PONTAL DO PARANÁ

2019

TERMO DE APROVAÇÃO

Talita Vanderléia Vieira Batista

“COLONIZAÇÃO DE MICROALGAS MARINHAS EM DIFERENTES TIPOS DE PLÁSTICOS NO LITORAL DO PARANÁ”

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de
Bacharel em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela
Comissão formada pelos membros:


Prof. Dr. Maikon Di Domenico - CEM/UFPR


Dr. Thiago Pereira Alves - Prof. no IFSC - Campus Itajaí


Prof. Dr. Luiz Laurenô Mafra Júnior
Presidente

Pontal do Paraná, 18 de dezembro de 2019

AGRADECIMENTOS

Ao longo da minha graduação várias pessoas me apoiaram para eu conseguir chegar até aqui e participaram da conquista deste trabalho, às quais os agradecimentos nunca vão ser suficientes. Mas não poderia deixar de falar da minha Mãe, que é a mulher da minha vida e meu anjo protetor; meu Pai, que é a minha inspiração e meu porto seguro; a tia Preta, que foi minha companheira das madrugadas em claro, para me dar apoio e me fazer companhia nesse árduo trabalho; ao professor Maikon que teve que aguentar bombardeios de e-mail, mas sempre estava disposto a responder e ajudar no que lhe fosse possível; Meu orientador Mafra que teve muita paciência comigo, com seu dom de fazer críticas construtivas me ajudou a crescer e buscar sempre fazer o meu melhor; ao Carlos Tibiriçá, uma das pessoas mais empolgadas que já conheci, ajudou na construção das ideias e execução dos experimentos; aos amigos que Pontal me presenteou, Amanda, Mariana e Tawane; e ao Alan que teve a sensibilidade de me “forçar” a concluir esse trabalho. Vocês foram essenciais nessa reta final. Que um dia eu possa retribuir todo esse carinho e força que vocês me deram.

“Ninguém chega do outro lado do mar sem passar pelas águas, sem enfrentar os ventos, sem ter que vencer as tempestades. Ninguém alcança nada sem ter que lutar, renunciar, chorar as vezes.”

(Edson P. Neves)

RESUMO

O descarte desenfreado de resíduos antrópicos no oceano vem afetando a vida e o equilíbrio da fauna marinha. O biofilme microbiano se desenvolve assim que o plástico entra em contato com o meio marinho. A colonização de resíduos plásticos por biofilmes microbianos dificulta a distinção entre o alimento e um substrato com biofilme aderido pelos organismos herbívoros. Conseqüentemente, o biofilme pode favorecer a ingestão acidental de resíduos plásticos, já que os microrganismos aderidos mudam o aspecto dos plásticos no que diz respeito à aparência, ao odor e ao paladar. Este estudo avalia a colonização de microalgas marinhas no biofilme de diferentes tipos de plásticos no Arquipélago de Currais e Ilha da Galheta, Paraná, no ano de 2017. Esta pesquisa foi dividida em duas etapas denominadas: Campanha I (curto prazo), que se refere ao Arquipélago de Currais com a duração de 24 horas e Campanha II (longo prazo), Ilha da Galheta, duração de 32 dias, sendo coletado amostras em 24 horas, 13 e 32 dias. O biofilme que colonizou os diferentes tipos de plástico foi analisado em laboratório com o auxílio do microscópio invertido. Com a implantação de materiais plásticos nas Ilhas, houve a possibilidade de analisar a presença e desenvolvimento de colônias de microalgas e sua variação temporal. De modo semelhante, no presente estudo, diferentes macro-invertebrados colonizaram sucessivamente a superfície dos diferentes tipos de plástico ao longo do período de um mês. Na fase final do experimento, houve uma dominância de invertebrados herbívoros, sobretudo de juvenis de ostras (*Crassostrea* sp.), o que provavelmente explica o decréscimo na abundância de microalgas naquele intervalo de tempo. Foi encontrada elevadas densidades de *Ostreopsis* cf. *ovata*, uma microalga com grande potencial tóxico. Assim vemos que, além do grande problema causado pelo descarte incorreto de plástico e a sua possível ingestão pela fauna marinha, o plástico pode ser mais prejudicial por estar altamente colonizado com microalgas extremamente tóxicas e podendo ser dispersas pelo ambiente.

Palavras-chave: Biofilme, poluição marinha, lixo plástico, microalgas bentônicas, dinoflagelados tóxicos.

ABSTRACT

The rampant disposal of anthropogenic waste into the ocean has been affecting the life and balance of marine fauna. Microbial biofilm develops as soon as plastic comes into contact with the marine environment. The colonization of plastic waste by microbial biofilms makes it difficult to distinguish between food and a biofilm substrate adhered by herbivorous organisms. As a result, biofilm may favor the accidental ingestion of plastic waste as adhered microorganisms change the appearance of plastics in terms of appearance, odor and taste. This study evaluates the colonization of marine microalgae in the biofilm of different types of plastics in the Currais Archipelago and Galheta Island, Paraná, in 2017. This research was divided into two stages: Campaign I (short term), which refers to the Currais Archipelago with a duration of 24 hours and Campaign II (long term), Galheta Island, lasting 32 days, being collected samples in 24 hours, 13 and 32 days. The biofilm that colonized the different types of plastic was analyzed in the laboratory with the aid of the inverted microscope. With the implantation of plastic materials in the Islands, it was possible to analyze the presence and development of microalgae colonies and their temporal variation. Similarly, in the present study, different macro-invertebrates successively colonized the surface of different types of plastic over the period of one month. In the final phase of the experiment, there was a dominance of herbivorous invertebrates, especially oyster juveniles (*Crassostrea* sp.), Which probably explains the decrease in microalgae abundance in that time interval. High densities of *Ostreopsis* cf. *ovata*, a microalgae with great toxic potential. Thus, we see that in addition to the major problem caused by improper disposal of plastic and its possible ingestion by marine fauna, plastic can be more harmful because it is highly colonized with extremely toxic microalgae and can be dispersed into the environment.

Keywords: Biofilm, marine pollution, plastic litter, benthic microalgae, toxic dinoflagellates.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – MAPA DA ÁREA DE ESTUDO: ILHA DA GALHETA E ARQUIPÉLAGO DE CURRAIS NO LITORAL DO PARANÁ, EVIDENCIANDO O LOCAL DE SUBMERSÃO QUE OS COLETORES DE BIOFILME FORAM DEIXADOS.....	21
FIGURA 2 - FOTO DOS COLETORES SUBMERSOS NA ILHA DOS CURRAIS. ...	22
FIGURA 3 - FOTO DO MERGULHADOR COLOCANDO OS COLETORES NA ILHA DOS CURRAIS.	23
FIGURA 4 - AMOSTRA LÍQUIDA DO PLÁSTICO R-PPB. CÉLULAS DE <i>ostreopsis</i> EXTREMAMENTE ABUNDANTE.	31
FIGURA 5 - AMOSTRAS DOS PLÁSTICOS SUBMERSOS, ONDE: A) AMOSTRA PEBD COM 13 DIAS SUBMERSO; B) AMOSTRA R-PPV SUBMERSO POR 13 DIAS; C) F-PP 32 DIAS SUBMERSOS; D) R-PPB 32 DIAS SUBMERSOS; E) R-PPV 32 DIAS SUBMERSOS.	37

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1 - ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DOS PRINCIPAIS GRUPOS TAXONÔMICOS DE MICROALGAS BENTÔNICAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 24 HORAS DE SUBMERSÃO NO ARQUIPÉLAGO DE CURRAIS, PARANÁ.27
- GRÁFICO 2 - ABUNDÂNCIA DE MICROALGAS QUE NÃO SOLTARAM DAS LÂMINAS APÓS A AGITAÇÃO MECÂNICA.....31
- GRÁFICO 3 - ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DAS DIATOMÁCEAS PENADAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 1 DIA, 13 DIAS E 32 DIAS DE SUBMERSÃO NA ILHA DA GALHETA, PARANÁ. TIPOS DE PLÁSTICOS TESTADOS: F-PP; PEBD; R-PPB; R-PPV.33
- GRÁFICO 4. ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DAS DIATOMÁCEAS CÊNTRICAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 1 DIA, 13 DIAS E 32 DIAS DE SUBMERSÃO NA ILHA DA GALHETA, PARANÁ. TIPOS DE PLÁSTICOS TESTADOS: F-PP; PEBD; R-PPB; R-PPV.34
- GRÁFICO 5 - ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DAS DIATOMÁCEAS NÃO IDENTIFICADAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 1 DIA, 13 DIAS E 32 DIAS DE SUBMERSÃO NA ILHA DA GALHETA, PARANÁ. TIPOS DE PLÁSTICOS TESTADOS: F-PP; PEBD; R-PPB; R-PPV.36
- GRÁFICO 6 - ABUNDÂNCIA DE CÉLULAS DE DIATOMÁCEAS QUE PERMANECERAM ADERIDAS AOS DIFERENTES MATERIAIS PLÁSTICOS APÓS A AGITAÇÃO MECÂNICA DEPOIS DOS SEGUINTE TEMPOS DE SUBMERSÃO NO MAR: A) 1 DIA; B) 13 DIAS; C) 32 DIAS. NOTAR DIFERENTE ESCALA DE EIXO-Y EM C.37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – VALORES DE ABUNDÂNCIA DE MICROALGAS QUE COLONIZARAM OS DIFERENTES TIPOS DE PLÁSTICOS NA ILHA DOS CURRAIS NO DIA 17 DE FEVEREIRO DE 2017.	28
TABELA 2 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM O DINOFLAGELADO <i>ostreopsis cf. ovata</i> PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.	28
TABELA 3 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS PENADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.	29
TABELA 4 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS CÊNTRICAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.	30
TABELA 5 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS NÃO IDENTIFICADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.	30
TABELA 6 - VALORES DE ABUNDÂNCIA DE MICROALGAS QUE COLONIZARAM OS DIFERENTES TIPOS DE PLÁSTICOS NA ILHA DA GALHETA NO PERÍODO DE 5 DE OUTUBRO A 6 DE NOVEMBRO DE 2017.	32
TABELA 7 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS PENADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO E COMPARAÇÕES ENTRE O TEMPO.	33
TABELA 8 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS CÊNTRICAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO E COMPARAÇÕES ENTRE O TEMPO.	35

TABELA 9 - RESULTADOS DOS TESTES <i>POST-HOC</i> DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS NÃO IDENTIFICADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO E COMPARAÇÕES ENTRE O TEMPO.....	36
TABELA 10. LISTA DE INVERTEBRADOS ADERIDOS AOS PLÁSTICOS.	38

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ABS	- Acrilonitrila estireno
AIC	- Akkaike
APA	- Área de preservação ambiental
CEP	- Complexo estuarino de Paranaguá
EDCs	- Desreguladores endócrinos
F-PP	- Flexível de polipropileno
GLM	- Modelo linear generalizado
OVTXs	- Ovatoxinas
PE	- Polietileno
PEAD	- Polietileno de alta densidade
PEBD	- Polietileno de baixa densidade
PET	- Politereftalato de etileno
PLTXs	- Palitoxinas
POPs	- Poluentes orgânicos persistentes
PP	- Polipropileno
PS	- Poliestireno
PVA	- Álcool polivinílico
PVC	- Policloreto de vinila
R-PPb	- Rígido de polipropileno branco
R-PPv	- Rígido de polipropileno vermelho
UC	- Unidade de conservação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	LOCAL DO ESTUDO.....	20
3.2	INSTALAÇÃO E RESGATE DOS SUBSTRATOS ARTIFICIAIS.....	21
3.2.1	Campanha I – Arquipélago de Currais (curto prazo) final do verão.....	23
3.2.2	Campanha II - Ilha da Galheta (longo prazo).....	24
3.3	PROCESSAMENTOS DE AMOSTRAS.....	24
3.4	PROCESSAMENTOS DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4	RESULTADOS	27
4.1	CAMPANHA I – CURTO PRAZO, FINAL DO VERÃO	27
4.2	CAMPANHA II – LONGO PRAZO, PRIMAVERA	32
5	DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46
	ANEXO 1	51

1 INTRODUÇÃO

Entre 1950 e 2018, a produção global de plásticos cresceu de 1,5 milhão a 360 milhões de toneladas por ano, e a expectativa é que continue aumentando para os próximos anos (PLASTICS EUROPE, 2019). Nas últimas décadas, desde que a produção se intensificou, os restos plásticos se acumularam em ambientes terrestres, no oceano aberto, nas margens das ilhas mais remotas e no mar profundo. Uma vez no oceano, o plástico permanece no ambiente devido a sua natureza hidrofóbica, sendo de especial preocupação a longevidade de seus detritos e sua grande capacidade de dispersão (BARNES et al., 2009).

Os resíduos plásticos encontrados no oceano possuem composição química diversas, sendo principalmente compostos de polipropileno (PP), polietilenos de alta densidade (PEAD), polietileno de baixa densidade (PEBD), policloreto de vinilo (PVC), poli tereftalato de etileno (PET), (BHASKAR et al., 2004). Dentre os exemplos dos resíduos sólidos descartados no ambiente marinho estão sacolas (PEBD), embalagens (PP), potes (PEAD), garrafas (PET), entre outros. No Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), litoral do Paraná, por exemplo, foi reportado em todos os setores do estuário a presença de sacolas de compras (29% de ocorrência nas amostras), pacotes de alimentos (19%), embalagens de doces (12%) e copos (10%) (POSSATTO et al., 2014).

A permanência de detritos plásticos por um longo período no ambiente marinho estimula a formação do biofilme bacteriano, que conduz à sucessão de outros micro- e macro-organismos sobre sua superfície (REISSER et al., 2014). O transporte desses organismos ligados aos plásticos é uma grande preocupação, uma vez que esse plástico pode percorrer longas distâncias carregando comunidades que podem ser vetores de doenças e também se tornarem espécies exóticas (VIRSEK et al., 2017).

Para algumas espécies da fauna marinha, os plásticos podem representar uma grande ameaça através da ingestão, do emaranhamento, da degradação dos principais habitats e de efeitos negativos mais amplos ao ecossistema (BARNES et al., 2009). O plástico ingerido pelos animais causa sérios danos ao trato digestório, como lesões, obstrução e uma falsa sensação de saciedade com consequente desnutrição (GUEBERT-BARTHOLO et al., 2011). Essa ingestão acidental causa

impactos que vão desde alterações na fluatibilidade, formação de fecalomas nos intestinos, até a morte por inanição em casos mais graves (BUTTERWORTH; CLEGG; BASS, 2012).

Além das problemáticas citadas, os plásticos também podem ser fontes de compostos tóxicos, pois seus constituintes (aditivos) agem como desreguladores endócrinos (EDCs), tais como bisfenol A e ftalatos, e por poluentes orgânicos persistentes (POPs), que se adsorvem ao plástico no ambiente. Ao serem ingeridos, eles podem se tornar biodisponíveis para os organismos (ENDO et al., 2005; TEUTEN et al., 2009; GALLO et al., 2018).

Em animais que possuem uma seletividade alimentar primariamente visual, a ingestão acidental de resíduos plásticos tende a ser maior. O crescimento e agregação de fauna e flora sobre a superfície do plástico podem ser um agravante, uma vez que vão conferir ao plástico odor, cor e paladar semelhante ao seu alimento natural (GREGORY, 2009; SCHUYLER et al., 2014; NELMS et al., 2015).

Observações microscópicas de detritos plásticos recolhidos na costa Catalã do Mar Mediterrâneo têm identificado a ocorrência de comunidades diversificadas e complexas de diatomáceas bentônicas e pequenos flagelados (<20 µm) como os principais organismos anexados. Alguns fragmentos plásticos estavam fortemente colonizados por dinoflagelados com potencial tóxico, como *Ostreopsis* sp. e *Coolia* sp. Os plásticos flutuantes no meio marinho podem ser potenciais vetores de espécies de microalgas bêmicas produtoras de compostos neurotóxicos, podendo atuar como vetores adicionais da toxina na cadeia trófica, inclusive no ambiente pelágico (MASÓ et al., 2003; CASABIANCA et al., 2019).

O lixo marinho é um desafio global, causado por comportamento irresponsável e práticas inadequadas de gestão de resíduos. À medida que cresce a preocupação com a questão da poluição marinha por resíduos plásticos, torna-se essencial avaliar os riscos enfrentados pelas principais espécies e as implicações associadas à biodiversidade (VEGTER et al., 2014). Tal avaliação, no entanto, torna-se complicada pela variedade de efeitos negativos potencialmente ligados à ingestão de plásticos pelos animais marinhos, as grandes escalas espaciais e temporal envolvidas e a dificuldade em se estabelecer uma relação de causalidade clara (NELMS et al., 2015). Assim, uma melhor compreensão da suscetibilidade destes organismos à ingestão de resíduos plásticos no meio marinho, que envolve a caracterização de suas propriedades biofísicoquímicas, torna-se imprescindível para

se estabelecer prioridades de pesquisa, aconselhar decisões de gestão e desenvolver medidas de mitigação adequadas (SCHUYLER et al., 2014).

Neste contexto, considerando a grande quantidade de resíduos plásticos nos oceanos e a colonização destes por microalgas, é de grande relevância o conhecimento sobre quais são as principais algas formadoras do biofilme e como ocorre o processo de colonização, uma vez que estas microalgas podem ser tóxicas e causar danos a saúde humana e impactar a fauna. Este estudo tem como objetivo investigar quais são as principais microalgas formadoras do biofilme e se elas possuem preferência em colonizar diferentes tipos de plásticos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a variação temporal na composição e a densidade de microalgas marinhas no microfilme biológico aderido aos resíduos plásticos de diferentes composições químicas, texturas e cores.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Investigar a possível seletividade que as microalgas agregadas nos tratamentos (tipos plásticos) possam ter, considerando fatores químicos, texturas e cores.
- b) Comparar a colonização de microalgas ao longo do tempo nos diferentes tratamentos.
- c) Avaliar as diferenças na abundância e composição das espécies de microalgas nos tratamentos entre os locais de estudos (Arquipélago de Currais e Ilha da Galheta).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO ESTUDO

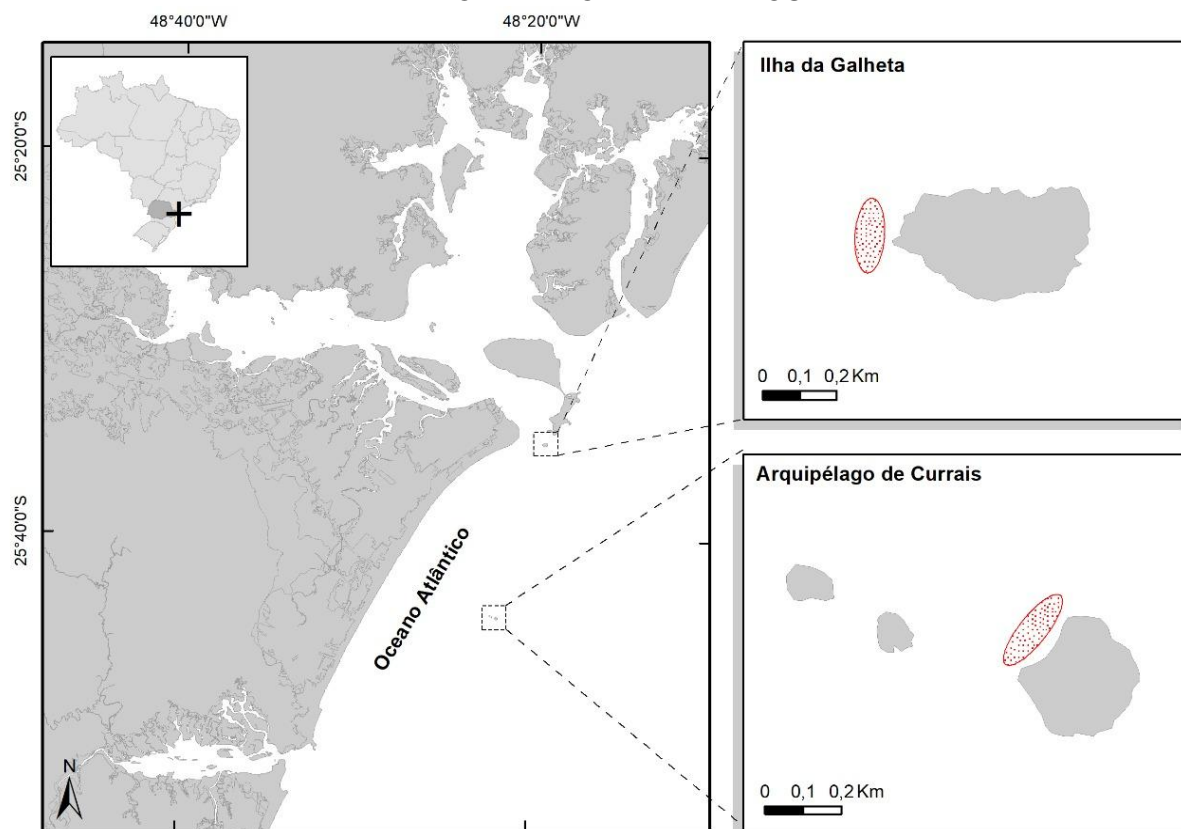
O litoral do Paraná apresenta uma curta linha de costa de 126 km entre a Barra do Ararapira (25°18' S) e a Barra do Saí (25°58' S) (ANGULO,1992). O litoral conta com o Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), região onde estão inseridas duas baías: a Baía de Paranaguá e a Baía de Guaraqueçaba, além do município de Pontal do Paraná.

Dentro do CEP está situado o Município de Paranaguá, que não possui sistema eficiente de coleta de resíduos, sendo os mesmos depositados em um aterro sanitário, sem controle da emissão de rejeitos que possivelmente estão sendo lixiviados para o Canal do Anhaia e por consequência na Baía de Paranaguá (LAUTERT, 1999). A região possui mais de 600 km² de área e é composta por diversas baías e ilhas, áreas de baixios, praias, planície costeira, desembocaduras de importantes rios, mantendo a região como um berçário de espécies de fauna e vegetação. O ambiente é caracterizado por diferentes estados de conservação, onde estão inseridos o Parque Nacional do Superagui, a APA de e a Estação Ecológica de Guaraqueçaba e a Estação Ecológica da Ilha do Mel (GUEBERT-BARTHOLO et al., 2011).

A área é profundamente recortada e composta por numerosas ilhas: Ilha Rasa da Cotinga, Ilha das Cobras, Ilha das Peças, Ilha do Mel, Ilha do Superagui, Ilha do Teixeira, Ilha da Galheta e Ilha dos Currais (ANGULO, 1992). Os substratos artificiais foram testados na Ilha dos Currais em Pontal do Paraná e na Ilha da Galheta em Paranaguá. A Ilha dos Currais está sob os cuidados do Centro de Estudos do Mar (CEM), e é o primeiro parque nacional marinho do estado do Paraná, formada por três pequenas ilhas, localizada a 12 km do Balneário de Praia de Leste (Portal Prefeitura Municipal de Pontal do Paraná, 2019). A Ilha da Galheta é uma ilha ao sul da Ilha do Mel, sendo um pouco maior que a Ilha dos Currais, situada a 3 km do balneário de Pontal do Sul. Ela faz parte da Estação Ecológica de Guaraqueçaba (Decreto n° 93.053/1986). Por Lei, a visitação pública

em Estação Ecológica só é permitida se tiver objetivo educacional (Aroldo Correa da Fonseca, Chefe de Unidade de Conservação- UC).

FIGURA 1 – MAPA DA ÁREA DE ESTUDO: ILHA DA GALHETA E ARQUIPÉLAGO DE CURRAIS NO LITORAL DO PARANÁ, EVIDENCIANDO O LOCAL DE SUBMERSÃO QUE OS COLETORES DE BIOFILME FORAM DEIXADOS.



FONTE: A Autora (2019).

3.2 INSTALAÇÃO E RESGATE DOS SUBSTRATOS ARTIFICIAIS

Os substratos artificiais utilizados no presente estudo consistem em sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD) e embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP) com área superficial total de 200 cm², somando-se ambos os lados, bem como tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv) com 44,29 cm² de superfície total considerando os lados interno e externo. Um substrato de cada tipo foi fixado em uma base de PVC (coletor) por meio de abraçadeiras de *nylon* (fita *hellerman*). Cada estrutura foi ligada a um peso

e a um flutuador em cada extremidade, mantendo os dispositivos submersos a cerca de 7 m de profundidade, pendurados a cerca de 30 cm do fundo (FIGURA 2).

FIGURA 2 - FOTO DOS COLETORES SUBMERSOS NA ILHA DOS CURRAIS.



FONTE: Thiago Pereira Alves (2017).

Foram colocados 16 coletores na Ilha dos Currais no verão e mais 16 coletores na Ilha da Galheta na primavera, com quatro exemplares de plásticos em cada coletor, dando um total de 48 amostras para serem analisadas em cada Ilha. As coletas das amostras ficaram previstas para 24 horas, uma semana e um mês após a implantação, sendo essas datas altamente variáveis por serem dependentes das variações climáticas e a disponibilidade do mergulhador.

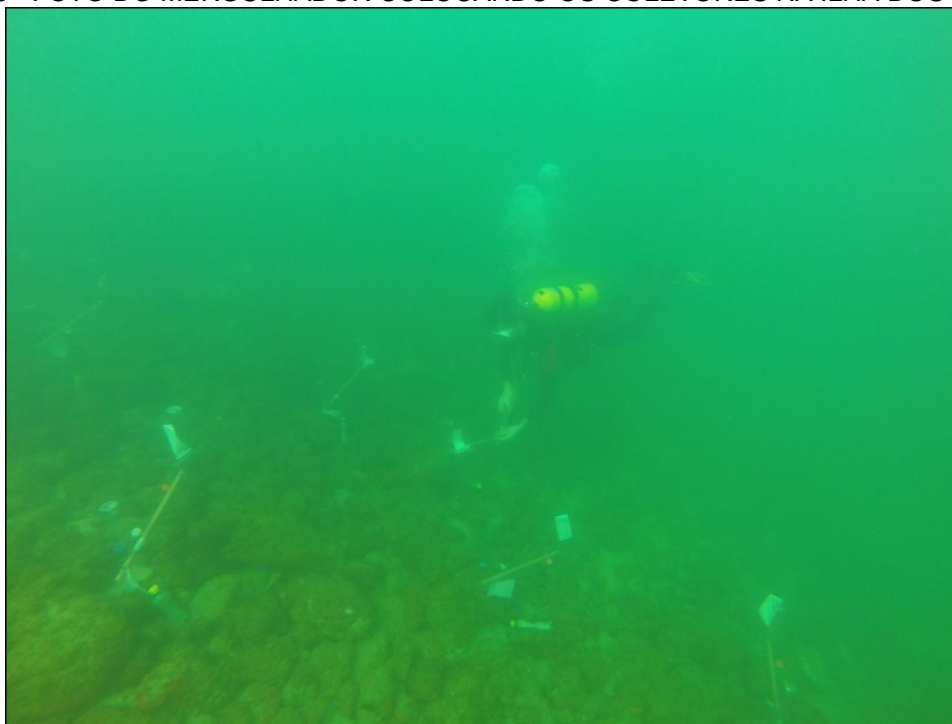
As coletas dos substratos contendo os biofilmes foram realizadas com auxílio de mergulho autônomo, utilizando uma tesoura para romper as abraçadeiras de *nylon* e desprender os substratos dos coletores. Ainda debaixo d'água, os painéis de plásticos flexíveis foram acondicionados em potes plásticos de 750 mL, juntamente com a água que estava ao redor dos coletores, e os plásticos rígidos foram colocados em potes plásticos de 130 mL também com a água do local. Além disso, uma amostra de água do mar (controle) foi recolhida antes da coleta de substratos artificiais, a cerca de 30 cm de distância dos dispositivos, para descontar

a quantidade de células de microalgas já presentes na água do mar. Todas as amostras foram levadas ao laboratório para processamento e fixadas com solução de lugol ácido (1%).

3.2.1 Campanha I – Arquipélago de Currais (curto prazo) final do verão

No dia 16 de fevereiro de 2017 deu-se início a primeira campanha, implantando os coletores na Ilha dos Currais (FIGURA 3). No dia 17 de fevereiro, 24 horas após a implantação, foram resgatados quatro coletores, contendo quatro réplicas de cada um dos plásticos testados, um total de 16 amostras para ser analisadas por coleta.

FIGURA 3 - FOTO DO MERGULHADOR COLOCANDO OS COLETORES NA ILHA DOS CURRAIS.



FONTE: Thiago Pereira Alves (2017).

As coletas previstas para o primeiro, segundo e terceiro mês após a implantação dos substratos na Ilha dos Currais não foram bem-sucedidas por motivos técnicos e meteorológicos, incluindo a tentativa de coletar as amostras durante uma floração de microalgas nocivas (*ostreopsis* cf. *ovata*).

3.2.2 Campanha II - Ilha da Galheta (longo prazo)

Essa nova campanha de implantação foi realizada na primavera de 2017, quando as condições do mar são usualmente melhores, adicionando-se estruturas mais reforçadas de fixação e localização.

Foi feita uma única implantação no dia 05 de outubro de 2017. No dia seguinte foi feita a coleta para o período de 24 horas de quatro coletores. A próxima coleta foi realizada no dia 17 de outubro, em um total de 13 dias após a implantação. Conseguiu-se resgatar apenas dois coletores, e com uma amostra de PP faltando em um dos coletores. Dia 06 de foi realizada a última tentativa de coleta, isso após 32 dias da implantação, porém os coletores estavam sem os flutuadores e com vários déficits de amostra. Todas as amostras estavam sobre o sedimento, sendo recuperadas duas réplicas de cada plástico, exceto pela embalagem de sorvete que só continha uma réplica.

3.3 PROCESSAMENTOS DE AMOSTRAS.

Os potes contendo os substratos plásticos foram sacudidos vigorosamente durante 60 segundos, para desprender as células. O volume total da água recolhida após agitação foi registrado e uma subamostra de 200 mL foi retirada e armazenada com lugol ácido até a contagem.

Para a estimativa da abundância de microalgas, foram usados tubos de centrífuga para sedimentação de 50 mL de amostra. Após 12 horas, foram descartados 47 ml do sobrenadante e os três ml sedimentado no fundo do tubo foram homogeneizados. Em seguida, uma alíquota de um mL foi depositada em uma câmara Sedgewick-Rafter para contagem das células sob um microscópio invertido Axio Zeiss. O volume restante de amostra homogeneizada (2 mL) foi armazenado em microtubos Eppendorf para eventuais reanálises.

Os substratos plásticos foram armazenados em formol 10%. Para os plásticos flexíveis, após alguns dias, foram fixados em lâminas.

As microalgas presentes nas amostras foram identificadas ao menor nível taxonômico possível e valores finais de abundância de células coletadas em cada substrato artificial foram expressos como número de células por cm². O valor da contagem da lâmina foi somado à fração líquida de sua respectiva réplica. Apenas os plásticos flexíveis foram possíveis de análises no microscópio para quantificação do que ficou fixo. Foi feita diversas tentativas de analisar o biofilme que ficou fixo nos plásticos rígidos após o procedimento de lavagem e agitação, porém pelo microscópio não foi visualizado nenhuma alga aderida, provavelmente pelo fato de não se conseguir fazer lâminas desses plásticos.

3.4 PROCESSAMENTOS DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.

A abundância das microalgas componentes do biofilme no plástico foi finalmente calculada em células por centímetro quadrado (cel. cm⁻²), com base na fórmula:

$$\frac{Cel}{cm^2} = \frac{Cel}{\mu L} * \frac{1000\mu L}{1 mL} * \frac{Vol. total da amostra (mL)}{\text{Área total da amostra (cm}^2)} * \frac{(Vol. sedimentado (mL) - Vol. sobrenadante descarte (mL))}{Vol. total sedimentado (mL)}$$

Todas as análises estatísticas e as representações gráficas dos resultados foram feitas no ambiente estatístico R (*R Development Core Team, 2019*). A resposta da abundância das microalgas pelos tipos de substrato, períodos de amostragem e suas interações, foi usando modelos lineares generalizados (MLG, GLM em inglês). As abundâncias de microalgas são variáveis discretas e apresentaram super dispersão, então os modelos candidatos foram ajustados com distribuição de probabilidade binomial negativo, escolhido após usar o Critério de Informação de Akkaike (AIC) para comparar esses dados e selecionar o melhor ajuste. Para buscar as diferenças entre os tratamentos após a seleção dos modelos,

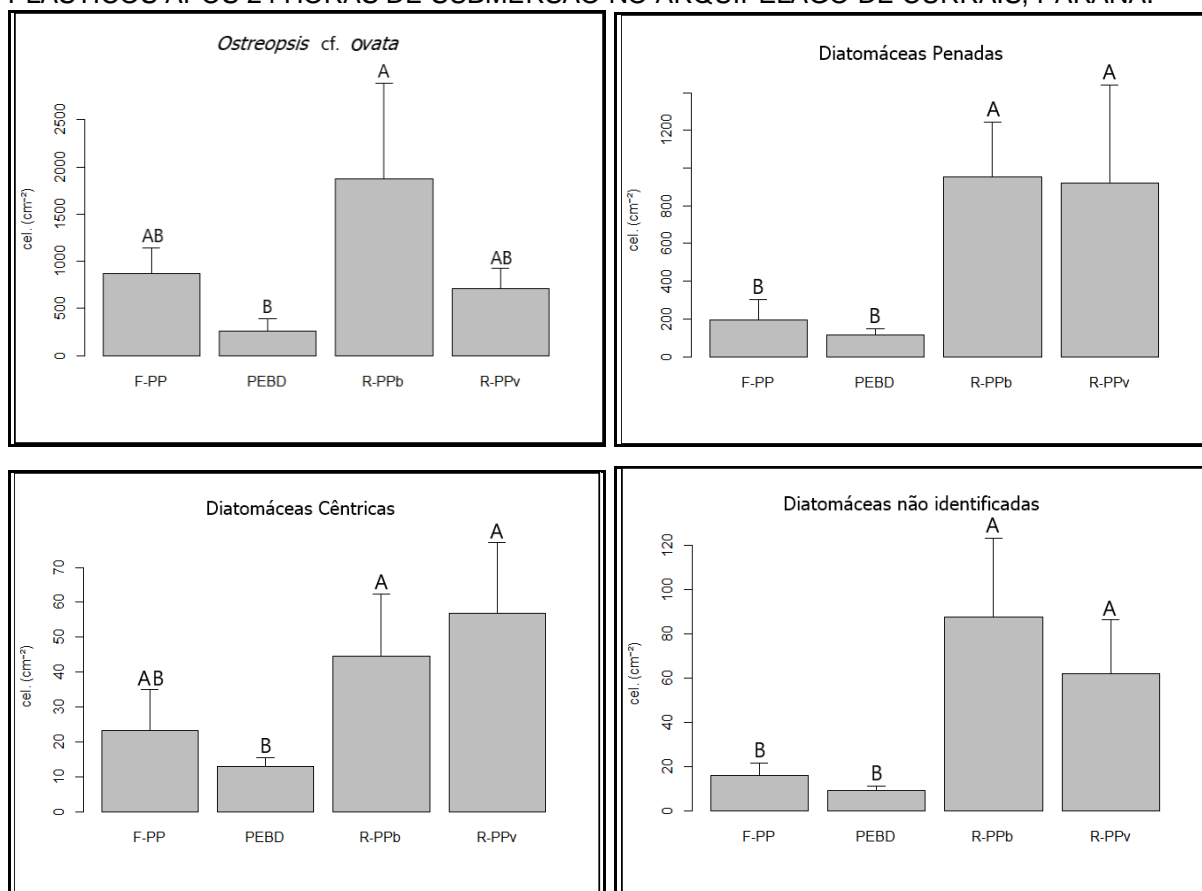
testes a posteriori de Tukey foram realizados (Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts) para melhorar o grau de confiabilidade.

4 RESULTADOS

4.1 CAMPANHA I – CURTO PRAZO, FINAL DO VERÃO

O período em que os resíduos plásticos foram implantados junto ao costão rochoso na ilha principal do Arquipélago de Currais, entre 16 e 17 de fevereiro de 2017, coincidiu com o início de uma floração do dinoflagelado bêntico *Ostreopsis cf. ovata*. Esta espécie de microalga foi a mais abundante em todos os tratamentos testados. Além deste dinoflagelado, diversas espécies de diatomáceas cêntricas e penadas foram encontradas aderidas aos diferentes substratos (GRAFICO 1).

GRÁFICO 1 - ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DOS PRINCIPAIS GRUPOS TAXONÔMICOS DE MICROALGAS BENTÔNICAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 24 HORAS DE SUBMERSÃO NO ARQUIPÉLAGO DE CURRAIS, PARANÁ.



FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: Tipos de plásticos testados: embalagem de plástico flexível (F-PP); sacola (PEBD); tampinha de garrafa branca (R-PPb); tampinha de garrafa vermelha (R-PPv). Para

cada grupo taxonômico, letras iguais acima das colunas indicam valores que não se diferenciam estatisticamente entre si (Tukey, $p > 0.05$). Notar diferentes escalas.

Após 24 horas de submersão, os diferentes materiais plásticos avaliados foram colonizados de forma distinta pelas microalgas bênticas. Tanto *Ostreopsis* como as diferentes diatomáceas alcançaram as maiores abundâncias nos plásticos rígidos (GRÁFICO 1). No geral, as maiores densidades celulares foram de *Ostreopsis*, encontradas no plástico rígido branco (R-PPb) em densidade de até 4784 cel. cm^{-2} , e os valores não foram significativamente distintos ($p=0,397$) daqueles encontrados sobre o plástico rígido de cor vermelha (R-PPv). As menores densidades dessa alga (53 cel. cm^{-2}) foram encontradas nas sacolas (PEBD), tendo uma diferença significativa na sua abundância entre os rígidos brancos ($p=0,008$). Não houve diferença significativa para as comparações entre as densidades celulares de *Ostreopsis* encontradas sobre o PEBD e F-PP ($p=0,221$), nem para a comparação R-PPb e F-PP ($p=0,598$) (GRÁFICO 1, TABELAS 1 E 2).

TABELA 1 – VALORES DE ABUNDÂNCIA DE MICROALGAS QUE COLONIZARAM OS DIFERENTES TIPOS DE PLÁSTICOS NA ILHA DOS CURRAIS NO DIA 17 DE FEVEREIRO DE 2017.

Microalgas	F-PP		PEBD		R-PPb		R-PPv	
	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN
<i>Ostreopsis</i>	1360	91	614	53	4784	155	1129	94
Cêntricas	58	8	18	7	95	11	110	22
Penadas	505	21	201	33	1519	158	2455	183
NI	27	5	14	5	186	25	126	20

FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: Embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP); sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD); tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv); Diatomáceas não identificadas (NI); Abundância máxima (MAX); Abundância Mínima (MIN)

TABELA 2 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM O DINOFLAGELADO *ostreopsis* cf. *ovata* PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.

Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
PEBD - F-PP == 0	-1.190	0.621	-1.917	0.220
R-PPb - F-PP == 0	0.772	0.620	1.245	0.598
R-PPv - F-PP == 0	-0.200	0.620	-0.323	0.988

R-PPb - PEBD == 0	1.963	0.621	3.161	0.008
R-PPv - PEBD == 0	0.990	0.621	1.594	0.381
R-PPv - R-PPb == 0	-0.972	0.620	-1.568	0.397

FONTE: A Autora (2019).

As diatomáceas penadas atingiram suas densidades máximas de 2455 cel. cm^{-2} nos plásticos rígidos (R-PP), sendo que o teste de Tukey mostrou que esses valores não foram significativamente distintos ($p > 0,999$) entre os plásticos rígidos de colorações distintas (R-PPb e R-PPv). Da mesma forma, a abundância de diatomáceas penadas atingiram densidades máximas de 201 e 505 cel. cm^{-2} nos plásticos flexíveis PEBD e F-PP respectivamente, e esses valores não foram significativamente distintos ($p = 0,790$). Na comparação entre os tipos de plásticos mais distintos, as abundâncias foram significativamente maiores nos plásticos rígidos em relação aos flexíveis ($p = 0,001$ a $0,038$) (GRÁFICO 1, TABELA 1 E 3).

TABELA 3 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS PENADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.

Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
PEBD - F-PP == 0	-0.541	0.584	-0.927	0.790
R-PPb - F-PP == 0	1.590	0.582	2.730	0.031
R-PPv - F-PP == 0	1.556	0.582	2.671	0.037
R-PPb - PEBD == 0	2.132	0.583	3.655	0.001
R-PPv - PEBD == 0	2.097	0.583	3.596	0.002
R-PPv - R-PPb == 0	-0.034	0.581	-0.060	0.999

FONTE: A Autora (2019).

As diatomáceas cêntricas atingiram sua maior densidade (110 cel. cm^{-2}) nos plásticos rígidos (R-PP) e a menor densidade (8 cel. cm^{-2}) nos plásticos PEBD. Os valores foram significativamente distintos para às comparações entre os rígidos e as sacolas ($p = 0.041$ e 0.008). As embalagens F-PP atingiram valores máximos de 505 cel. cm^{-2} e seu valor mínimo foram de 21 cel. cm^{-2} . As comparações entre os

plásticos F-PP e os outros tipos plásticos não deram valores significativamente distintos ($p=0.204$ a 0.949) (GRÁFICO 1, TABELA 1 E 4).

TABELA 4 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS CÊNTRICAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.

Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
PEBD - F-PP == 0	-0.581	0.471	-1.232	0.606
R-PPb - F-PP == 0	0.649	0.457	1.420	0.486
R-PPv - F-PP == 0	0.892	0.455	1.958	0.204
R-PPb - PEBD == 0	1.230	0.466	2.639	0.041
R-PPv - PEBD == 0	1.473	0.465	3.169	0.008
R-PPv - R-PPb == 0	0.243	0.450	0.540	0.949

FONTE: A Autora (2019).

Para as diatomáceas não identificadas, as maiores abundâncias foram alcançadas nos plásticos rígidos (R- PP: 186 cel. cm^{-2}). Os valores de densidade celular para este grupo foram significativamente distintos ($p=0.013$ a <0.001) entre os plásticos rígidos de colorações diferentes (R-PPb e R-PPv). Os plásticos PEBD e F-PP tiveram as menores densidades (5 cel. cm^{-2}). Os valores não foram significativos para comparações entre PEBD e F-PP ($p=0.619$), e para R-PPv e R-PPb ($p=0.853$) (GRÁFICO 1, TABELA 1 E 5).

TABELA 5 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS NÃO IDENTIFICADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO.

Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
PEBD - F-PP == 0	-0.575	0.475	-1.211	0.619
R-PPb - F-PP == 0	1.699	0.448	3.791	<0.001
R-PPv - F-PP == 0	1.350	0.449	3.004	0.013
R-PPb - PEBD == 0	2.274	0.461	4.928	<0.001
R-PPv - PEBD == 0	1.925	0.462	4.161	<0.001

R-PPv - R-PPb == 0	-0.348	0.435	-0.801	0.853
---------------------------	--------	-------	--------	-------

FONTE: A Autora (2019).

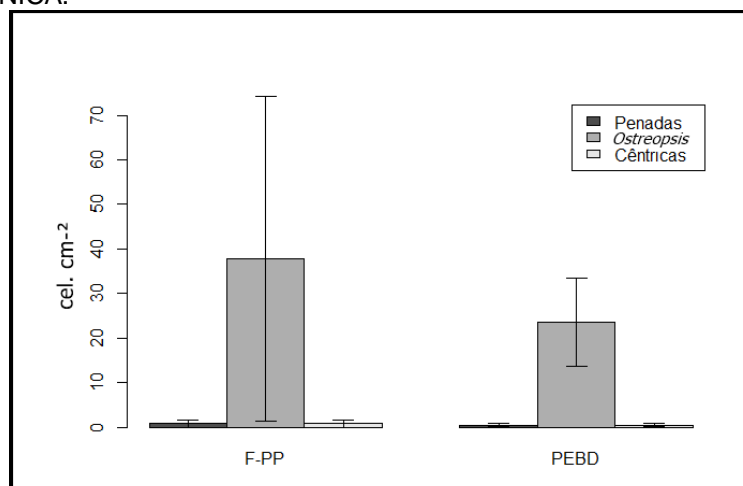
As células de microalgas bênticas se desprenderam com relativa facilidade após o procedimento de agitação mecânica dos materiais plásticos em água do mar filtrada (FIGURA 4), possibilitando estimar suas abundâncias. Ainda assim, uma parcela das células, sobretudo de *Ostreopsis*, permaneceu aderida aos plásticos mesmo após a agitação (GRÁFICO 2).

FIGURA 4 - AMOSTRA LÍQUIDA DO PLÁSTICO R-PPB. CÉLULAS DE *ostreopsis* EXTREMAMENTE ABUNDANTE.



FONTE: A Autora (2019).

GRÁFICO 2 - ABUNDÂNCIA DE MICROALGAS QUE NÃO SOLTARAM DAS LÂMINAS APÓS A AGITAÇÃO MECÂNICA.



FONTE: A Autora (2019).

4.2 CAMPANHA II – LONGO PRAZO, PRIMAVERA

No experimento de primavera, realizado na Ilha da Galheta, Paraná, a formação do biofilme se tornou detectável a partir de 24 horas. A abundância das microalgas – compostas integralmente por diatomáceas – aumentou com o tempo de submersão dos materiais plásticos no ambiente.

Os diferentes materiais plásticos avaliados foram colonizados de forma distinta pelas microalgas bênticas. As diatomáceas penadas atingiram as maiores abundâncias em 24 horas, no plástico R-PPb (224 cel. cm^{-2}) e coincidentemente a menor abundância (33 cel. cm^{-2}). No 13º dia, já estava densamente colonizado pelas microalgas e algumas espécies de briozoários (FIGURA 5, TABELA 4). As diatomáceas penadas foram as microalgas mais abundantes encontradas nos tratamentos do 13º dia, atingindo sua maior abundância no plástico rígido branco ($12.278 \text{ cel. cm}^{-2}$) (GRÁFICO 3). Essa diatomácea colonizou todos os plásticos em 24 horas, aumentando sua abundância até o 13º dia, que se manteve estável até o 32º dia. Não houve valores significativamente distintos para as comparações entre os diversos plásticos testados ($p=0.602$ a 1.000) (GRÁFICO 3, TABELAS 6 e 7). Porém houve valores significativamente distintos entre os tratamentos ao longo do tempo: 1 dia vs. 13 dias ($p=0.007$), e 1 dia vs. 32 dias ($p=0.011$). As abundâncias médias não foram significativamente distintas nos plásticos submersos por 13 e 32 dias ($p=0.987$) (TABELA 7).

TABELA 6 - VALORES DE ABUNDÂNCIA DE MICROALGAS QUE COLONIZARAM OS DIFERENTES TIPOS DE PLÁSTICOS NA ILHA DA GALHETA NO PERÍODO DE 5 DE OUTUBRO A 6 DE NOVEMBRO DE 2017.

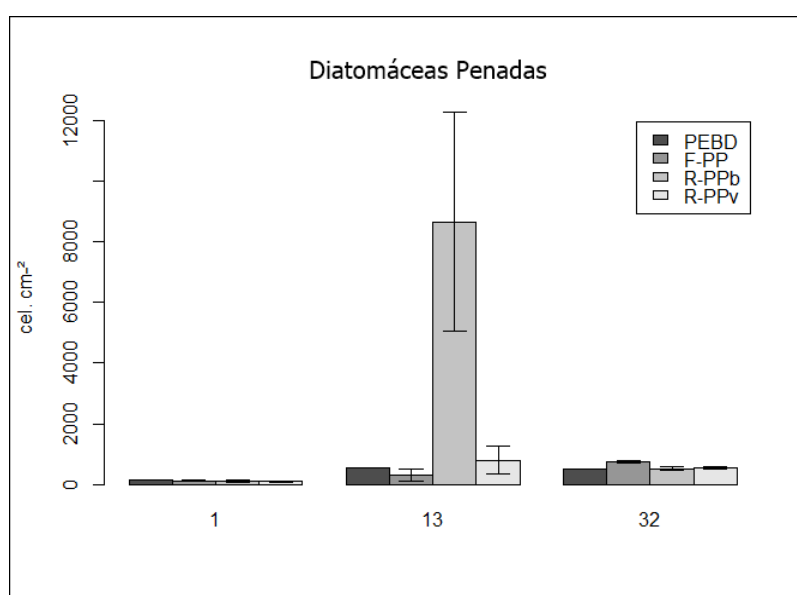
Tempo	Algas	FPP		PEBD		R-PPb		R-PPv	
		MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN
1	Cêntricas	103	68	66	62	81	24	67	40
1	Penadas	148	123	139	101	224	33	128	62
1	NI	26	11	21	7	28	1	23	10
13	Cêntricas	239	239	316	131	276	193	464	348
13	Penadas	557	557	516	87	12278	5049	1242	335
13	NI	42	42	34	20	208	63	78	58

32	Cêntricas	636	636	778	608	752	561	676	638
32	Penadas	511	511	767	716	565	463	579	494
32	NI	50	50	46	43	59	49	52	33

FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP); sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD); tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv); Diatomáceas não identificadas (NI); Abundância máxima (MAX); Abundância Mínima (MIN); Primeiro dia de coleta (1); segunda coleta após 13 dias submerso (13) e terceira coleta após 32 dias submerso (32).

GRÁFICO 3 - ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DAS DIATOMÁCEAS PENADAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 1 DIA, 13 DIAS E 32 DIAS DE SUBMERSÃO NA ILHA DA GALHETA, PARANÁ. TIPOS DE PLÁSTICOS TESTADOS: F-PP; PEBD; R-PPB; R-PPV.



FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP); sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD); tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv); Diatomáceas não identificadas (NI).

TABELA 7 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS PENADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO E COMPARAÇÕES ENTRE O TEMPO.

Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
13 - 1 == 0	1.419	0.468	3.029	0.007
32 - 1 == 0	1.333	0.468	2.844	0.011
32 - 13 == 0	-0.086	0.571	-0.151	0.987
PEBD - F-PP == 0	-0.144	0.314	-0.461	0.967
R-PPb - F-PP == 0	-0.160	0.314	-0.509	0.957

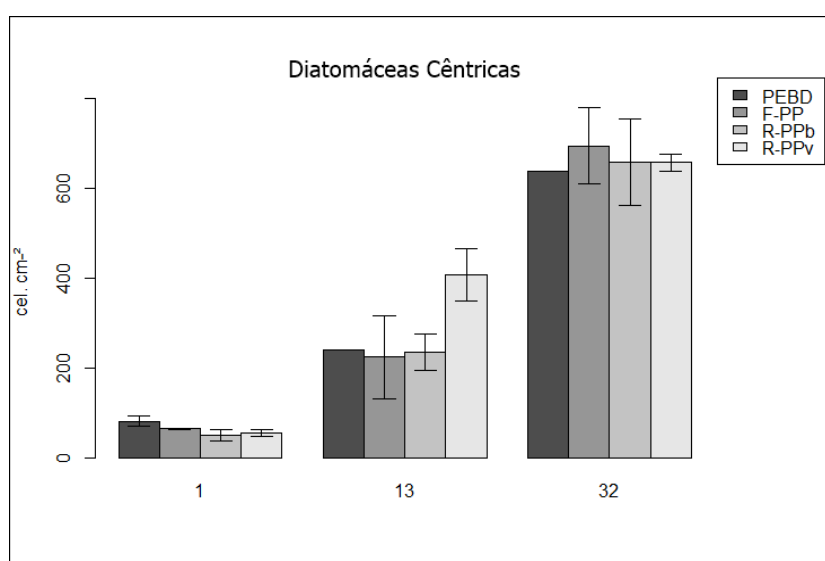
R-PPv - F-PP == 0	-0.417	0.337	-1.238	0.602
R-PPb - PEBD == 0	-0.015	0.291	-0.052	1.000
R-PPv - PEBD == 0	-0.273	0.316	-0.863	0.824
R-PPv - R-PPb == 0	-0.257	0.316	-0.815	0.847

FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP); sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD); tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv); Diatomáceas não identificadas (NI); Abundância máxima (MAX); Abundância Mínima (MIN).

O segundo grupo de microalgas mais abundante nos plásticos foi o das diatomáceas cêntricas, que atingiu uma abundância de 103 cel. cm⁻² em 24 horas no plástico F-PP, 464 cel. cm⁻² no 13° dia no plástico R-PPv. A abundância aumentou de forma exponencial, atingindo sua maior densidade no 32° dia (778 cel. cm⁻² no plástico PEBD), mostrando valores significativamente distintos apenas entre o rígido branco em comparação com o plástico F-PP (p=0.024). Para as comparações entre as abundâncias nos outros plásticos não houve valores significativamente distintos (p=0.132 a 0.960). As abundâncias médias foram significativamente distintas nos plásticos submersos entre os tratamentos ao longo do tempo (p=<0.001) (GRÁFICO 4, TABELA 6 E 8).

GRÁFICO 4. ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm⁻²) DAS DIATOMÁCEAS CÊNTRICAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 1 DIA, 13 DIAS E 32 DIAS DE SUBMERSÃO NA ILHA DA GALHETA, PARANÁ. TIPOS DE PLÁSTICOS TESTADOS: F-PP; PEBD; R-PPB; R-PPV.



FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP); sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD); tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv); Diatomáceas não identificadas (NI).

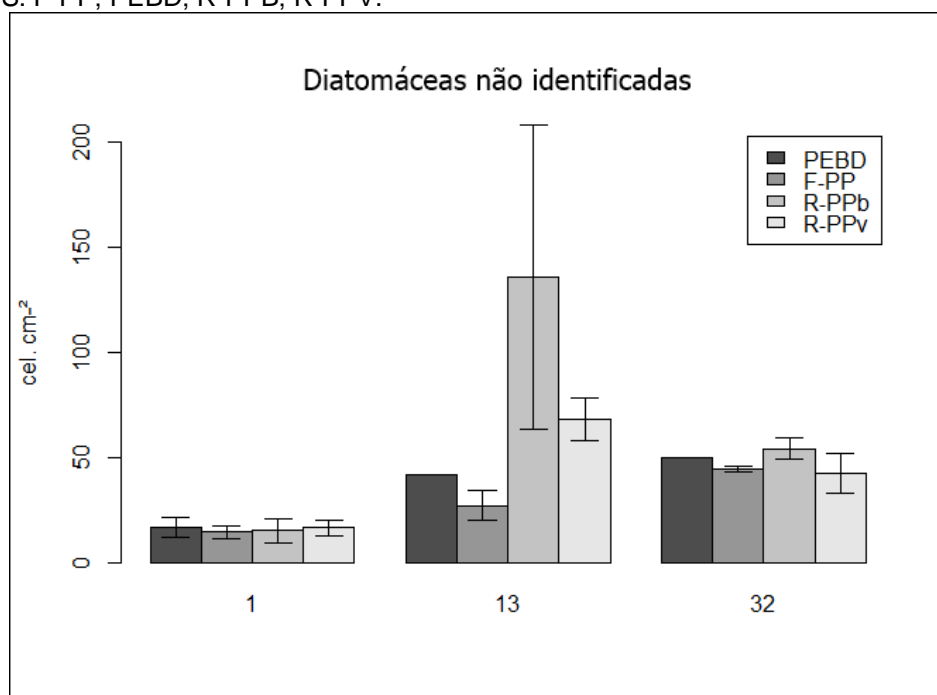
TABELA 8 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS CÊNTRICAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO E COMPARAÇÕES ENTRE O TEMPO.

Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
13 – 1 == 0	1.082	0.244	4.423	< 0.001
32 – 1 == 0	2.060	0.239	8.615	< 0.001
32 – 13 == 0	0.978	0.288	3.396	0.001
PEBD - F-PP == 0	-0.243	0.174	-1.392	0.504
R-PPb - F-PP == 0	-0.502	0.178	-2.820	0.024
R-PPv - F-PP == 0	-0.411	0.189	-2.167	0.132
R-PPb - PEBD == 0	-0.259	0.168	-1.539	0.413
R-PPv - PEBD == 0	-0.168	0.180	-0.930	0.788
R-PPv - R-PPb == 0	0.090	0.184	0.494	0.960

FONTE: A Autora (2019).

As diatomáceas que não foram identificadas aumentaram em abundância ao longo do tempo. O plástico rígido branco (R-PPb) em 24 horas atingiu abundâncias de 28 cel. cm⁻². Aos 13 dias foi a maior densidade (208 cel. cm⁻²) de diatomáceas não identificadas do experimento. No 32° dia sua abundância diminuiu para 59 cel. cm⁻². O plástico PEBD teve a menor abundância dessas microalgas aos 13 dias (20 cel. cm⁻²) e aos 32 dias a menor abundância (33 cel. cm⁻²) foi no plástico R-PPv. O teste de Tukey não mostrou que os valores foram significativamente distintos entre os plásticos (p=0.970 a 1.000). Para as comparações entre os tratamentos ao longo do tempo o teste não mostrou que as abundâncias eram diferentes de forma significativa: 1 dia vs. 13 dias (p=<0.076); 1 dia vs. 32 dias (p=<0.024). As abundâncias médias não foram significativamente distintas nos plásticos submersos por 13 e 32 dias (p=0.935) (GRÁFICO 5, TABELA 6 E 9).

GRÁFICO 5 - ABUNDÂNCIA (CÉLULAS cm^{-2}) DAS DIATOMÁCEAS NÃO IDENTIFICADAS ASSOCIADAS A CADA UM DOS DIFERENTES SUBSTRATOS PLÁSTICOS APÓS 1 DIA, 13 DIAS E 32 DIAS DE SUBMERSÃO NA ILHA DA GALHETA, PARANÁ. TIPOS DE PLÁSTICOS TESTADOS: F-PP; PEBD; R-PPB; R-PPV.



FONTE: A Autora (2019).

LEGENDA: embalagem de plástico flexível de polipropileno (F-PP); sacola plástica de polietileno de baixa densidade (PEBD); tampas rígidas de garrafas de polipropileno branca (R-PPb) e vermelha (R-PPv); Diatomáceas não identificadas (NI).

TABELA 9 - RESULTADOS DOS TESTES *POST-HOC* DE COMPARAÇÕES MÚLTIPLAS DE TUKEY REALIZADOS COM AS DIATOMÁCEAS NÃO IDENTIFICADAS PARA CADA UM DOS PLÁSTICOS USADOS NO EXPERIMENTO E COMPARAÇÕES ENTRE O TEMPO.

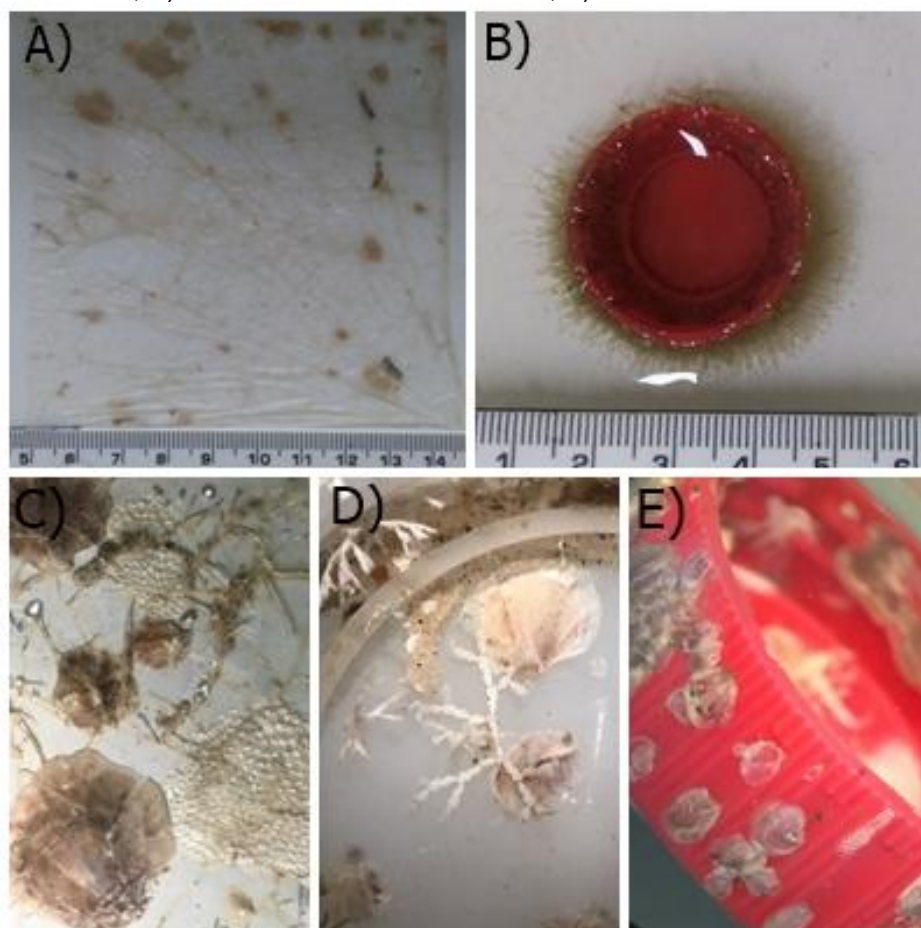
Hipóteses lineares	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
13 - 1 == 0	0.924	0.426	2.166	0.076
32 - 1 == 0	1.098	0.422	2.602	0.024
32 - 13 == 0	0.174	0.501	0.348	0.935
PEBD - F-PP == 0	-0.139	0.312	-0.445	0.970
R-PPb - F-PP == 0	-0.105	0.311	-0.338	0.987
R-PPv - F-PP == 0	-0.020	0.331	-0.061	1.000
R-PPb - PEBD == 0	0.033	0.292	0.116	0.999

R-PPv - PEBD == 0	0.119	0.313	0.380	0.981
R-PPv - R-PPb == 0	0.085	0.312	0.273	0.993

FONTE: A Autora (2019).

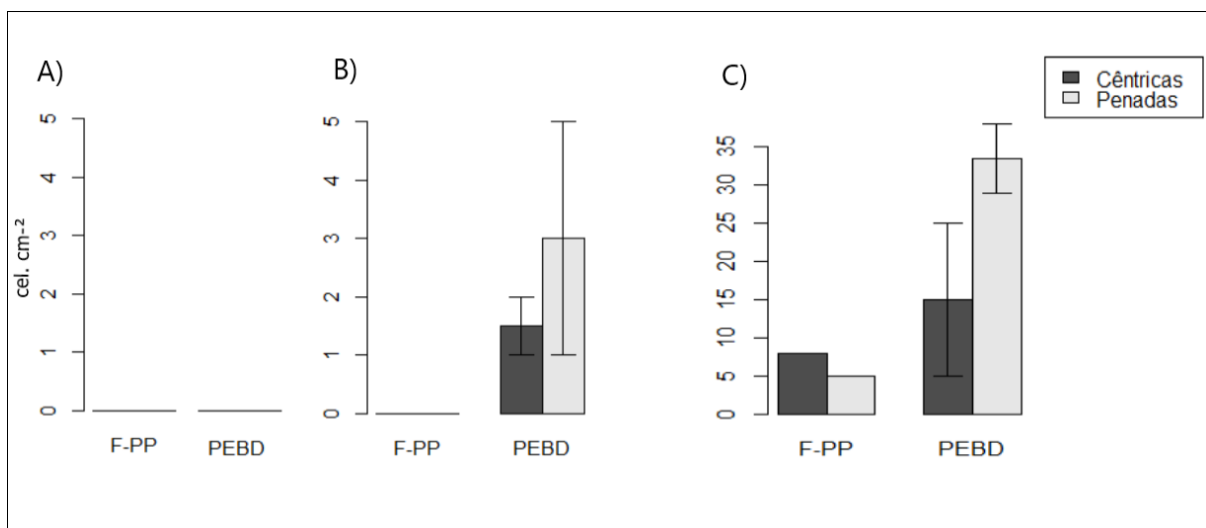
Na segunda coleta (13 dias) o biofilme estava visível, com agregação de microalgas e briozoários. Na terceira e última coleta (32 dias) a abundância do biofilme diminuiu, porém foi observado agregação de vários invertebrados. O biofilme tornou-se mais denso ao longo do tempo, tornando-se firmemente aderido aos materiais plásticos e não sendo totalmente removido pelo procedimento de lavagem e agitação (FIGURA 5, GRÁFICO 6, TABELA 10).

FIGURA 5 - AMOSTRAS DOS PLÁSTICOS SUBMERSOS, ONDE: A) AMOSTRA PEBD COM 13 DIAS SUBMERSO; B) AMOSTRA R-PPV SUBMERSO POR 13 DIAS; C) F-PP 32 DIAS SUBMERSOS; D) R-PPB 32 DIAS SUBMERSOS; E) R-PPV 32 DIAS SUBMERSOS.



Fonte: O autor (2019)

GRÁFICO 6 - ABUNDÂNCIA DE CÉLULAS DE DIATOMÁCEAS QUE PERMANECERAM ADERIDAS AOS DIFERENTES MATERIAIS PLÁSTICOS APÓS A AGITAÇÃO MECÂNICA DEPOIS DOS SEGUINTE TEMPOS DE SUBMERSÃO NO MAR: A) 1 DIA; B) 13 DIAS; C) 32 DIAS. NOTAR DIFERENTE ESCALA DE EIXO-Y EM C.



FONTE: A Autora (2019).

TABELA 10. LISTA DE INVERTEBRADOS ADERIDOS AOS PLÁSTICOS.

INVERTEBRADOS

Hidrozoários

Juvenis de ostras (*Crassostrea* spp.)

Briozoário (*Bugula* spp.)

Columbellidae spp.

Serpulidae spp.

Cheilostomata spp.

Biflustra sp.

Schizoporella errata

Parasmittina sp.

FONTE: A Autora (2019).

5 DISCUSSÃO

Um biofilme microbiano se desenvolve assim que o plástico entra em contato com o meio marinho, envolvendo a colonização por bactérias seguida pelo crescimento de microalgas e invertebrados (ANDRADY, 2011). Assume-se que os microrganismos que se aderem aos fragmentos plásticos criam condições favoráveis para o assentamento de outras espécies, aumentando assim a quantidade desse biofilme, e finalmente servindo de alimento para táxons tróficos mais altos. No presente estudo, a formação de biofilme de microalgas – sobretudo dinoflagelados e diatomáceas – foi constatada já após 24 horas de submersão dos diferentes tipos de materiais plásticos. No entanto, a formação de biofilme sobre materiais plásticos mostra ser temporalmente e espacialmente variável, relacionada à produtividade da água do mar circundante e também à natureza química do polímero (ARTHAM et al., 2009; OBERBECKMANN et al., 2014; EICH et al., 2015).

O manejo inadequado dos resíduos sólidos em toda a região do litoral do Paraná resulta em grandes quantidades de lixo acumulados nas praias e também no interior do Complexo Estuarino de Paranaguá (POSSATTO et al., 2014; KRELLING et al., 2017). A alta disponibilidade de resíduos e a potencial formação de biofilme favorece a ingestão acidental de resíduos plásticos por animais marinhos herbívoros, já que os microrganismos aderidos mudam o aspecto dos plásticos no que diz respeito à aparência, ao odor e paladar. (GREGORY et al., 2009; SCHUYLER et al., 2014; NELMS et al., 2015). No litoral do Paraná, foi observada a ingestão de plásticos na dieta de 93% das tartarugas-verdes encontradas encalhadas nas praias após morte recente (NUNES, 2018). Estes vertebrados possuem uma seletividade alimentar primariamente visual (NARAZAK et al., 2013; FUKUOKA et al., 2016), assim materiais e fragmentos plásticos com alta disponibilidade no ambiente acabam sendo ingeridos (NUNES, 2018).

Durante este estudo, a composição de microalgas bênticas no biofilme variou substancialmente em função da época do ano em que os materiais plásticos foram experimentalmente submersos no mar. A primeira campanha experimental, realizada no final do verão, coincidiu com o início de uma floração do dinoflagelado produtor de neurotoxinas, *Ostreopsis cf. ovata*. Naquela oportunidade, *O. cf. ovata* foi a microalga mais abundante no biofilme de todos os plásticos testados,

alcançando elevadas densidades celulares após 24 horas submersão (máximo de 4784 cel. cm⁻² sobre as tampas de garrafa em polipropileno (PP). Na segunda campanha experimental, que ocorreu durante a primavera seguinte, a composição e abundância de microalgas colonizando os mesmos materiais plásticos foi marcadamente diferente depois de um período equivalente de submersão. Desta vez, a diversidade de microalgas bênticas no biofilme foi superior, com dominância de diferentes espécies de diatomáceas, mas as abundâncias alcançadas foram bastante inferiores (valores máximos de 224 cel. cm⁻² de diatomáceas penadas sobre PP e 103 cel. cm⁻² de diatomáceas cêntricas sobre o plástico flexível, PEBD). A composição e abundância de microalgas no biofilme que coloniza inicialmente os diferentes plásticos depende, portanto, da estrutura da assembleia microfítobêntica nas águas e substratos naturais circundantes.

O dinoflagelado *O. cf. ovata* e as diatomáceas penadas tiveram uma colonização mais efetiva durante o período investigado provavelmente devido a produção massiva de mucilagem por estes organismos. Este muco tem como principal função auxiliar a fixação e conseqüentemente aumentar o potencial de colonização em diferentes substratos, oferecendo vantagens competitivas para as espécies que o produzem (ESCALERA et al., 2014; BEN-GHARBIA et al 2016). Além disto, a mucilagem possivelmente confere melhor hidrodinâmica, proteção contra predação e é responsável pela toxicidade da microalga, o que faz com que, uma vez que as células estão fixadas, torna-se difícil sua remoção do substrato por atividade de herbivoria (REYNOLDS, C. S., 2007; HONSELL et al., 2013). A produção de muco também tem sido sugerida como uma estratégia fotoprotetora, sombreando as células sob intensidades luminosas elevadas e prevenindo o processo de fotoinibição (ACCORONI et al., 2016).

No experimento de curta duração (Campanha I), tanto as diatomáceas como o dinoflagelado *O. cf. ovata* agregaram-se em maiores abundâncias nos fragmentos de PP, sendo suas maiores abundâncias nos rígidos. Possivelmente isso ocorreu por ser um plástico com uma textura que tem partes com rugosidade, que aumenta o poder de fixação delas, pois um plástico flexível, por ser maleável, pode causar atrito, deixando mais difícil de estabelecer colônias. Porém, no experimento de longa duração (Campanha II), as diatomáceas não mostraram uma preferência em agregar-se a plásticos de composição específica. Isso porque ao longo dos dias

submersos as comunidades desenvolvidas vão mudando, sendo que as espécies iniciais podem não ser encontradas ao final do experimento (DOBRETSOV et al., 2013). Sabe-se que as camadas microbianas – biofilmes – estimulam a ligação de algas e invertebrados a esses plásticos no meio marinho (ZARDUS et al., 2008). Assim, ao longo do experimento, as variedades de microrganismos que passam pelos plásticos aumentam a força de adesão, tornando-os bons substratos para outras colônias microalgais se estabelecerem.

Um estudo desenvolvido nas praias nos entornos do CEP registrou a ocorrência de fragmentos de plástico, embalagens de alimentos e tampas de garrafas de PP em 81,3% das amostras analisadas (KRELLING et al., 2017). Nesta região, os itens plásticos encontrados com maior frequência (20,57%) são aqueles compostos de PP colorido (NUNES, 2018). No presente estudo, a coloração (branco e vermelho) não pareceu afetar a colonização das tampas de PP pelas microalgas bênticas. Entretanto, um estudo anterior (DOBRETSOV et al., 2013) revelou que placas plásticas (acrílico) pintadas em coloração preta foram colonizadas por maiores densidades de organismos bênticos, incluindo micro- e macroalgas, do que aquelas pintadas em branco, sobretudo em curto e médio prazo (até 30 dias). As razões para a colonização preferencial podem envolver a fototaxia negativa das fases larvais no momento do assentamento, além de diferenças na temperatura e absorção/reflexão de radiação solar nos diferentes substratos (discutido em DOBRETSOV et al., 2013). Desta forma, a questão da colonização das diatomáceas e os dinoflagelados nos substratos de cores variadas devem ser levados em consideração e melhor investigada em estudos futuros.

Na Campanha II, quando os plásticos permaneceram por cerca de um mês submersos, o biofilme tornou-se bem desenvolvido e visível ao olho nu após 13 dias de submersão. A abundância das diatomáceas cêntricas aumentou progressivamente ao longo do tempo, atingindo abundâncias cerca de 10 vezes superiores no final do tempo de exposição (média: 61 cel. cm⁻² após 1 dia vs. 664 cel. cm⁻² após 32 dias). As diatomáceas penadas, por sua vez, aumentaram sua densidade em cerca de 25 vezes após somente 13 dias, quando atingiram o pico de abundância (média: 2866 cel. cm⁻²), reduzindo a partir daí para valores similares aos das diatomáceas cêntricas após 32 dias de submersão. De forma semelhante, um estudo no norte da Europa demonstrou que a composição e abundância das

comunidades de diatomáceas colonizando diferentes tipos de substratos plásticos variam ao longo do tempo (OBERBECKMANN et al., 2014).

Diferentes espécies de microrganismos podem apresentar preferências distintas ao agregar superfícies plásticas (OBERBECKMANN et al., 2014). De modo semelhante, no presente estudo, diferentes macro-invertebrados colonizaram sucessivamente a superfície dos diferentes tipos de plástico ao longo do período de um mês. Na fase final do experimento, houve uma dominância de invertebrados herbívoros, sobretudo de juvenis de ostras (*Crassostrea* sp.), o que provavelmente explique o decréscimo na abundância de microalgas naquele intervalo de tempo. Fatores como cor, textura, orientação e as comunidades microbianas iniciais podem impactar significativamente o desenvolvimento em curto prazo das comunidades incrustantes (BERS & WAHL, 2004 ; HOIPKEMEIER-WILSON et al., 2004). No presente estudo foi observado uma diferença na composição desses macro invertebrados sobre os diferentes tipos de plásticos. As tampinhas de garrafa estavam visualmente muito mais colonizadas que as sacolas plásticas (PEBD). Sendo que os juvenis de ostra estavam em sua maioria colonizando a borda da tampinha, possivelmente por ali ser rugoso e permitir uma melhor fixação. Não foi observado um efeito de cor no estabelecimento dos invertebrados (HODSON et al., 2000).

Resíduos plásticos macroscópicos (>5 mm) podem causar inúmeros problemas ambientais. Quando ingeridos pela fauna, podem afetar a saúde e até a sobrevivência dos organismos via obstrução mecânica dos órgãos respiratórios e digestivos, além de lesões internas e externas, e uma falsa sensação de saciedade com consequente desnutrição (GUEBERT-BARTHOLO et al., 2011). Desta forma, a ingestão acidental destes resíduos causa impactos que vão desde alterações na flutuabilidade, formação de fecalomas nos intestinos, até a morte por inanição em casos mais graves (BUTTERWORTH; CLEGG; BASS, 2012). Adicionalmente, organismos marinhos que ingerem materiais plásticos, podem ser intoxicados por seus constituintes tóxicos (aditivos) que agem como desreguladores endócrinos (EDCs), tais como bisfenol A e ftalatos, e por poluentes orgânicos persistentes (POPs) que se adsorvem ao plástico no ambiente (GALLO et al., 2018).

A intoxicação por tais compostos é mais provável mediante a ingestão de partículas menores chamadas de microplásticos (<5 mm), que têm uma razão

superfície: volume superior e uma maior possibilidade de atravessar membranas celulares. Da mesma forma, microalgas bênticas produtoras de compostos neurotóxicos potentes, tais como o dinoflagelado *Ostreopsis*, também podem se aderir a fragmentos de lixo plástico, que passam a atuar como vetores adicionais da toxina na cadeia trófica, inclusive no ambiente pelágico (CASABIANCA et al., 2019).

Resíduos plásticos podem ser cobertos por quantidades moderadas a grande de células microalgais tóxicas no ambiente marinho, como demonstrado nesse estudo (até 4800 cel. cm⁻²) e – em menor grau – em outro estudo recente no Mar Mediterrâneo (até 260 células cm⁻²) (CASABIANCA et al., 2019). No presente estudo, os dinoflagelados produtores de toxinas foram dominantes sobre as diatomáceas em todos os tipos de lixo plástico deixados na água por 24 h durante uma floração de *Ostreopsis cf. ovata* no Arquipélago de Currais, litoral do Paraná. Assim, detritos plásticos revestidos por células tóxicas podem assumir o papel de vetores artificiais de toxinas para a fauna marinha. Os potenciais efeitos prejudiciais interativos/aditivos suscitados por sua ingestão devem ser cuidadosamente considerados e examinados. Esses materiais plásticos são encontrados frequentemente na dieta de tartarugas-verdes no estado do Paraná (NUNES et al., 2018). A possibilidade de colonização por células tóxicas, portanto, torna ainda mais graves os efeitos da ingestão acidental desses detritos por tartarugas e outros animais. Além de afetarem a saúde do organismo exposto, as toxinas podem se bioacumular nos tecidos, e serem transferidas ao longo da cadeia trófica marinha (ANDERSON et al., 2016; COLE et al., 2013). Esse dinoflagelado produz toxinas semelhantes às palitoxinas, isto é, palitoxina isobárica (PLTX) e ovatoxinas (OVTXs) (BRISSARD et al., 2014; GARCÍA-ALTARES et al., 2015), que podem intoxicar os seres humanos por inalação (aerossol marinho) ou ingestão de frutos do mar contaminados (CIMINIELLO et al., 2008; TUBARO et al., 2011; ILLOUL et al., 2012; FUNARI et al., 2015). A palitoxina é considerada um dos compostos não peptídicos de ocorrência natural mais tóxicos por exposição oral, e foram relatados casos de morte humana relacionados à ingestão de frutos do mar contaminados com PLTX (RAMOS et al., 2010; TUBARO et al., 2011). As populações de *Ostreopsis* do sul do Brasil guardam grandes semelhanças no genótipo, no perfil de toxinas e nas condições ambientais ótimas ao crescimento em relação às populações do Mar Mediterrâneo (TIBIRIÇÁ et al., 2019). Os riscos de intoxicação humana por toxinas

de *Ostreopsis* nessa região devem ser considerados pelas autoridades locais envolvidas em programas de segurança de frutos do mar.

6 CONCLUSÃO

Neste estudo, observou-se biofilme se desenvolveu assim que o plástico entrou em contato com o meio marinho. Embora a diatomácea seja dita de maior poder de colonização. A campanha I teve predomínio da alga tóxica *Ostreopsis cf. ovata*. Isso demonstrou que o plástico pode ser mais prejudicial à saúde dos animais marinhos por estar altamente colonizado com microalgas extremamente tóxicas e podendo ser dispersas pelo ambiente. A Campanha II teve maior duração submersa mostrando variações nas espécies encontradas e na abundância da colonização nos resíduos plásticos ao longo do tempo. A campanha I foi possível observar que as microalgas tiveram preferência na hora de colonizar os substratos, sendo a sacolinha de mercado a que menos teve colonização e a tampinha foi a que teve mais microalgas aderidas. O biofilme no plástico pode ser determinante na hora da fauna selecionar os alimentos para consumir.

A presença abundante de *O cf. ovata* cobrindo os plásticos que flutuam na região do Arquipélago de Currais é particularmente perturbadora do ponto de vista da conservação marinha, visto que a região é uma área de alimentação de diversos animais. Além da composição química do plástico ser tóxico, o lixo plástico pode estar coberto por doses elevadas de neurotoxinas durante a floração de *Ostreopsis*. De modo que a intoxicação crônica e aguda de animais que ingerem lixo plástico contendo microalgas tóxicas representa, portanto, uma possibilidade bastante real em determinadas ocasiões. Os riscos de impactos negativos de florações *O. cf. ovata* para a fauna marinha e a saúde humana devem ser monitoradas continuamente no sul do Brasil.

Desta forma, a questão da colonização das diatomáceas e os dinoflagelados nos plásticos e suas interações com as toxinas e cores variadas devem ser levadas em consideração e melhor investigada em estudos futuros para uma melhor compreensão das ameaças aditivas que o plástico causa ao ecossistema.

REFERÊNCIAS

- ACCORONI, S.; TOTTI, C. The toxic benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis* in temperate areas: a review. *Advances in Oceanography and Limnology*, 7(1), 2016.
- ANDERSON, J.C.; PARK, B.J.; PALACE, V.P. Microplastics in aquatic environments: Implications for Canadian ecosystems. *Environ. Pollution*. 218, 269–280. 2016.
- ANGULO, R.J. Geologia da Planície Costeira do Estado do Paraná. Ph.D. Thesis, Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo. 332 f. 1992.
- ANDRADY, A. L. Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Touro*. pp. 1596 – 1605. 2011.
- ANTIQUERA, M. S.; ONOFRE, E. V.; TIEPOLO, L. M. Desafios para conservação da Tartaruga Verde (*Chelonia mydas*) no litoral paranaense. REALIZAÇÃO, [S.l.], v. 5, n. 9, p. 14-20, nov. 2018. ISSN 2358-3401. Disponível em: <<http://ojs.ufgd.edu.br/index.php/realizacao/article/view/8534>>. Acesso em: 10 dez. 2019.
- BARNES, D.K.A.; GALGANI, F.; THOMPSON, R.C.; BARLAZ, M. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 1985–1998, 2009.
- BARTOL, S.; MUSICK, J. Sensory biology of sea turtles. In *The Biology of Sea Turtles*, 2, Pp. 79 - 102. Ed. de Lutz J. Musick PL Wyneken JA. CRC Press, Boca Raton, FL. 2003.
- BERS, A. V.; WAHL, M. The influence of natural surface microtopographies on fouling. *Biofouling*, 20: 43–51, 2004.
- BEN-GHARBA, H .; YAHIA, OK-D .; AMZIL, Z .; CHOMÉRAT, N .; ABADIE, E .; MASSERET, E .; SIBAT, M .; ZMERLI TRIKI, H .; NOURI, H .; LAABIR, M. Toxicity and Growth Assessments of Three Thermophilic Benthic Dinoflagellates (*Ostreopsis* cf. *ovata*, *Prorocentrum lima* and *Coolia monotis*) Developing in the Southern Mediterranean Basin. *Toxins*, 8 , 297, 2016.
- BHASKAR, T.; KANEKO, J.; MUTO, A.; SAKATA, Y.; JAKAB, E.; MATSUI, T. E.; UDDIN, M. A. Pyrolysis studies of PP/PE/PS/PVC/HIPS-Br plastics mixed with PET and dehalogenation (Br, Cl) of the liquid products. *Jornal de Pyrolysis analítica e aplicada*. 2004.
- BRANDÃO, M.L.; BRAGA, K.M.; LUQUE, J.L. Marine debris ingestion by *Magellanic penguins*, *Spheniscus magellanicus* (Aves: Sphenisciformes), from the Brazilian coastal zone. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2246–2249, 2011.
- BRISSARD, C.; HERRENKNECHT, C.; SÉCHET, V.; HERVÉ, F.; PISÁPIA, F.; HARCOUET, J.; LÉMÉE, R.; CHOMÉRAT, N.; HESS, P.; AMZIL, Z. Complex toxin

profile of French Mediterranean *Ostreopsis cf. ovata* strains, seafood accumulation and ovatoxins prepurification. *Mar. Drugs*. 12, 2851–2876, 2014.

BUTTERWORTH, A.; CLEGG, I.; BASS, C. Untangled - Marine debris: A global picture of the impact on Animal welfare and of animal-focused solutions. *World Society for the Protection of Animals*, London, p. 78, 2012.

CARLOS EDUARDO J. A. TIBIRIÇÁ, ISABEL P. LEITE, TALITA V. V. BATISTA, LUCIANO F. FERNANDES, NICOLAS CHOMÉRAT, FABIENNE HERVE, PHILIPP HESS, LUIZ L. MAFRA JR. *Ostreopsis cf. ovata* Bloom in Currais, Brazil: Phylogeny, Toxin Profile and Contamination of Mussels and Marine Plastic Litter. *Toxins*, volume 11, edição 8, 446, 2019.

CIMINIELLO, P.; DELL'AVERSANO, C.; FATTORUSSO, E.; FORINO, M.; TARTAGLIONE, L.; GRILLO, C.; MELCHIORRE, N. Putative Palytoxin and its new analogue, Ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian Coasts during the 2006 toxic outbreak. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* v. 19, p. 111–120. 2008.

Conheça os tipos de plástico. Disponível em: <<http://www.ecycle.com.br/component/content/article/44-guia-da-reciclagem/706-conheca-os-tipos-de-plastico.html>> acesso em: 09 de junho de 2017.

COLE, P. LINDEQUE, E. FILEMAN, C. HALSBAND, R. GOODHEAD, J. MOGER, T. S. GALLOWAY. Microplastic ingestion by zooplankton. *Environ. Sci. Technol.*, 47, p. 6646-6655. 2013.

DOBRETSOV, S.; ABED, R. M. M.; VOOLSTRA, C. R. The effect of surface colour on the formation of marine micro and macrofouling communities. *Biofouling*. 29:617–627. 2013.

EICH, A.; MILDENBERGER, T.; LAFORSCH, C.; WEBER, M. Biofilm and Diatom Succession on Polyethylene (PE) and Biodegradable Plastic Bags in Two Marine Habitats: Early Signs of Degradation in the Pelagic and Benthic Zone? *PLoS ONE*, 2015.

ENDO S., TAKIZAWA R., OKUDA K., TAKADA H., CHIBA K., KANEHIRO H., OGI H., YAMASHITA R. & DATE T. Concentration of polychlorinated biphenyls (PCBs) in beached resin pellets: variability among individual particles and regional differences. *Mar. Pollut. Bull.* 50, 1103–1114. 2005.

ESCALERA, L.; BENVENUTO, G.; SCALCO, E.; ZINGONE, A.; MONTRESOR, M. Ultrastructural Features of the Benthic Dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* (Dinophyceae). Elsevier. *Protist*, ISSN: 1434-4610, Vol: 165, Edição: 3, Página: 260-274, 2014.

FUKUOKA, T.; YAMANE, M.; KINOSHITA, C.; NARAZAKI, T.; MARSHALL, G. J.; ABERNATHY, K. J.; MIYAZAKI, N.; SATO, K. The feeding habit of sea turtles influences their reaction to artificial marine debris. *Scientific Reports*, v. 6, 2016.

FUNARI, E.; MANGANELLI, M.; TESTAI, E. *Ostreopsis cf. ovata* blooms in coastal water: Italian guidelines to assess and manage the risk associated to bathing waters and recreational activities. *Harmful Algae*. 2015.

GALL, S.C.; THOMPSON, R.C. THE impact of debris on marine life. *Mar. Pollution Bull.* 92, 170–179, 2015.

GALLO, F.; FOSSI, C.; WEBER, R.; SANTILLO, D.; SOUSA, J.; INGRAM, I.; NADAL, A.; ROMANO, D. Marine litter plastics and microplastics and their toxic chemicals components: the need for urgent preventive measures. *Environ. Sci. Eur.* 2018.

GARCÍA-ALTARES, M.; TARTAGLIONE, L.; DELL'AVERSANO, C.; CARNICER, O.; DE LA IGLESIA, P.; FORINO, M.; DIOGÈNE, J.; CIMINIELLO, P. The novel ovatoxin-g and isobaric palytoxin (so far referred to as putative palytoxin) from *Ostreopsis cf. ovata* (NW Mediterranean Sea): Structural insights by LC-high resolution MSn. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 1191–120, 2015.

GREGORY, M.R. Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v.364. p. 2013-2025. 2009.

GUEBERT-BARTHOLO, F. M.; BARLETTA, M.; COSTA, M. F.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Using gut contents to assess foraging patterns of juvenile green turtles *Chelonia mydas* in the Paranaguá Estuary, Brazil. *Endangered Species Research*, v. 13, p. 131–143. 2011.

HOIPKEMEIER-WILSON, L, SCHUMACHER, J F, CARMAN, M L, GIBSON, A L, FEINBERG, A W, CALLOW, M E, FINLAY, J A, CALLOW, J A AND BRENNAN, A B. Antifouling potential of lubricious, micro-engineered, PDMS elastomers against zoospores of the green fouling alga *Ulva (Enteromorpha)*. *Biofouling*, 20: 53–63, 2004.

HONSELL, G.; BONIFACIO, A.; DE BORTOLI, M.; PENNA, A.; BATTOCCHI, C.; CIMINIELLO, P.; DELL'AVERSANO, C.; FATTORUSSO, E.; SOSA, S.; YASUMOTO, T. New insights on cytological and metabolic features of *Ostreopsis cf. ovata* Fukuyo (Dinophyceae): A multidisciplinary approach. *PLoS ONE*, 2013.

ILLOUL, H.; HERNÁNDEZ, F.R.; VILA, M.; ADJAS, N.; YOUNES, A.A.; BOURNISSA, M.; KOROGHLI, A.; MAROUF, N.; RABIA, S.; AMEUR, F.L.K. The Genus *Ostreopsis* along the Algerian Coastal Waters (SW Mediterranean Sea) Associated with a Human Respiratory Intoxication Episode. *Cryptogam. Algol.* V. 33, p. 209–216. 2012.

KRELLING, A. P.; SOUZA, M. M.; WILLIAMS, A. T.; TURRA, A. Transboundary movement of marine litter in an estuarine gradient: Evaluating sources and sinks using hydrodynamic modelling and ground truthing estimates. *Marine Pollution Bulletin*, v. 119, n. 1, p. 48–63, 2017.

LAUTERT L. F. C. Diagnóstico sócio natural da porção sul do Município de Paranaguá – PR. Rio Claro. Dissertação de Mestrado Universidade Estadual Paulista. 1999.

LARSSON, M.E.; LACZKA, O.F.; SUTHERS, I.M.; AJANI, P.A.; DOBLIN, M.A. Hitchhiking in the East Australian Current: rafting as a dispersal mechanism for harmful epibenthic dinoflagellates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* v. 596, p. 49–60. 2019.

M.K. VIRSEK, M.N. LOVESIN, S. KOREN, A. KRAZAN, M. PETERLIN. Microplastics as a vector for the transport of the bacterial fish pathogen species *Aeromonas salmonicida*. *Mar. Pollut. Bull.* pp. 301-309. 2017.

MASÓ, M.; GARCÉS, J.; PAGÈS, F.; CAMP, J. Drifting plastic debris as a potential vector for dispersing Harmful Algal Blooms (HAB) species. *Sci. Mar.* 67, 107 -111. 2003.

NARAZAKI, T., SATO, K., ABERNATHY, K. J., MARSHALL, G. J. & MIYAZAKI, N. Loggerhead turtles (*Caretta caretta*) use vision to forage on gelatinous prey in mid-water. *PLoS One* 8. 2013.

NELMS, S. E.; DUNCAN, E. M.; BRODERICK, A. C. Plastic and marine turtles: a review and call for research. *ICES Journal of Marine Science*, v. 72, p. 359–373. 2015.

NUNES, T. Y. Disponibilidade no ambiente e ingestão de resíduos sólidos antrópicos por tartarugas- verde (*chelonía mydas*) no litoral do paraná. Graduação (Bacharelado em Oceanografia) – Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 2018.

OBERBECKMANN, S.; LOEDER, M. G. J.; GERDTS, G.; OSBORN, A. M. Spatial and seasonal variation in diversity and structure of microbial biofilms on marine plastics in Northern European waters. *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 90, Issue 2, November, Pages 478–492. 2014.

Plastics – the Facts 2019 An analysis of European plastics production, demand and waste data. Disponível em: <https://www.plasticseurope.org/application/files/9715/7129/9584/FINAL_web_version_Plastics_the_facts2019_14102019.pdf> Acesso em: 10 de dezembro de 2019.

PORTAL PREFEITURA MUNICIPAL DE PONTAL DO PARANÁ. Ilhas em Pontal do Paraná. Disponível em: <<http://www.pontaldoparana.pr.gov.br/portalnovo/turista/53-ilhas>> acesso em 10 de junho de 2017.

POSSATTO, F.E.; SPACH, H. L.; CATTANI, A. P.; LAMOUR, M. R.; SANTOS, L. O.; CORDEIRO, N. M. A.; BROADHURST, M. K. Marine debris in a World Heritage Listed Brazilian estuary. *Marine Pollution Bulletin*. 2014.

RAMOS, V.; VASCONCELOS, V. Palytoxin e análogos: Efeitos biológicos e ecológicos. *Mar. Drugs*. V. 8 , p. 2021-2037. 2010.

REYNOLDS, C.S. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: Facultative responses to the environment. *Hydrobiologia*, 578, 37–45, 2007.

REISSER, J.; SHAW, J.; HALLEGRAEFF, G.; PROIETTI, M.; BARNES, D.K.A.; THUMS, M. Millimeter-Sized Marine Plastics: A New Pelagic Habitat for Microorganisms and Invertebrates. *PLoS ONE* 9 (6): e100289. 2014.

SCHUYLER, Q. A.; WILCOX, C.; TOWNSEND, K.; HARDESTY, B. D.; MARSHALL, N. J. Mistaken identity? Visual similarities of marine debris to natural prey items of sea turtles. *BMC Ecology*, v. 14, n. 14, p. 1–7. 2014.

SCHUYLER, P.; HARDESTY, B.D.; WILCOX, C.; TOWNSEND, K. Global analysis of anthropogenic debris ingestion by sea turtles. *Conservation Biology*, 28: 129 -139. 2014.

T. ARTHAM, M. SUDHAKAR, R. VENKATESAN, C. MADHAVAN NAIR, K.V.G.K. MURTY, M. DobleBiofouling and stability of synthetic polymers in sea water *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63 p. 884-890. 2009.

TEUTEN, E. L.; SAQUING, J. M.; KNAPPE, D. R. U.; BARLAZ, M. A.; JONSSON, S.; BJÖRN, A.; ROWLAND, S. J.; THOMPSON, R. C.; GALLOWAY, T. S.; YAMASHITA, R.; OCHI, D.; WATANUKI, Y.; MOORE, C.; VIET, P. H.; TANA, T. S.; PRUDENTE, M.; BOONYATUMANOND, R.; ZAKARIA, M. P.; AKKHAVONG, K.; OGATA, Y.; HIRAI, H.; IWASA, S.; MIZUKAWA, K.; HAGINO, Y.; IMAMURA, A.; SAHA, M.; TAKADA, H. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 364, n. 1526, p. 2027–2045. 2009.

TOURINHO, P.S.; IVAR DO SUL, J.A.; FILLMANN, G. Is marine debris ingestion still a problem for the coastal marine biota of southern Brazil? *Mar. Pollut. Bull.* 60, 396–401. 2010.

TUBARO, A.; DURANDO, P.; DEL FAVERO, G.; ANSALDI, F.; ICARDI, G.; DEEDS, J.R.; SOSA, S. Case definitions for human poisonings postulated to palytoxins exposure. *Toxicol.* V. 57, p. 478–495. 2011.

VEGTER, A. C.; BARLETTA, M.; BECK, C.; BORRERO, J. Global research priorities to mitigate plastic pollution impacts on marine wildlife. *Endang Species Res* 25:225–247. 2014.

WERNER, S.; BUDZIAK, A.; VAN FANNEKER, J.A.; GALGANI, F.; HANKE, G.; MAES, T.; MATIDDI, M.; NILSSON, P.; OOSTERBAAN, L.; PRIESTLAND, E. *Harm Caused by Marine Litter*, European Commission: Luxembourg. 2016.

ANEXO 1

RESULTADOS DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA UNIFATORIAIS (ANOVA) REALIZADAS PARA CADA UM DOS PRINCIPAIS GRUPOS TAXONÔMICOS DE MICROALGAS DA CAMPANHA I- ILHA DOS CURRAIS.

Grupo taxonômico		Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Pr(>Chi)
Ostreopsis	NULL			15	27.238	
Ostreopsis	tratamento	3	9.3043	12	17.934	0.025
Diatomáceas Penadas	NULL			15	35.656	
Diatomáceas Penadas	tratamento	3	17.963	12	17.692	0.000
Diatomáceas Cêntricas	NULL			15	27.978	
Diatomáceas Cêntricas	tratamento	3	11.476	12	16.503	0.009
Diatomáceas Não identificadas	NULL			15	30.587	
Diatomáceas Não identificadas	tratamento	3	17.383	12	13.204	0.000

*N.I (Não identificadas).

RESULTADOS DAS ANÁLISES DE VARIÂNCIA UNIFATORIAL (ANOVA) REALIZADA PARA CADA UM DOS PRINCIPAIS GRUPOS TAXONÔMICOS DE MICROALGAS DA CAMPANHA II- ILHA DA GALHETA.

		Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Pr(>Chi)
Diatomáceas Penadas	NULL			27	410.33	
Diatomáceas Penadas	Tempo		298.564	25	111.77	< 2.2e-16
Diatomáceas Penadas	Tratamento		21.372	22	90.39	8.81e-05
Diatomáceas Penadas	Tempo:tratamento		61.558	16	28.84	2.17e-11
Diatomáceas Cêntricas	NULL			27	679.91	
Diatomáceas	Tempo		629.14	25	50.78	< 2e-16

Cêntricas						
Diatomáceas Cêntricas	Tratamento		6.27	22	44.51	0.099
Diatomáceas Cêntricas	Tempo:tratam ento	36	14.66	16	29.85	0.023
Diatomáceas Não identificadas	NULL			27	147.948	
Diatomáceas Não identificadas	Tempo		91.971	25	55.977	< 2e-16
Diatomáceas Não identificadas	Tratamento		8.130	22	47.847	0.043
Diatomáceas Não identificadas	Tempo:tratam ento		14.942	16	32.906	0.020

*N.I (Não identificadas).