



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTAMIRA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E  
CONSERVAÇÃO**

**SANDRA LETICIA SILVA DOS SANTOS**

**PRESENÇA DE MICROPLÁSTICOS EM GIRINOS ORIUNDOS DE  
DIFERENTES AMBIENTES ANTROPIZADOS NA AMAZÔNIA**

**BELÉM**

**2024**



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ALTAMIRA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO**

**SANDRA LETICIA SILVA DOS SANTOS**

**PRESENÇA DE MICROPLÁSTICOS EM GIRINOS ORIUNDOS DE DIFERENTES  
AMBIENTES ANTROPIZADOS NA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Orientadora: Profa. Dra. Veronica Regina Lobato de Oliveria Bahia

Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Martinelli Filho

**BELÉM**

2024

SANDRA LETICIA SILVA DOS SANTOS

**PRESENÇA DE MICROPLÁSTICOS EM GIRINOS ORIUNDOS DE  
DIFERENTES AMBIENTES ANTROPIZADOS NA AMAZÔNIA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Pará, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Conservação.

Data da aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Banca Examinadora:**

---

Nome com titulação

Examinador interno/externo - Instituição a que pertence

---

Nome com titulação

Examinador interno/externo - Instituição a que pertence

---

Nome com titulação

Examinador interno/externo - Instituição a que pertence

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho às pessoas mais importantes da minha vida: meu avô, Seu João, minha avô, Dona Helena e minha mãe, Dona Margarete. São eles que sempre me incentivaram a persistir, oferecendo seu apoio, carinho e paciência. Sem eles, nada disso seria possível.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço profundamente à minha orientadora, Professora Verônica, que sempre teve paciência comigo e nunca desistiu de mim, sempre acreditando no meu potencial e incentivando-me a melhorar a cada dia.

Ao meu coorientador, Professor Martinelli, que contribuiu para aumentar ainda mais meu interesse no estudo dos plásticos no meio ambiente.

À minha família - meu avô, Seu João, minha mãe, Margarete, e minhas irmãs, Heloísa e Suelen -, que sempre acreditaram mais em mim do que eu mesma.

Aos meus melhores amigos, Leilane e Hugo, que estiveram sempre ao meu lado e sempre me incentivaram a ser uma pessoa melhor todos os dias.

Aos membros do meu laboratório - Fabielle, Adrian, Brenda e Maria Luíza -, que tornaram essa jornada de mestrado muito mais acolhedora e menos solitária.

Aos meus amigos, Raphael, Gabriel, Gustavo, Phamella, Paulo, Paloma e Jean, que torceram e vibraram com todas as minhas conquistas.

Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer a mim mesma. Por acreditar em mim, por todo o trabalho árduo que realizei e, acima de tudo, por nunca desistir.

## EPÍGRAFE

“Viver é arriscar tudo. Caso contrário você  
é apenas um pedaço inerte de moléculas  
montadas aleatoriamente à deriva onde o  
universo te sopra.”

Rick Sanchez - Rick and Morty

## RESUMO GERAL

A poluição por plástico nas últimas décadas teve um crescimento significativo tornando-se um problema de proporção global, uma vez que 90% dos plásticos são descartados em aterros sanitários. No ambiente, os plásticos são fragmentados em partículas menores produzindo uma quantidade considerável de resíduos que poluem os meios aquáticos e terrestres. Os microplásticos (MPs), são as partículas que possuem de 1µm até 5 mm em seu diâmetro, podendo ser classificadas como primárias quando fabricados para fins específicos e secundários quando são originados da degradação biológica, química ou mecânica. Em organismos terrestres e aquáticos, a ingestão de microplásticos pode afetar aspectos da reprodução, alimentação e levar à morte em alguns casos. Dentre os animais que são afetados tanto no ambiente aquático quanto no ambiente terrestre por MPs estão os anuros, os quais são considerados importantes ferramentas de biomonitoramento em estudos ecotoxicológicos e sua presença ou ausência impacta diretamente diferentes níveis tróficos. Entretanto, pouco se sabe sobre a atual situação das populações que vivem na Amazônia. Este estudo teve como objetivo verificar a presença de microplásticos em girinos em uma metrópole na Amazônia, especialmente em duas paisagens antropizadas: Ambiente 1 (A1) e o Ambiente 2 (A2). A coleta abrangeu amostras de girinos, água e sedimento de poças temporárias. Os resultados indicam que, embora haja diferenças na quantidade de MPs entre amostras de água e sedimento nas duas paisagens, as diferentes localidades não contribuem significativamente para as variações na quantidade dos MPs nos girinos. Observou-se diferenças estatísticas na forma e quantidade de MPs entre as espécies de girinos. Essas variações parecem estar associadas ao uso da coluna d'água e aos hábitos alimentares específicos de cada espécie. Os girinos das espécies *Scnax x-signatus* e *Pithecopus hypochondrialis* que habitam a coluna d'água e possuem hábito alimentar filtrador, apresentaram uma quantidade significativa de fibras plásticas pigmentadas, enquanto os girinos de *Rhinella marina*, que estão mais presentes no substrato e possuem hábito alimentar raspador, apresentaram principalmente fragmentos pigmentados. Esses achados ressaltam a complexidade dos efeitos dos microplásticos em ecossistemas aquáticos, especialmente na Amazônia, enfatizando a importância de considerar a ecologia específica de cada organismo ao avaliar os riscos associados à presença dessas partículas.

Palavras Chaves: Lissamphibia, Anura, Poluição plástica, Poça Temporária

## ABSTRACT

Plastic pollution has significantly increased in the last decades, becoming a problem of global proportions, as 90% of plastics are disposed of in landfills. In the environment, plastics are fragmented into smaller particles, producing a considerable amount of waste that pollutes aquatic and terrestrial environments. Microplastics (MPs) are particles ranging in size from 1µm to 5 mm in diameter and can be classified as primary when manufactured for specific purposes and secondary when originating from biological, chemical, or mechanical degradation. In terrestrial and aquatic organisms, the ingestion of microplastics can affect aspects of reproduction, feeding, and lead to death in some cases. Among the animals affected by MPs in both aquatic and terrestrial environments are anurans, which are considered important biomonitoring tools in ecotoxicological studies, and their presence or absence directly impacts different trophic levels. However, little is known about the current situation of populations living in the Amazon. This study aimed to assess the presence of microplastics in tadpoles in a metropolis in the Amazon, especially in two anthropized landscapes: the Belém campus of the Federal University of Pará (A1) and the Gunma Ecological Park (A2). Sampling included tadpole, water, and sediment samples from temporary puddles. The results indicate that, although there are differences in the quantity of MPs between water and sediment samples in the two landscapes, the different locations do not significantly contribute to variations in the quantity of MPs in tadpoles. Statistical differences were observed in the shape and quantity of MPs among tadpole species. These variations appear to be associated with the use of the water column and the specific feeding habits of each species. Tadpoles of the species *Scnax x-signatus* and *Pithecopus hypochondrialis*, which inhabit the water column and have filter-feeding habits, showed a significant amount of pigmented plastic fibers, while tadpoles of *Rhinella marina*, which are more present in the substrate and have scraping feeding habits, mainly showed pigmented fragments. These findings highlight the complexity of the effects of microplastics on aquatic ecosystems, especially in the Amazon, emphasizing the importance of considering the specific ecology of each organism when assessing the risks associated with the presence of these particles.

Keywords: Lissamphibia, Anura, Plastic pollution,



## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	10
1.1 Plásticos no meio ambiente .....	11
1.2 Microplásticos e seus Efeitos Biológicos .....	12
1.3 Microplásticos em Anuros .....	13
1.4 Microplásticos na Amazônia .....	14
2 OBJETIVOS GERAIS .....	15
2.2 Objetivos Específicos .....	15
3 REFERÊNCIAS .....	16
CARACTERIZAÇÃO DE MICROPLÁSTICOS ENCONTRADOS EM GIRINOS EM DOIS AMBIENTES COM DISTINTOS NÍVEIS DE ANTROPIZAÇÃO NA AMAZÔNIA. ....	20
Resumo.....	21
Introdução .....	22
Materiais e Métodos.....	23
Área de Estudo .....	23
Descrição das populações de girinos.....	24
Coletas de dados.....	25
Processamento das Amostras .....	26
Controle de Qualidade.....	26
Critérios de exclusão de partículas e caracterização visual de microplásticos.....	27
Validação e caracterização química dos microplásticos .....	27
Análises Estatísticas .....	28
Aspectos Éticos .....	28
Resultados .....	28
Microplásticos na água e sedimento de diferentes paisagens.....	29
Microplásticos nas populações de Girinos .....	29
Discussão.....	30
Conclusão.....	33
Referências .....	34
Apêndices .....	38

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento populacional nas últimas décadas produziu uma quantidade considerável de resíduos plásticos que são lançados no meio ambiente (Barnes *et al.*, 2009). As garrafas, sacolas e redes de pesca plásticas oriundas de áreas urbanas e agrícolas quando descartadas incorretamente passam pelo processo de fragmentação, transformando-se em partículas menores que possuem formatos, espessuras e diâmetros diferentes (Dris *et al.*, 2016; Fossi *et al.*, 2017). Dentre as partículas plásticas existentes, os microplásticos (MPs) são definidos como as partículas que possuem de 1µm até 5 mm em seu diâmetro (Thompson *et al.*, 2004) e sua presença tem sido considerada preocupante devido a sua capacidade de adentrar diferentes ecossistemas, tanto aquáticos quanto terrestres, sendo notificada em águas, sedimentos e organismos, tanto em regiões tropicais quanto em regiões polares do planeta.

As possíveis consequências da exposição ao microplásticos são variadas. Em nível molecular, os MPs podem alterar a expressão de genes, quebrar ou danificar DNA e promover a formação de micronúcleo (Kaur *et al.*, 2022). Em nível celular, podem alterar as atividades enzimáticas, a viabilidade celular, promover a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), alterar a composição da célula, dos níveis de hormônio da tireóide e níveis de clorofila em plantas (Kaur *et al.*, 2022).

Um dos grupos de animais que podem ser afetados pelo descarte indiscriminado e pelo acúmulo de MPs tanto no ambiente aquático quanto no ambiente terrestre são os anuros (do Amaral *et al.*, 2019). Por possuírem ciclo de vida duplo, pele e ovos permeáveis e baixa taxa metabólica são considerados importantes sistemas de modelo em estudos ecotoxicológicos (Araújo *et al.*, 2021; Hu *et al.*, 2018). Os girinos, que são as larvas de anuros, fornecem importantes considerações sobre níveis tróficos inferiores e superiores devido a seus hábitos alimentares, o que os torna especialmente vulneráveis a contaminantes presentes no ambiente.

Embora existam pesquisas que reportem os efeitos deletérios da ingestão de MPs em girinos em laboratório, informações sobre o grau de contaminação nas populações da Amazônia são inexistentes até o momento, apesar da ampla presença de tais contaminantes na região (Rico *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2023; Gerolin *et al.*, 2020; Martinelli Filho and Monteiro, 2019). O objetivo deste trabalho foi de quantificar e

caracterizar os MPs presentes em girinos oriundos de diferentes paisagens na Amazônia e relacionar a presença de MPs com as características biológicas dessas populações.

### 1.1 Plásticos no meio ambiente

Os plásticos, por definição, são polímeros compostos por materiais sintéticos ou provenientes de substâncias naturais, em sua maioria, derivadas do petróleo (Sávio and Pereira, 2009) podendo ser classificados como termoplásticos ou termorrígidos baseados em seu comportamento durante o processo de fabricação. Os termoplásticos preservam sua composição química quando submetidos ao aquecimento, possibilitando moldagens repetidas. Em contrapartida, os termorrígidos têm a capacidade de derreter e assumir uma forma específica apenas uma vez, solidificando-se permanentemente após esse processo (Hansen et al., 2013; Sávio and Pereira, 2009).

Devido a suas características, como o baixo peso, baixo custo, elevada resistência química e mecânica, facilidade de aditivação, além da aplicação em indústrias de embalagens, construção e até mesmo na fabricação de produtos cosméticos, o plástico tem substituído alternativas como aço, vidro e madeira (Hansen *et al.*, 2013; Sávio and Pereira, 2009), tornando o consumo do plástico pela sociedade humana mais acentuado, possibilitando assim que emergja como um dos materiais fundamentais na vida cotidiana.

Anualmente, segundo o relatório de 2021 da Organização das Nações Unidas (ONU), entre 19 e 23 milhões de toneladas de resíduos plásticos são gerenciados de forma inadequada e acabam adentrando fontes terrestres e corpos d'água ao redor do mundo, tornando-o assim uma ameaça iminente à saúde do planeta. Na grande maioria, plásticos utilizados pelos seres humanos não são polímeros puros e, em quase todos os casos, são formados de compostos com diferentes aditivos para melhorar suas propriedades, como: evitar a degradação durante o processamento, melhorar a resistência ao fogo, evitar a degradação no ambiente (UV, temperatura, umidade, microrganismos), reduzir a colonização por microrganismos ou até mesmo reduzir o custo da fabricação deste material (Hansen *et al.*, 2013).

Quando adentram os diferentes ecossistemas, as garrafas, embalagens, sacolas e redes plásticas provenientes do uso humano passam por um processo de degradação biológica, química ou mecânica (Dris *et al.*, 2016; Fossi *et al.*, 2017) e, além de poder liberar no ambiente os compostos químicos que outrora foram adicionados para melhorar seus aspectos físicos, eles são fragmentados em partículas de diversos tamanhos, formatos

e diâmetros que podem afetar negativamente a produção e ciclagem de nutrientes, causando estresse em diversos organismos (Ma *et al.*, 2020).

Além disso, a poluição terrestre e aquática por plásticos é extremamente preocupante devido ao seu potencial como vetor de exposição e transferência de compostos altamente tóxicos (Sobral *et al.*, 2011). À medida que as partículas de plástico envelhecem, tanto seu tamanho quanto sua textura podem afetar sua capacidade de adsorver (poluentes hidrofóbicos e metais pesados, como os Poluentes Orgânicos Persistentes) e/ou liberar contaminantes (Horton *et al.*, 2017; Olivatto *et al.*, 2018). Essas substâncias são bioacumulativas e contribuem para o processo de biomagnificação, no qual a concentração de determinada substância aumenta ao longo dos níveis tróficos da cadeia alimentar. Isso resulta em um maior acúmulo dessas substâncias nos organismos que ocupam os níveis tróficos mais elevados, podendo, com o passar do tempo, pôr em risco a composição e estabilidade do ecossistema (Ma *et al.*, 2020).

## 1.2 Microplásticos e seus Efeitos Biológicos

Os microplásticos (MPs) são as partículas plásticas sólidas de tamanhos, formas, cores e propriedade químicas distintas que possuem de 1µm até 5 mm em seu diâmetro (Thompson *et al.*, 2004), tendo sua classificação variando baseado na sua origem. Podem ser classificados como primários quando são produtos oriundos da fabricação para indústria cosmética, tais como produtos de perfumaria, pasta dental, gel de barbear, esfoliantes e glitter ou secundários quando são produtos da degradação causada pela foto-oxidação induzida pela exposição à luz solar e outros processos naturais, como variação de temperatura, ionização, hidrólise, solubilização, e interação com microrganismos (Castro-Castellon *et al.*, 2022).

Atualmente, a presença de MPs já é notificada em águas, sedimentos e organismos, tanto em regiões tropicais quanto em regiões polares do nosso planeta. Uma razão plausível para justificar sua onipresença em ambientes diversos é o tamanho reduzido dessas partículas, o que as torna facilmente passíveis de dispersão pelo ar e água, além da ingestão por uma variedade de organismos distribuídos em distintos níveis tróficos (Karlsson *et al.*, 2017). Organismos podem ser expostos de diferentes formas aos MPs: podem ingerir diretamente as partículas disponíveis no ambiente, inalar MPs dispersos na atmosfera ou serem expostos por meio da contaminação de alimentos ou água previamente contaminados.

Dentre os efeitos em organismos aquáticos, estudos apontam que a presença de MPs pode afetar diretamente os seres vivos, promovendo a redução na alimentação, aptidão reprodutiva e até mesmo a morte (de Sá *et al.*, 2018). Existem relatos na literatura onde, quando ingeridos, os MPs criam uma sensação de falsa saciedade (Barnes *et al.*, 2009), além de poderem ser transportados para vários órgãos, desencadeando respostas imunes, inflamações e reduzindo reservas energéticas (Wright *et al.*, 2013). Em organismos terrestres, os efeitos são expressos na redução de peso, como demonstrado em minhocas e ratos por Huerta Lwanga *et al.*, (2016) e na inibição do crescimento e reprodução do colêmbolo do solo (Ju *et al.*, 2019). Em relação a saúde pública, sabe-se atualmente que as partículas plásticas de tamanhos pequenos passam pelo processo convencional de tratamento de água potável e podem liberar substâncias tóxicas durante o processo, colocando em risco a saúde da população (Koh *et al.*, 2022).

### 1.3 Microplásticos em Anuros

Um dos grupos de animais que podem ser afetados pelo descarte indiscriminado, acúmulo no ambiente e exposição aos MPs tanto no ambiente aquático, quanto no ambiente terrestre, são os anuros (do Amaral *et al.*, 2019). A presença e abundância de anuros têm grandes impactos nas redes tróficas terrestres e aquáticas, tornando-os assim fundamentais ecologicamente e ambientalmente (Babini *et al.*, 2015). Por possuírem ciclo de vida duplo, uma fase larval aquática e um adulto terrestre, hábitos de alimentação generalista, pele e ovos permeáveis e baixa taxa metabólica, os anuros são considerados importantes sistemas de modelo em estudos ecotoxicológicos e estão especialmente vulneráveis a contaminantes presentes no ambiente (Araújo *et al.*, 2021; Babini *et al.*, 2015).

Os girinos, que são as larvas de anuros, fornecem importantes considerações sobre níveis tróficos inferiores e superiores devido a seus hábitos alimentares, alimentando-se em diferentes estratos da coluna de água, podendo adotar comportamentos bentônicos ao raspar o substrato ou nectônicos ao filtrar partículas alimentares na superfície, tornando-se assim vulneráveis a diversos contaminantes (Junges *et al.*, 2012; McDiarmid and Altig, 1999).

Existe uma quantidade notável de informações disponíveis na literatura acerca da exposição de girinos a microplásticos em laboratório. Hu *et al.*, (2016) observou em sua pesquisa que os girinos de *Xenopus tropicalis* expostos a microesferas de poliestireno

acumularam MPs nas brânquias e no trato digestivo dentro de 1 hora após a exposição, e nas fezes após 6 horas de exposição, podendo ser capaz de ingerir mais MPs se a disponibilidade de alimento diminuir. Complementarmente, outros estudos observaram aspectos comportamentais, onde a presença de MPs pode diminuir a capacidade locomotora do girino, promover sintomas de efeito ansiogênico, bem como déficit de resposta defensiva antipredatória (Araújo and Malafaia, 2020).

Outros danos da exposição a MPs em girinos podem ser expressos na hepatotoxicidade (Araújo *et al.*, 2020), danos mutagênicos (da Costa Araújo *et al.*, 2020), anormalidades nucleares (Araújo *et al.*, 2020), alteração no crescimento e desenvolvimento, aumento significativo em marcadores de estresse oxidativo e nitrosativo (Araújo *et al.*, 2023) e até mesmo a morte (Balestrieri *et al.*, 2022).

Embora existam pesquisas que reportem a presença de MPs nas populações de girinos no ambiente natural (Hu *et al.*, 2022, 2018b; Karaoğlu and Gül, 2020; Kolenda *et al.*, 2020; Pastorino *et al.*, 2023; Szkudlarek *et al.*, 2023), informações sobre o grau de contaminação de populações na Amazônia são inexistentes até o momento.

#### 1.4 Microplásticos na Amazônia

A Amazônia, maior floresta tropical remanescente do mundo, é conhecida por sua rica biodiversidade, complexidade ecológica e papel vital nos sistemas climáticos globais, no entanto, estudos sobre a presença e quantidade de MPs em ambientes terrestres na Amazônia são escassos. A literatura existente concentra-se em ambientes aquáticos, como a Plataforma Continental (Queiroz *et al.*, 2022), rios (Gerolin *et al.*, 2020; Rico *et al.*, 2023; Santos *et al.*, 2023), balneários (Oliveira; Hattori; Sant'anna, 2023) e praias (Martinelli Filho; Monteiro, 2019). Sendo assim, até o momento, ressalta-se que existe uma lacuna de informações sobre a contaminação por MPs no ambiente terrestre.

A Floresta Amazônica, em particular, encontra-se atualmente vulnerável à presença de MPs. Estudos recentes, como o de Huang *et al.*, (2022) destacam que as florestas desempenham um papel eficaz na interceptação de MPs atmosféricos, devido à deposição passiva nas folhas das árvores. No entanto, esse efeito é mitigado pela ação da água da chuva, que transporta as partículas em direção ao solo, podendo promover gradientes de concentração em diferentes áreas. Além disso, a falta de investigações nesse ambiente é, em parte, atribuída à elevada presença de matéria orgânica nas amostras, o que representa um desafio significativo para a identificação química de materiais

plásticos. Assim, a realização de estudos sobre a ocorrência de MPs em ambientes terrestres na Amazônia torna-se essencial para compreender o impacto desses poluentes nesse ecossistema.

## **2 OBJETIVOS GERAIS**

Caracterizar a presença, quantidade e os tipos de microplásticos encontrados em girinos oriundos de duas diferentes paisagens antropizadas na Amazônia.

### **2.2 Objetivos Específicos**

I. Identificar e comparar os microplásticos entre as diferentes paisagens baseados na sua quantidade, formato, cor, tamanho e composição química;

II. Comparar a quantidade dos microplásticos encontrados em populações de diferentes espécies de girinos;

III. Comparar a morfologia das partículas encontradas em populações de diferentes espécies de girinos;

IV. Comparar a composição química das partículas encontradas em populações de diferentes espécies de girinos.

### 3 REFERÊNCIAS

Araújo, A.P. da C., Gomes, A.R., Malafaia, G., 2020. Hepatotoxicity of pristine polyethylene microplastics in neotropical *Physalaemus cuvieri* tadpoles (Fitzinger, 1826). *J Hazard Mater* 386. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121992>

Araújo, A.P. da C., Luz, T.M. da, Ahmed, M.A.I., Ali, M.M., Rahman, M.M., Nataraj, B., de Melo e Silva, D., Barceló, D., Malafaia, G., 2023. Toxicity assessment of polyethylene microplastics in combination with a mix of emerging pollutants on *Physalaemus cuvieri* tadpoles. *J Environ Sci (China)* 127, 465–482. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.05.013>

Araújo, A.P. da C., Malafaia, G., 2020. Can short exposure to polyethylene microplastics change tadpoles' behavior? A study conducted with neotropical tadpole species belonging to order Anura (*Physalaemus cuvieri*). *J Hazard Mater* 391, 122214. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122214>

Araújo, A.P. da C., Rocha, T.L., e Silva, D. de M., Malafaia, G., 2021. Micro(nano)plastics as an emerging risk factor to the health of amphibian: A scientometric and systematic review. *Chemosphere* 283, 131090. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131090>

Babini, M.S., Salas, N.E., De Lourdes Bionda, C., Martino, A.L., 2015. Implications of urbanization on the presence, distribution and reproductive ecology of the anuran fauna of a city in central Argentina. *Rev Mex Biodivers* 86, 188–195. <https://doi.org/10.7550/rmb.43684>

Balestrieri, A., Winkler, A., Scribano, G., Gazzola, A., Lastrico, G., Grioni, A., Pellitteri-Rosa, D., Tremolada, P., 2022. Differential effects of microplastic exposure on anuran tadpoles: A still underrated threat to amphibian conservation? *Environmental Pollution* 303. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119137>

Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>

Castro-Castellon, A.T., Horton, A.A., Hughes, J.M.R., Rampley, C., Jeffers, E.S., Bussi, G., Whitehead, P., 2022. Ecotoxicity of microplastics to freshwater biota: Considering exposure and hazard across trophic levels. *Science of The Total Environment* 816, 151638. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151638>

da Costa Araújo, A.P., de Melo, N.F.S., de Oliveira Junior, A.G., Rodrigues, F.P., Fernandes, T., de Andrade Vieira, J.E., Rocha, T.L., Malafaia, G., 2020. How much are microplastics harmful to the health of amphibians? A study with pristine polyethylene microplastics and *Physalaemus cuvieri*. *J Hazard Mater* 382. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121066>

de Sá, L.C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Rocha, T.L., Fütter, M.N., 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should



we focus our efforts in the future? *Science of The Total Environment* 645, 1029–1039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.207>

do Amaral, D.F., Guerra, V., Motta, A.G.C., de Melo e Silva, D., Rocha, T.L., 2019. Ecotoxicity of nanomaterials in amphibians: A critical review. *Science of The Total Environment* 686, 332–344. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.487>

Dris, R., Gasperi, J., Saad, M., Mirande, C., Tassin, B., 2016. Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment? *Mar Pollut Bull* 104, 290–293. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.006>

Fossi, M.C., Romeo, T., Bainsi, M., Panti, C., Marsili, L., Campani, T., Canese, S., Galgani, F., Druon, J.-N., Airoidi, S., Taddei, S., Fattorini, M., Brandini, C., Lapucci, C., 2017. Plastic debris occurrence, convergence areas and fin whales feeding ground in the Mediterranean Marine Protected Area Pelagos Sanctuary: A Modeling Approach. *Front Mar Sci* 4. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00167>

Gerolin, C.R., Pupim, F.N., Sawakuchi, A.O., Grohmann, C.H., Labuto, G., Semensatto, D., 2020. Microplastics in sediments from Amazon rivers, Brazil. *Science of the Total Environment* 749. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141604>

Hansen, Erik., Nilsson, N.H., Lithner, D., Lassen, C., 2013. Hazardous substances in plastic materials.

Hu, L., Chernick, M., Hinton, D.E., Shi, H., 2018. Microplastics in Small Waterbodies and Tadpoles from Yangtze River Delta, China. *Environ Sci Technol* 52, 8885–8893. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02279>

Hu, L., Fu, J., Zheng, P., Dai, M., Zeng, G., Pan, X., 2022. Accumulation of microplastics in tadpoles from different functional zones in Hangzhou Great Bay Area, China: Relation to growth stage and feeding habits. *J Hazard Mater* 424. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127665>

Hu, L., Su, L., Xue, Y., Mu, J., Zhu, J., Xu, J., Shi, H., 2016. Uptake, accumulation and elimination of polystyrene microspheres in tadpoles of *Xenopus tropicalis*. *Chemosphere* 164, 611–617. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.002>

Huerta Lwanga, E., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salánki, T., van der Ploeg, M., Besseling, E., Koelmans, A.A., Geissen, V., 2016. Microplastics in the Terrestrial Ecosystem: Implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae). *Environ Sci Technol* 50, 2685–2691. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05478>

Ju, H., Zhu, D., Qiao, M., 2019. Effects of polyethylene microplastics on the gut microbial community, reproduction and avoidance behaviors of the soil springtail, *Folsomia candida*. *Environ Pollut* 247, 890–897. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2019.01.097>

Junges, C.M., Peltzer, P.M., Lajmanovich, R.C., Attademo, A.M., Cabagna Zenklusen, M.C., Basso, A., 2012. Toxicity of the fungicide trifloxystrobin on tadpoles and its effect on fish–tadpole interaction. *Chemosphere* 87, 1348–1354. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.026>

Karaoğlu, K., Gül, S., 2020. Characterization of microplastic pollution in tadpoles living in small water-bodies from Rize, the northeast of Turkey. *Chemosphere* 255, 126915. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2020.126915>

Karlsson, T.M., Vethaak, A.D., Almroth, B.C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., Leslie, H.A., 2017. Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation. *Mar Pollut Bull* 122, 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.081>

Kaur, H., Rawat, D., Poria, P., Sharma, U., Gibert, Y., Ethayathulla, A.S., Dumée, L.F., Sharma, R.S., Mishra, V., 2022. Ecotoxic effects of microplastics and contaminated microplastics – Emerging evidence and perspective. *Science of The Total Environment* 841, 156593. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156593>

Koh, K.Y., Chen, Z., Lin, S., Chandra Mohan, K., Luo, X., Chen, J.P., 2022. Leaching of organic matters and formation of disinfection by-product as a result of presence of microplastics in natural freshwaters. *Chemosphere* 299. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.134300>

Kolenda, K., Kuśmierk, N., Pstrowska, K., 2020. Microplastic ingestion by tadpoles of pond-breeding amphibians—first results from Central Europe (SW Poland). *Environmental Science and Pollution Research* 27, 33380–33384. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09648-6>

Ma, H., Pu, S., Liu, S., Bai, Y., Mandal, S., Xing, B., 2020. Microplastics in aquatic environments: Toxicity to trigger ecological consequences. *Environmental Pollution* 261, 114089. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114089>

Martinelli Filho, J.E., Monteiro, R.C.P., 2019. Widespread microplastics distribution at an Amazon macrotidal sandy beach. *Mar Pollut Bull* 145, 219–223. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.05.049>

McDiarmid, R.W., Altig, R., 1999. Tadpoles: the biology of anuran larvae. University of Chicago Press.

Oliveira, L.G. de, Hattori, G.Y., Sant’Anna, B.S., 2023. Microplastic contamination in bathing areas in the Central Amazon, Itacoatiara, Brazil. *Environmental Science and Pollution Research* 30, 117748–117758. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-30509-5>

Pastorino, P., Anselmi, S., Esposito, G., Bertoli, M., Pizzul, E., Barceló, D., Elia, A.C., Dondo, A., Prearo, M., Renzi, M., 2023. Microplastics in biotic and abiotic compartments of high-mountain lakes from Alps. *Ecol Indic* 150, 110215. <https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2023.110215>

Queiroz, A.F. dos S., da Conceição, A.S., Chelazzi, D., Rollnic, M., Cincinelli, A., Giarrizzo, T., Martinelli Filho, J.E., 2022. First assessment of microplastic and artificial microfiber contamination in surface waters of the Amazon Continental Shelf. *Science of The Total Environment* 839, 156259. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156259>

Rico, A., Redondo-Hasselerharm, P.E., Vighi, M., Waichman, A. V., Nunes, G.S. de S., de Oliveira, R., Singdahl-Larsen, C., Hurley, R., Nizzetto, L., Schell, T., 2023. Large-scale monitoring and risk assessment of microplastics in the Amazon River. *Water Res* 232, 119707. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.119707>

Santos, L. F. O., Neu, V., Monteiro, R. C. P., Kütter, V. T., Morais, L. M. S., Soares-Gomes, A., ... & Martinelli Filho, J. E. (2023). Microplastics and microfibers in the Guajará Bay, Amazon delta: Potential sources and variability. *Marine Pollution Bulletin*, 195, 115525.

Sávio, F., Pereira, G., 2009. *Polymers - Scientific and Technological fundamentals*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12991.30885>

Szkudlarek, M., Najbar, B., Jankowiak, Ł., 2023. Microplastics pollution in larvae of toads, frogs and newts in anthropopressure gradient. *Ecol Indic* 155, 110971. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110971>

Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D., Russell, A.E., 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* (1979) 304, 838–838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>

Wright, S.L., Rowe, D., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology* 23, R1031–R1033. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.068>

Este capítulo está formatado nas normas da revista Environmental Pollution (Qualis CAPES A1, fator de impacto = 8,9), disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/environmental-pollution>. Endereço eletrônico das normas.

#### Artigo 1

### **CARACTERIZAÇÃO DE MICROPLÁSTICOS ENCONTRADOS EM GIRINOS EM DOIS AMBIENTES COM DISTINTOS NÍVEIS DE ANTROPIZAÇÃO NA AMAZÔNIA.**

1 **Título: Caracterização de microplásticos encontrados em girinos em dois ambientes**  
2 **com distintos níveis de antropização na Amazônia.**

3 Sandra Leticia Silva dos Santos<sup>1</sup>; José Eduardo Martinelli Filho<sup>2</sup>; Maria Luiza Cunha e  
4 Souza-Ferreira<sup>1</sup>, Fabrielle Barbosa de Araújo<sup>1</sup>, Niklaus Ursus Wetter<sup>3</sup>, Veronica Regina  
5 Lobato de Oliveira Bahia<sup>1</sup>

6 <sup>1</sup>Universidade Federal do Pará. Laboratório de Multidisciplinar de Morfofisiologia  
7 Animal. Av. Perimetral, 334, Guamá, Belém - PA, 66077-830.

8 <sup>2</sup>Universidade Federal do Pará. Laboratório de Oceanografia Biológica. Av. Perimetral,  
9 334, Guamá, Belém - PA, 66077-830.

10 <sup>3</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. Centro de Lasers e Aplicações. Av. Prof.  
11 Lineu Prestes, 2242 - Butantã, São Paulo - SP, 05508-000.

12 **Resumo**

13 Em organismos terrestres e aquáticos, a ingestão de MPs pode afetar aspectos da  
14 reprodução, alimentação e até mesmo levar à morte. Dentre os animais que são afetados  
15 tanto no ambiente aquático, quanto no ambiente terrestre por MPs estão os anuros, os  
16 quais são considerados importantes ferramentas de biomonitoramento em estudos  
17 ecotoxicológicos e sua presença ou ausência impacta diretamente diferentes níveis  
18 tróficos, entretanto, pouco se sabe sobre a atual situação das populações que vivem na  
19 Amazônia. Neste sentido, este estudo teve como objetivo caracterizar a presença de MPs  
20 em girinos na Amazônia, especialmente em duas paisagens com diferente nível de  
21 antropização sendo a primeira a Ambiente 1 (A1) campus Belém e a segunda o Ambiente  
22 2 (A2). Água, sedimentos e girinos foram amostrados de poças temporárias nas duas  
23 localidades. Coletou-se três espécies de girinos com diferentes padrões de uso da coluna  
24 d'água, *Scinax x-signatus* (Spix, 1824), *Pithecopus hypochondrialis* (Daudin, 1800),  
25 espécies nectônicas e *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758), espécie bentônica. A  
26 identificação do tipo de polímeros presentes ocorreu por meio da obtenção de espectros  
27 Raman. Os resultados indicam que, embora haja diferença na quantidade de MPs entre  
28 amostras de água e sedimento nas duas paisagens, as mesmas não contribuíram para as  
29 variações na composição das partículas nos girinos. Observou-se diferenças estatísticas  
30 na forma e quantidade de MPs entre as espécies de girinos. Girinos nectônicos e  
31 filtradores possuem uma quantidade significativa de fibras plásticas pigmentadas,  
32 enquanto os girinos bentônicos e raspadores, encontraram-se principalmente fragmentos  
33 pigmentados. Esses achados destacam a complexidade dos efeitos dos MPs em  
34 ecossistemas aquáticos, particularmente na Amazônia, enfatizando a importância de  
35 considerar a ecologia específica de cada organismo ao avaliar os riscos associados à  
36 presença de microplásticos.

37 Palavras-chave: Anura, Plastic pollution, Micro-Raman, Tadpoles

## 38 **Introdução**

39 O crescimento populacional nas últimas décadas resultou em uma significativa  
40 acumulação de resíduos plásticos no meio ambiente (Barnes *et al.*, 2009). Estes resíduos,  
41 originados de centros urbanos, como garrafas, embalagens, sacolas e redes plásticas, são  
42 fragmentados em partículas menores pela degradação causada pela foto-oxidação  
43 induzida pela exposição à luz solar e outros processos naturais, como variação de  
44 temperatura, ionização, hidrólise, solubilização e interação com microrganismos (Arpia  
45 *et al.*, 2021).

46 Dentre as partículas formadas durante o processo de fragmentação, os  
47 microplásticos (MPs) são definidos como as partículas plásticas sólidas de tamanhos,  
48 formas, cores e propriedade químicas distintas (Frias e Nash, 2019) de diâmetro que varia  
49 de 1µm a 5 mm (Thompson *et al.*, 2004). São ainda classificadas como primários, quando  
50 fabricados para fins específicos, ou secundários, originados da degradação de materiais  
51 plásticos maiores (Castro-Castellon *et al.*, 2022).

52 Atualmente, a presença de MPs já é notificada em águas, sedimentos e organismos  
53 em diferentes regiões do planeta, tanto tropicais quanto polares (Pakhomova *et al.*, 2022).  
54 Sua onipresença em diversos ambientes pode ser atribuída ao seu tamanho reduzido,  
55 tornando-as facilmente transportáveis e ingeríveis em diferentes níveis tróficos (Karlsson  
56 *et al.*, 2017).

57 Um dos animais que habitam tanto o ambiente terrestre quanto o aquático são os  
58 anuros. O grupo é afetado direta e indiretamente pelo descarte indiscriminado e acúmulo  
59 de MPs, estando especialmente vulneráveis devido a suas características biológicas,  
60 como: ciclo de vida duplo, hábitos alimentares generalistas, pele permeável e baixa taxa  
61 metabólica (Araújo *et al.*, 2021; Babini *et al.*, 2015).

62 Girinos, as larvas de anuros, desempenham um papel importante em estudos  
63 ecotoxicológicos, fornecendo informações cruciais sobre níveis tróficos inferiores e  
64 superiores. Suas características ecomorfológicas, refletidas nos hábitos alimentares, uso  
65 do habitat, posição dos olhos e da boca os tornam suscetíveis a diferentes tipos de  
66 contaminantes que estão dispersos na coluna d'água (Junges *et al.*, 2012; McDiarmid and  
67 Altig, 1999).

68 Os efeitos de MPs em girinos são bem conhecidos, onde em laboratório, a ingestão  
69 dessas partículas pode afetar o crescimento, desenvolvimento e até mesmo provocar a

70 mortalidade em grandes quantidades (Hu *et al.*, 2018). Em relação aos efeitos tóxicos, já  
71 foi analisado a hepatotoxicidade, onde girinos expostos a MPs registraram maiores áreas  
72 com dilatação de vasos sanguíneos, infiltração, congestão, degeneração hidrópica,  
73 hipertrofia e hiperplasia (Da Costa Araújo, Gomes & Malafaia, 2020), além de  
74 anormalidade no núcleo dos eritrócitos, tais como núcleos binucleados e entalhados,  
75 bolhas, em forma de rim e multilobulados (Da Costa Araújo *et al.*, 2020).

76 Embora existam pesquisas que reportem a presença de MPs nas populações de  
77 girinos no ambiente natural (Hu *et al.*, 2022, 2018b; Karaoğlu and Gül, 2020; Kolenda *et*  
78 *al.*, 2020; Pastorino *et al.*, 2023; Szkudlarek *et al.*, 2023), informações sobre o grau de  
79 contaminação de populações na Amazônia são inexistentes até o momento. Assim, este  
80 estudo propõe-se a caracterizar os MPs presentes em girinos em dois ambientes distintos  
81 numa região metropolitana na Amazônia, com diferentes graus de antropização. Os  
82 objetivos específicos incluem a caracterização dos tipos de MPs nos diferentes ambientes,  
83 a quantificação dessas partículas nas diferentes populações de girinos e a comparação da  
84 quantidade de MPs entre as populações de girinos.

## 85 **Materiais e Métodos**

### 86 **Área de Estudo**

87 As coletas foram realizadas próximo a fragmentos de floresta primária durante os  
88 meses de dezembro de 2022 e abril de 2023, durante a temporada reprodutiva dos anuros,  
89 em dois ambientes com distintos níveis de antropização presentes na Região  
90 Metropolitana de Belém, Pará, Brasil (Figura 1).

91 A Região Metropolitana de Belém (RMB), no estado do Pará, faz parte da  
92 Amazônia Oriental e inclui os municípios de Belém (capital), Ananindeua, Marituba,  
93 Benevides, Santa Bárbara do Pará, Santa Isabel do Pará e Castanhal, sendo considerada  
94 atualmente como a segunda metrópole mais populosa da Amazônia, com uma população  
95 estimada de 2.243.895 pessoas (IBGE, 2022). Similar às situações da maioria das capitais  
96 no Brasil, passou por um crescimento urbano caótico que promoveu impactos contínuos  
97 e a eliminação de grande parte dos remanescentes de floresta primária ao redor da cidade  
98 (Amaral *et al.*, 2012). Assim, foram determinados dois ambientes presentes em dois  
99 municípios da RMB com uma distância de aproximadamente 35 km entre eles.

100

101 O Ambiente 1 (A1) se encontra inserido no município de Belém, capital do estado  
102 do Pará. O município de Belém apresenta uma unidade territorial de 1.059,466 km<sup>2</sup>, tendo  
103 147,35 km<sup>2</sup> de área urbanizada, população estimada de 1.303.403 pessoas e uma  
104 densidade populacional de 1.230,25 habitantes por km<sup>2</sup> (IBGE, 2022). A área de coleta  
105 se deu em uma área de aproximadamente 450 hectares (1.4759° S, 48.4573° W), às  
106 margens do rio Guamá, no bairro do Guamá. Segundo Brito (2021), o bairro do Guamá é  
107 considerado o mais populoso da capital paraense, possuindo grandes áreas de vegetação  
108 em crescimento e poucas áreas de vegetação densa, demonstrando alto grau de  
109 degradação ambiental. Apesar da influência da grande densidade populacional ao redor,  
110 das construções realizadas na instituição para atividades de ensino, pesquisas e atividades  
111 de lazer, a vegetação arbórea ainda apresenta fragmentos de vegetação nativa em sua  
112 propriedade.

113 O Ambiente 2 (A2) se encontra localizado no município de Santa Bárbara do Pará,  
114 nordeste do estado do Pará. O município de Santa Bárbara apresenta uma unidade  
115 territorial de 278,154 km<sup>2</sup>, tendo 7,29 km<sup>2</sup> de área urbanizada, uma população estimada  
116 de 21.811 pessoas e uma densidade populacional de 75,81 habitantes por km<sup>2</sup> (IBGE,  
117 2022). A área de coleta se deu em um dos poucos remanescentes florestais preservados  
118 na região metropolitana de Belém, possuindo cerca de 540 hectares (01°13'00,86" S-  
119 48°17'41,18" W), sendo gerenciado pela Associação Gunma Kenjin-Kai do norte do  
120 Brasil. Tem como vegetação predominante a floresta ombrófila densa de terra firme, além  
121 de florestas secundárias, igapós e várzeas (Almeida et al., 2004). No entanto, a área  
122 atualmente enfrenta perturbações significativas devido à fragmentação e perda de habitat,  
123 causadas pela extração de madeira, caça ilegal e pelo crescimento urbano tanto ao redor,  
124 quanto no interior do parque (do Amaral *et al.*, 2009).

### 125 **Descrição das populações de girinos**

126 Baseado no trabalho de McDiarmid and Altig, (1999) e na ocorrência das espécies  
127 em ambas as localidades, foram escolhidas três espécies de girinos que possuem dois  
128 ecomorfotipos distintos, sendo elas: *Scinax x-signatus* (Spix, 1824), *Pithecopus*  
129 *hypochondrialis* (Daudin, 1800) e *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758).

130 As espécies *S. x-signatus* e *P. hypochondrialis* são encontradas geralmente em  
131 habitats lênticos, estando distribuídos na parte nectônica da coluna d'água. Em relação a  
132 morfologia, possui olhos laterais, a posição da boca é anteroventral e possui o formato de



133 corpo elíptico. Devido a estas características apresentadas, seu hábito alimentar é  
134 caracterizado como filtrador, alimentando-se principalmente de partículas suspensas na  
135 coluna d'água (Orton, 1953).

136         Similarmente, a espécie *R. marina* também é encontrada em habitats do tipo  
137 lântico, porém estão distribuídas na região bentônica, juntos ao substrato. Em relação a  
138 morfologia, possui olhos dorsais, a posição da boca é ventral e o formato do corpo ovóide.  
139 Desta forma, o hábito alimentar desta espécie é caracterizado como raspador,  
140 alimentando-se principalmente de partículas depositadas no fundo da coluna d'água  
141 (Orton, 1953).

#### 142 **Coletas de dados**

143         Foram realizadas coletas em seis poças ao total, sendo três em cada localidade. A  
144 escolha das poças se deu pelos fatores: (1) a presença de girinos das espécies definidas  
145 previamente; (2) a proximidade a fragmentos de floresta primária. Após a escolha das  
146 poças, os habitats em cada localidade foram fotografados, uma breve descrição de  
147 profundidade, largura e presença de atividades antropogênicas ao redor foram anotadas e  
148 as coordenadas marcadas em GPS (tabela 1).

149         A coleta de amostras de água superficial foi adaptada de Hu *et al.*, (2018). Para a  
150 coleta de água foi utilizado garrafas de 500ml de vidro, este a qual foi preenchida com  
151 água superficial (0 – 10cm) da poça em dois pontos, totalizando 1L por poça. Em casos  
152 de poças onde o volume de água é restrito, a garrafa de 500ml foi preenchida com a  
153 disponibilidade da água disponível nos locais. As amostras de sedimento foram coletadas  
154 baseadas em Wen *et al.*, (2018). Foram coletados 250g de amostras de sedimento de 5  
155 cm de profundidade em três pontos da poça em potes de vidro utilizando uma pá  
156 inoxidável, totalizando 750g por poça.

157         A coleta de material biológico foi feita seguindo os parâmetros estabelecidos por  
158 Wang & Wang (2018). Foram amostrados indivíduos presentes em poças temporárias em  
159 cada localidade, sendo 30 por localidade e 60 indivíduos ao total. A coleta se deu  
160 dependendo das condições encontradas nas poças, utilizando uma peneira de aço  
161 inoxidável ou puçá, onde os girinos foram capturados em todos os microhabitats  
162 disponíveis na poça, podendo ser: coluna de água, substrato, próximo a rochas e com ou  
163 sem vegetação.

## 164 **Processamento das Amostras**

165 A extração dos microplásticos presentes na água e sedimento foi feita a partir de  
166 Hu *et al.*, (2018), com adaptações. As amostras de água foram filtradas através de um  
167 filtro de membrana de mistura de ésteres com porosidade de 0,2 µm e o material deixados  
168 para trás em cada filtro foi lavado para um frasco de 250 ml usando 150 ml de solução de  
169 peróxido de hidrogênio (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Os frascos foram tampados com papel alumínio  
170 limpo e colocados em estufa para digestão a 65 °C por 72 h. O conteúdo digerido foi  
171 filtrado novamente através de um filtro de membrana de mistura de ésteres 0,2 µm para  
172 análises posteriores.

173 As amostras de sedimentos foram colocadas em vasilhas de alumínio e secas a  
174 65 ° C por 1 semana. Posteriormente, 300 g de sedimento seco foram submetidos a 200  
175 ml de solução saturada de NaCl (1,2 g/cm<sup>3</sup>) em um cilindro de vidro de 250 ml para  
176 separação por densidade dos MPs. A mistura foi agitada com o auxílio de um bastão de  
177 vidro até obter uma mistura homogênea e deixada em repouso durante a noite,  
178 posteriormente a camada aquosa foi recolhida e misturada com 200 ml de solução de  
179 peróxido de hidrogênio (30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Aproximadamente 400 ml do sobrenadante foi  
180 filtrado em um filtro de membrana de mistura de ésteres 0,2 µm para análises posteriores.

181 A extração dos MPs presentes nos girinos foi feita adaptada de Balestrieri *et al.*,  
182 (2022). O corpo total dos girinos foi digerido quimicamente utilizando garrafas de vidro  
183 de 10ml e uma solução de hidróxido de potássio (10% KOH) durante o período de 1  
184 semana. Usando um aparelho de filtração de vidro, foi feita a filtração das soluções  
185 digeridas em uma membrana de mistura de ésteres 0,2 µm, onde estas foram colocadas  
186 em uma placa de Petri de vidro com tampa fechada e deixadas para secar por 48 h.

## 187 **Controle de Qualidade**

188 O controle de qualidade é uma prática que é comumente considerada nos  
189 processos de identificação da presença de microplásticos. Segundo (Hu *et al.*, 2018), é  
190 possível que a água destilada usada para lavar recipientes e preparar soluções ao longo da  
191 análise, ou mesmo o ar do laboratório, esteja contaminada com MPs. Para reduzir  
192 eventuais contaminações cruzadas, foram adotadas as medidas recomendadas por Prata  
193 *et al.*, (2021).

194 Devido a isto, antes de analisar qualquer amostra, a passagem de pessoas foi  
195 restringida e o local de trabalho foi limpo com álcool 70% para evitar contaminação

196 durante a análise. Todos os aparatos a serem utilizados foram lavados três vezes com água  
197 destilada bi filtrada e cobertos com papel alumínio para evitar contaminação com fibras  
198 em suspensão no ar. Em suas atividades em campo e laboratório, a equipe escolheu vestir  
199 roupas de algodão. Quando não foi possível, optaram por blusas com coloração roxa para  
200 facilitar a identificação e avaliação da possível influência individual na contaminação  
201 durante a amostragem.

202 A prática de controle de contaminação atmosférica foi implementada neste estudo.  
203 Filtros úmidos foram expostos ao ar durante o mesmo período de manipulação da amostra  
204 e análise do material (Prata *et al.*, 2021).

### 205 **Critérios de exclusão de partículas e caracterização visual de microplásticos**

206 Foram excluídas partículas com diâmetros inferiores a 60  $\mu\text{m}$  e superiores a 5 mm,  
207 presença visível de estruturas celulares ou orgânicas e falta de reação ao teste da agulha  
208 aquecida (De Witte *et al.*, 2014).

209 Para caracterização e quantificação das partículas de MPs, utilizou-se a  
210 identificação visual por meio estereomicroscópio óptico. Os filtros resultantes da filtração  
211 de água, sedimento e girinos foram minuciosamente examinados e registrados utilizando  
212 um Estereomicroscópio Leica M205C equipado com uma Câmera Leica 170 HD. A  
213 leitura dos filtros ocorreu horizontalmente, iniciando da esquerda para a direita e  
214 alternando para direita e esquerda ao final do filtro, garantindo uma contagem precisa das  
215 partículas e evitando duplicidades.

216 A medição e fotografias das partículas no filtro foram realizadas por meio do  
217 software LAS versão 3.0. A classificação das partículas seguiu o trabalho de Hidalgo-  
218 Ruz *et al.*, (2012), considerando formato (fragmento, fibra ou grânulo) e a coloração,  
219 podendo ser opacas ou pigmentadas, com cores como azul, amarelo, cinza, verde,  
220 vermelho, preto ou multicoloridas quando apresentavam mais de duas cores dominantes.

### 221 **Validação e caracterização química dos microplásticos**

222 A validação ocorreu por meio da obtenção de espectros Raman, utilizando do  
223 equipamento labRAM HR Evolution (HORIBA). Foram utilizados lasers de diferentes  
224 comprimentos de onda e uma objetiva de 50x *long range* (NA=0,7) para a obtenção dos  
225 espectros, onde a posição inicial no espectrômetro que permitia a observação dos picos  
226 da região de identificação dos polímeros (*fingerprint*) foi em torno de 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Os

227 compostos dos espectros foram identificados pela base de dados do programa Knowitall®  
228 e somente os espectros com mais de 60% de correspondência foram contabilizados.

### 229 **Análises Estatísticas**

230 As variáveis descritivas dos MPs (formatos, coloração e tipos) foram submetidas  
231 a uma análise de parâmetros da estatística descritiva. Os resultados foram apresentados  
232 em porcentagem (%) com gráficos representando os diferentes tratamentos (água,  
233 sedimento, espécies de anuros).

234 As variáveis obtidas foram testadas quanto à normalidade e homocedasticidade  
235 para a escolha de testes de variância adequados. Devido à natureza não-paramétrica dos  
236 dados, o teste de Kruskal-Wallis e o teste de Comparação Múltipla de Dunn foram  
237 utilizados para avaliar se existem diferenças estatisticamente significativas entre os  
238 formatos das partículas plásticas e as três espécies de girinos encontradas.

239 Para investigar como as variações na quantidade de MPs estiveram associadas às  
240 espécies de girinos e local de coleta foi realizado análise de variância multivariada  
241 permutacional - PERMANOVA (Anderson, 2017) função "adonis2" implementada no  
242 pacote Vegan, com número de permutações de 9999.

### 243 **Aspectos Éticos**

244 A autorização para as atividades foi obtida por meio do Sistema de Autorização e  
245 Informação em Biodiversidade – SISBIO, número 86759, código de autenticação  
246 0867590120230203 e do Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Federal do  
247 Pará (CEUA/UFPA) sob o número de processo 4528230223

### 248 **Resultados**

249 Neste trabalho, durante a fase de controle, identificamos 28 partículas com formas  
250 semelhantes a fibras, possuindo predominância da cor Vermelha. Essa constatação  
251 contradiz os resultados obtidos em nossas amostras reais em proporção de cores e em  
252 dados quantitativos. Considerando o Rodrigues *et al.*, (2018) foi constatado que as fibras  
253 encontradas no branco foram insignificantes e, devido a isto, não foi necessário realizar  
254 a exclusão de partículas.

## 255 **Microplásticos na água e sedimento de diferentes paisagens**

256 O presente estudo identificou um total de 73 partículas de MPs em amostras de  
257 matrizes ambientais. Em A1, foi constatado uma maior quantidade de poluição por  
258 microplástico, possuindo 8 partículas/L em amostras de água e 0,16 partículas/g em  
259 sedimento. Em A2 a quantidade foi relativamente menor, onde foram encontrados 4,6  
260 itens/L nas poças e 0,06 partículas/g no sedimento. Ambas as localidades possuíram como  
261 partículas dominantes as fibras pigmentadas, seguidas de fibras opacas e fragmentos  
262 pigmentados (Figura 2). As fibras possuem amplitude de tamanho que variou de 0,062 a  
263 4,966 mm, com uma média de 1,096 mm. Em contraste, os fragmentos plásticos exibiram  
264 médias de largura e comprimento de 0,045 e 0,06 mm, respectivamente.

265 No que diz respeito à coloração, observou-se que a cor predominante em ambas  
266 as localidades foi o azul, seguido por transparente e preto (Figura 3). Quanto à  
267 composição química, nas amostras de água de A1 foi identificado somente Polietileno,  
268 enquanto nas amostras de sedimento foi identificado Polietileno, Polinitrostireno,  
269 Polipropileno, Poliester e Polivinil. Nas amostras de água no A2 foram identificados os  
270 polímeros Polietileno e Polinitrostireno e no sedimento somente Polipropileno (Figura 4).

## 271 **Microplásticos nas populações de Girinos**

272 Embora haja diferença quantitativa entre a quantidade e composição química dos  
273 microplásticos nas áreas amostradas, foi constatado que a localidade não contribui de  
274 maneira significativa para as variações observadas na quantidade dos MPs presentes nos  
275 girinos (PERMANOVA  $F_{1,79} = 0,3337$ ,  $P = 0,5691$ , porém as diferenças entre as espécies  
276 desempenham um papel de grande relevância nas variações em quantidade  
277 (PERMANOVA  $F_{1,79} = 11,729$ ,  $P < 0,01$ ).

278 No total, foram identificadas 141 partículas nas populações de girinos,  
279 considerando todas as amostras. Nas três espécies a coloração das partículas foi  
280 predominante azul e preto (Figura 6), contudo, as formas dominantes das partículas  
281 plásticas variaram entre as espécies (Figura 5).

282 Em relação a espécie *S. x-signatus*, foi possível identificar 71 partículas plásticas,  
283 sendo 2,2 itens por indivíduo, tendo como destaque as fibras pigmentadas como as mais  
284 representativas, seguidas de fibras opacas, fragmentos pigmentados e fragmentos opacos,  
285 respectivamente. Os polímeros identificados foram majoritariamente o Poliestereno,  
286 seguido do Polietileno, Polipropileno, Polifenileno e Polimetilmetacrilato (Figura 7).

287            Similarmente, na espécie *P. hypochondrialis* foram identificadas 51 partículas  
288 plásticas, sendo 1,86 itens por indivíduo. Entre essas, as fibras pigmentadas emergiram  
289 como a categoria mais proeminente, seguidos de fibras opacas, fragmentos pigmentados  
290 e grânulos pigmentados, respectivamente. Em relação a composição química, foram  
291 identificados os polímeros Polipropileno e Poliéster (Figura 7).

292            Na espécie *R. marina* foram observadas 19 partículas plásticas, sendo 0,95 itens  
293 por indivíduo. Dentre essas, as fibras pigmentadas representaram a categoria dominante,  
294 seguidas de fragmentos pigmentados, fibras opacas e grânulos pigmentados. Foram  
295 identificados os polímeros Polietileno, Poliéster, Poliariletercetona, Poliestireno e  
296 Policloreto de vinil (Figura 7).

297            Com base nos resultados, é possível afirmar que existem diferenças entre a forma  
298 das partículas ingeridas entre as espécies "*S. x-signatus*" e "*R. marina*", onde *S-xsignatus*  
299 ingeriu uma maior quantidade de fibras enquanto *R. marina* ingeriu uma quantidade  
300 notável de fragmentos ( $K= 6.7329$ ,  $df = 2$ ,  $P <0,05$ ).

## 301 **Discussão**

302            Neste estudo, observou-se a presença de microplásticos em populações de girinos  
303 em dois ambientes com diferentes níveis de antropização na Amazônia. Os dois ambientes  
304 analisados neste estudo estão localizados próximos a fragmentos florestais e foram alvo  
305 de coleta durante o período reprodutivo dos anuros, coincidindo com a estação chuvosa  
306 na Amazônia. Em razão desses fatores, é plausível que o efeito de interceptação eficaz de  
307 MPs pelas florestas urbanas tenha sido minimizado pela água da chuva, a qual lavou as  
308 partículas provenientes da atmosfera e acumuladas nas folhas em direção ao solo (Huang  
309 *et al.*, 2022). No entanto, ao comparar a quantidade de MPs encontradas na água,  
310 sedimento e girinos com trabalhos anteriores, como o de Hu *et al.*, (2018) e Karaoğlu *et*  
311 *al.*, (2020), é possível constatar que a quantidade de MPs na região amazônica é  
312 notavelmente reduzida, sugerindo uma contaminação ambiental limitada.

313            Dentre os plásticos mais abundantemente identificados, o Poliéster, Polipropileno  
314 e Polietileno foram os mais abundantes. Esses materiais estão amplamente presentes em  
315 diversas indústrias, como embalagens, construção e até mesmo na fabricação de produtos  
316 cosméticos. Encontram-se também em embalagens de alimentos, bolsas de gelo,  
317 utensílios domésticos, canos, tubos, frascos de cosméticos, medicamentos, talco, fibra de

318 vidro, carbonato de cálcio e borracha (Sávio and Pereira, 2009). De acordo com a  
319 literatura, esses polímeros são considerados os tipos mais prevalentes dentre os MPs  
320 detectados em organismos aquáticos (de Sá *et al.*, 2018).

321 As fibras pigmentadas destacaram-se como as partículas mais abundantes, sendo  
322 observadas tanto em amostras de água quanto de sedimento, além de serem encontradas  
323 predominantemente nas espécies de girinos nectônicos. A introdução de fibras no  
324 ambiente aquático pode ocorrer diretamente a partir do ambiente terrestre, resultante do  
325 escoamento de água residencial, descarte inadequado de lixo e efluentes provenientes de  
326 processos de tingimento têxtil (Xu *et al.*, 2018). No entanto, as características  
327 morfológicas dos MPs como tamanho, forma e quantidade podem variar ao longo da  
328 coluna d'água (Hu *et al.*, 2018). Isso é relevante considerando que os animais podem  
329 ingerir as partículas devido a hábitos alimentares diversos, fragmentá-las e,  
330 posteriormente, expeli-las nas fezes, promovendo assim uma redistribuição da  
331 concentração e disponibilidade dessas partículas ao longo do tempo (Cole *et al.*, 2016).

332 Baseado nos resultados, é possível constatar que a quantidade de MPs nas  
333 populações de girinos analisadas não foi influenciada pelas diferentes localidades, sendo  
334 possível sugerir que as diferenças encontradas estiveram mais relacionadas à presença de  
335 diferentes espécies que habitam e se alimentam de formas distintas na coluna d'água. Essa  
336 conclusão está alinhada com descobertas realizadas por Kolenda *et al.*, (2020), os quais  
337 identificaram a ausência de diferenças na contaminação de populações de girinos de  
338 diversas espécies, em áreas urbanas e rurais na Europa Central.

339 A observação de uma quantidade significativamente maior de MPs nos girinos em  
340 comparação com as amostras de água e sedimento aponta possíveis processos de  
341 bioacumulação nessa fase do ciclo de vida dos anfíbios. Os girinos podem ser  
342 contaminados tanto pela ingestão direta durante a alimentação quanto pela absorção  
343 através da respiração branquial (Hu *et al.*, 2018). Além disso, a assimilação de partículas  
344 pode ser influenciada pela disponibilidade de alimentos; assim, quando a oferta diminui,  
345 a capacidade de ingestão de MPs pelos girinos é amplificada. Esse fenômeno pode  
346 explicar, em parte, a concentração relativamente alta de MPs nos girinos em relação ao  
347 encontrado nas poças, os quais, possivelmente, são expelidos em um período de 24 horas  
348 (Hu *et al.*, 2016).

349           Entretanto, embora os girinos possam expelir MPs após um curto período de  
350 exposição, esse intervalo pode ser prejudicial para esses animais. A incapacidade de  
351 eliminar essas partículas pode levar a uma sensação de falsa saciedade, conforme  
352 discutido por Barnes *et al.*, (2009). Essa condição pode desencadear uma diminuição na  
353 alimentação, resultando em uma redução na aptidão reprodutiva dos girinos. Em casos  
354 extremos, a persistência da ingestão de MPs pode até levar à morte, conforme evidenciado  
355 por de Sá *et al.*, (2018). Assim, nossos resultados ressaltam a complexidade das interações  
356 entre os girinos e os microplásticos, destacando a necessidade de abordagens mais  
357 abrangentes para avaliar os efeitos a longo prazo desses poluentes em populações de  
358 anfíbios.

359           A observação de diferenças significativas na contaminação entre as formas de  
360 partículas nas duas espécies com ecomorfotipos diferentes sugere distintas vias de  
361 contaminação para esses organismos. Essa variação pode estar relacionada a diferentes  
362 comportamentos, habitats preferenciais ou características fisiológicas específicas de cada  
363 espécie. Adicionalmente, essa diversidade na ingestão de MPs pode ter origem nas  
364 distintas estratégias alimentares e posições ocupadas pelos indivíduos na coluna d'água  
365 (Hu *et al.*, 2018; Karaoğlu e Gül, 2020). Como abordado anteriormente, a redistribuição  
366 de MPs na coluna d'água pode ocorrer devido à ingestão e excreção por outros  
367 organismos. No entanto, é importante considerar que fatores como temperatura, tipo de  
368 polímero e diversas outras variáveis ambientais podem modificar as composições  
369 químicas dessas partículas, potencialmente afetando a biodisponibilidade de MPs nesses  
370 habitats (Sávio e Pereira, 2009).

371           No estudo de Hu *et al.*, (2018), embora não tenham identificado um padrão claro  
372 entre as espécies de girinos que ocupam diferentes posições na coluna d'água, observou-  
373 se a possibilidade de diferenças na ingestão de MPs em girinos que sustentam atividade  
374 de natação na coluna d'água, com pouco tempo de descanso no fundo, em comparação  
375 com as outras espécies que permanecem no substrato ou ocasionalmente nadam na  
376 superfície. Na análise das espécies investigadas, *S. x-signatus* e *P. hypochondrialis*,  
377 ambas nectônicas e que predominantemente nadam na coluna d'água, mostraram uma  
378 contaminação dominada principalmente por fibras pigmentadas. Em contrapartida, *R.*  
379 *marina*, uma espécie bentônica que geralmente nada na região próxima ao fundo,  
380 apresentou uma contaminação significativa por fragmentos pigmentados. Esses  
381 resultados sugerem que a forma de contaminação está correlacionada com o



382 comportamento e a localização preferencial de natação das espécies no ambiente  
383 aquático, destacando a importância de considerar as características ecológicas específicas  
384 de cada espécie ao investigar a contaminação por microplásticos.

385 Em termos de alimentação, os girinos filtradores, que realizam a filtração  
386 constante de grandes volumes de água para obter alimentos, estão significativamente mais  
387 propensos à ingestão de MPs, conforme apontado por Hu *et al.*, (2018), confirmando os  
388 resultados observados neste estudo. As espécies *S. x-signatus* e *P. hypochondrialis*, que  
389 são onívoras e se alimentam de diversas fontes nutricionais, incluindo biofilme, algas,  
390 animais e plantas mortos, estão mais suscetíveis à ingestão de MPs devido à sua dieta  
391 variada. Por outro lado, *R. marina*, que se alimenta principalmente na superfície de pedras  
392 e plantas submersas, conforme descrito por Kwet and Di-Bernado (1999), pode ter sua  
393 exposição a partículas de MPs influenciada pelo seu comportamento e habitat,  
394 concentrando-se em regiões onde há maior deposição de partículas na superfície  
395 submersa ou no sedimento.

396 Fatores como os mencionados anteriormente, juntamente com a falta de alimento,  
397 o movimento e o momento da entrada de microplásticos no ambiente, afetam as  
398 quantidades e taxas de ingestão de microplásticos em girinos (Hu *et al.*, 2018, 2016).  
399 Conseqüentemente, esses fatores podem refletir no crescimento e, posteriormente, no  
400 processo de metamorfose. Assim, destaca-se a necessidade da condução de estudos  
401 adicionais para a compreensão dos padrões na contaminação por microplásticos,  
402 considerando a variação no uso do habitat, a variação no hábito alimentar e a variação  
403 nos fatores comportamentais ao avaliar os riscos ambientais.

#### 404 **Conclusão**

405 Neste estudo sobre a presença e quantidade de microplásticos em girinos na  
406 Amazônia, constatamos que a contaminação não apresenta uma relação significativa entre  
407 as duas regiões antropizadas e sim pelas diferenças nas espécies. Os resultados do nosso  
408 trabalho contribuem para a compreensão da distribuição de MPs, especialmente na  
409 Amazônia. A variação na composição e quantidade de microplásticos entre diferentes  
410 espécies de girinos ressalta a complexidade dos efeitos dessas partículas no ecossistema  
411 e sugere a importância de considerar a ecologia específica de cada organismo ao avaliar  
412 os riscos associados à presença de microplásticos.

## Referências

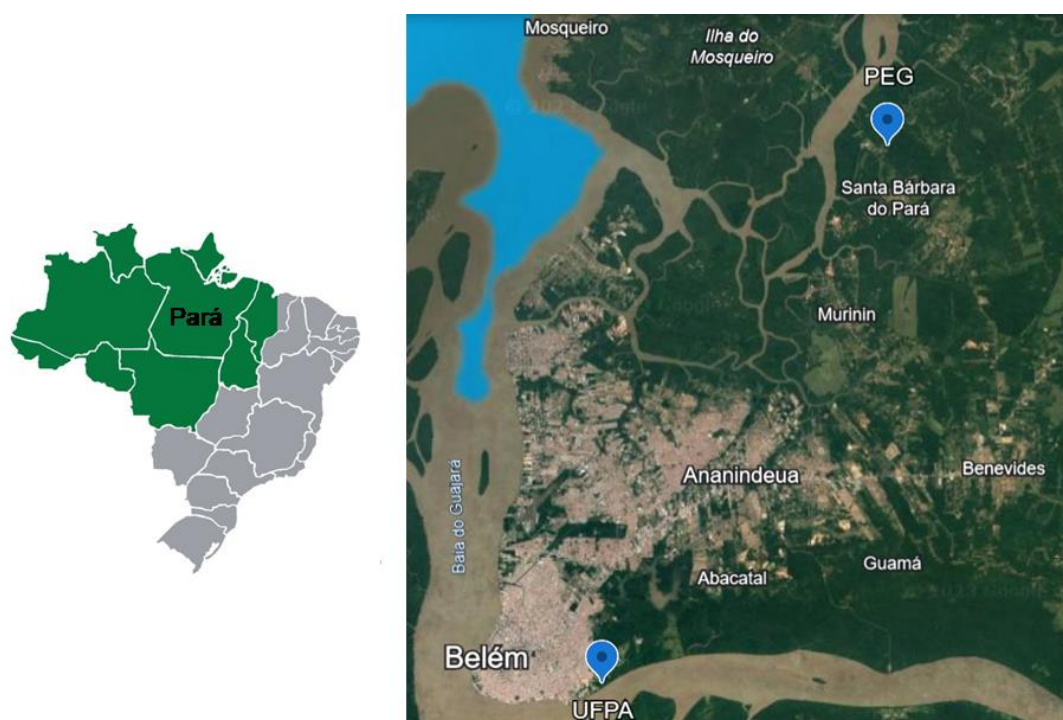
- Almeida, S.S. de, Amaral, D.D. do, Silva, A.S.L. da, 2004. Análise florística e estrutura de florestas de várzea no estuário amazônico. *Acta Amazon* 34, 513–524. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672004000400005>
- Araújo, A.P. da C., Gomes, A.R., Malafaia, G., 2020. Hepatotoxicity of pristine polyethylene microplastics in neotropical *Physalaemus cuvieri* tadpoles (Fitzinger, 1826). *J Hazard Mater* 386. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121992>
- Araújo, A.P. da C., Luz, T.M. da, Ahmed, M.A.I., Ali, M.M., Rahman, M.M., Nataraj, B., de Melo e Silva, D., Barceló, D., Malafaia, G., 2023. Toxicity assessment of polyethylene microplastics in combination with a mix of emerging pollutants on *Physalaemus cuvieri* tadpoles. *J Environ Sci (China)* 127, 465–482. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.05.013>
- Araújo, A.P. da C., Malafaia, G., 2020. Can short exposure to polyethylene microplastics change tadpoles' behavior? A study conducted with neotropical tadpole species belonging to order anura (*Physalaemus cuvieri*). *J Hazard Mater* 391, 122214. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122214>
- Araújo, A.P. da C., Rocha, T.L., e Silva, D. de M., Malafaia, G., 2021. Micro(nano)plastics as an emerging risk factor to the health of amphibian: A scientometric and systematic review. *Chemosphere* 283, 131090. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131090>
- Babini, M.S., Salas, N.E., De Lourdes Bionda, C., Martino, A.L., 2015. Implications of urbanization on the presence, distribution and reproductive ecology of the anuran fauna of a city in central Argentina. *Rev Mex Biodivers* 86, 188–195. <https://doi.org/10.7550/rmb.43684>
- Balestrieri, A., Winkler, A., Scribano, G., Gazzola, A., Lastrico, G., Grioni, A., Pellitteri-Rosa, D., Tremolada, P., 2022. Differential effects of microplastic exposure on anuran tadpoles: A still underrated threat to amphibian conservation? *Environmental Pollution* 303. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119137>
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Brito, I.R., 2021. Diagnóstico espacial de áreas verdes no Município de Belém-Pa. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.
- Castro-Castellon, A.T., Horton, A.A., Hughes, J.M.R., Rampley, C., Jeffers, E.S., Bussi, G., Whitehead, P., 2022. Ecotoxicity of microplastics to freshwater biota: Considering exposure and hazard across trophic levels. *Science of The Total Environment* 816, 151638. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151638>
- Cole, M., Lindeque, P.K., Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., Galloway, T.S., 2016. Microplastics alter the properties and sinking rates of zooplankton faecal

- pellets. *Environ Sci Technol* 50, 3239–3246. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05905>
- de Sá, L.C., Oliveira, M., Ribeiro, F., Rocha, T.L., Futter, M.N., 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: What do we know and where should we focus our efforts in the future? *Science of The Total Environment* 645, 1029–1039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.207>
- De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, K., Robbens, J., 2014. Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Mar Pollut Bull* 85, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.006>
- do Amaral, D.D., Vieira, I.C.G., de Almeida, S.S., de Paiva Salomão, R., da Silva, A.S.L., Jardim, M.A.G., 2009. Checklist da flora arbórea de remanescentes florestais da região metropolitana de Belém e valor histórico dos fragmentos, Pará, Brasil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais* 4, 231–289.
- do Amaral, D.F., Guerra, V., Motta, A.G.C., de Melo e Silva, D., Rocha, T.L., 2019. Ecotoxicity of nanomaterials in amphibians: A critical review. *Science of The Total Environment* 686, 332–344. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.487>
- Dris, R., Gasperi, J., Saad, M., Mirande, C., Tassin, B., 2016. Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment? *Mar Pollut Bull* 104, 290–293. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.006>
- Fossi, M.C., Romeo, T., Bainsi, M., Panti, C., Marsili, L., Campani, T., Canese, S., Galgani, F., Druon, J.-N., Airoidi, S., Taddei, S., Fattorini, M., Brandini, C., Lapucci, C., 2017. Plastic debris occurrence, convergence areas and fin whales feeding ground in the mediterranean Marine Protected Area Pelagos Sanctuary: A Modeling Approach. *Front Mar Sci* 4. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00167>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., 2012. Microplastics in the Marine Environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environ Sci Technol* 46, 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Hu, L., Chernick, M., Hinton, D.E., Shi, H., 2018. Microplastics in Small Waterbodies and Tadpoles from Yangtze River Delta, China. *Environ Sci Technol* 52, 8885–8893. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02279>
- Hu, L., Fu, J., Zheng, P., Dai, M., Zeng, G., Pan, X., 2022. Accumulation of microplastics in tadpoles from different functional zones in Hangzhou Great Bay Area, China: Relation to growth stage and feeding habits. *J Hazard Mater* 424. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127665>
- Hu, L., Su, L., Xue, Y., Mu, J., Zhu, J., Xu, J., Shi, H., 2016. Uptake, accumulation and elimination of polystyrene microspheres in tadpoles of *Xenopus tropicalis*. *Chemosphere* 164, 611–617. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.09.002>

- Huang, X., Chen, Y., Meng, Y., Liu, G., Yang, M., 2022. Are we ignoring the role of urban forests in intercepting atmospheric microplastics? *J Hazard Mater* 436. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129096>
- Junges, C.M., Peltzer, P.M., Lajmanovich, R.C., Attademo, A.M., Cabagna Zenklusen, M.C., Basso, A., 2012. Toxicity of the fungicide trifloxystrobin on tadpoles and its effect on fish–tadpole interaction. *Chemosphere* 87, 1348–1354. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.02.026>
- Karaoğlu, K., Gül, S., 2020. Characterization of microplastic pollution in tadpoles living in small water-bodies from Rize, the northeast of Turkey. *Chemosphere* 255, 126915. <https://doi.org/10.1016/J.chemosphere.2020.126915>
- Karlsson, T.M., Vethaak, A.D., Almroth, B.C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., Leslie, H.A., 2017. Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation. *Mar Pollut Bull* 122, 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.081>
- Kolenda, K., Kuśmierk, N., Pstrowska, K., 2020. Microplastic ingestion by tadpoles of pond-breeding amphibians—first results from Central Europe (SW Poland). *Environmental Science and Pollution Research* 27, 33380–33384. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09648-6>
- Kwet, A., Di-Bernardo, M., 1999. *Pró-Mata–Anfibios*. EDIPUCRS, Porto Alegre.
- Liu, F., Vianello, A., Vollertsen, J., 2019. Retention of microplastics in sediments of urban and highway stormwater retention ponds. *Environmental Pollution* 255, 113335. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113335>
- McDiarmid, R.W., Altig, R., 1999. *Tadpoles: the biology of anuran larvae*. University of Chicago Press.
- Pastorino, P., Anselmi, S., Esposito, G., Bertoli, M., Pizzul, E., Barceló, D., Elia, A.C., Dondo, A., Prearo, M., Renzi, M., 2023. Microplastics in biotic and abiotic compartments of high-mountain lakes from Alps. *Ecol Indic* 150, 110215. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110215>
- Rodrigues, M.O., Abrantes, N., Gonçalves, F.J.M., Nogueira, H., Marques, J.C., Gonçalves, A.M.M., 2018. Spatial and temporal distribution of microplastics in water and sediments of a freshwater system (Antuã River, Portugal). *Science of The Total Environment* 633, 1549–1559. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.233>
- Sávio, F., Pereira, G., 2009. *Polymers - Scientific and technological fundamentals*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.12991.30885>
- Szkudlarek, M., Najbar, B., Jankowiak, Ł., 2023. Microplastics pollution in larvae of toads, frogs and newts in anthropopressure gradient. *Ecol Indic* 155, 110971. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2023.110971>
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D., Russell, A.E., 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* (1979) 304, 838–838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>

- Xu, X., Hou, Q., Xue, Y., Jian, Y., Wang, L., 2018. Pollution characteristics and fate of microfibers in the wastewater from textile dyeing wastewater treatment plant. *Water Science and Technology* 78, 2046–2054. <https://doi.org/10.2166/wst.2018.476>
- Zhang, Y., Kang, S., Allen, S., Allen, D., Gao, T., Sillanpää, M., 2020. Atmospheric microplastics: A review on current status and perspectives. *Earth Sci Rev* 203, 103118. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103118>

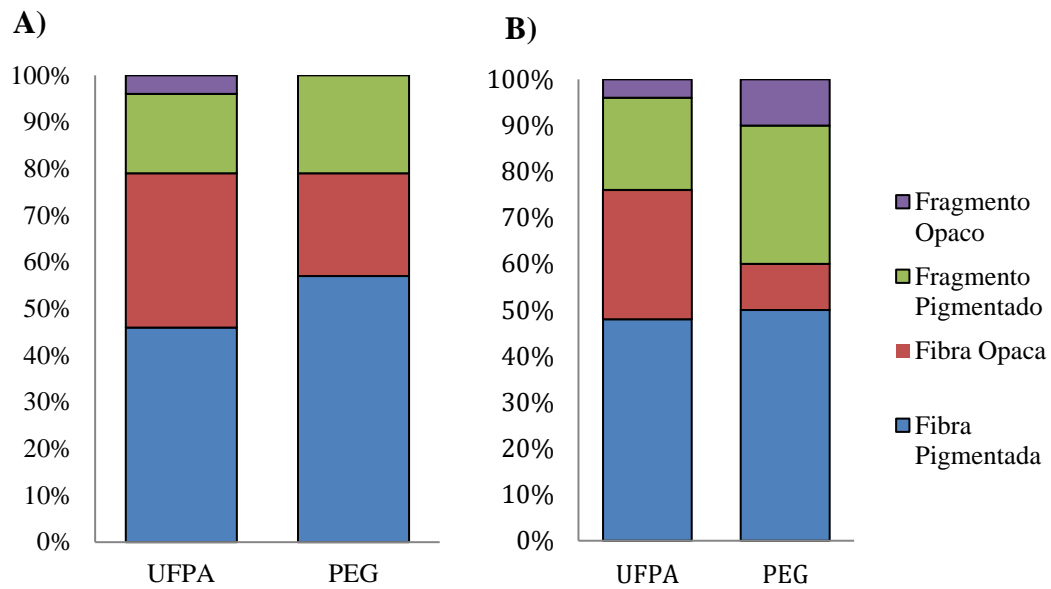
## Apêndices



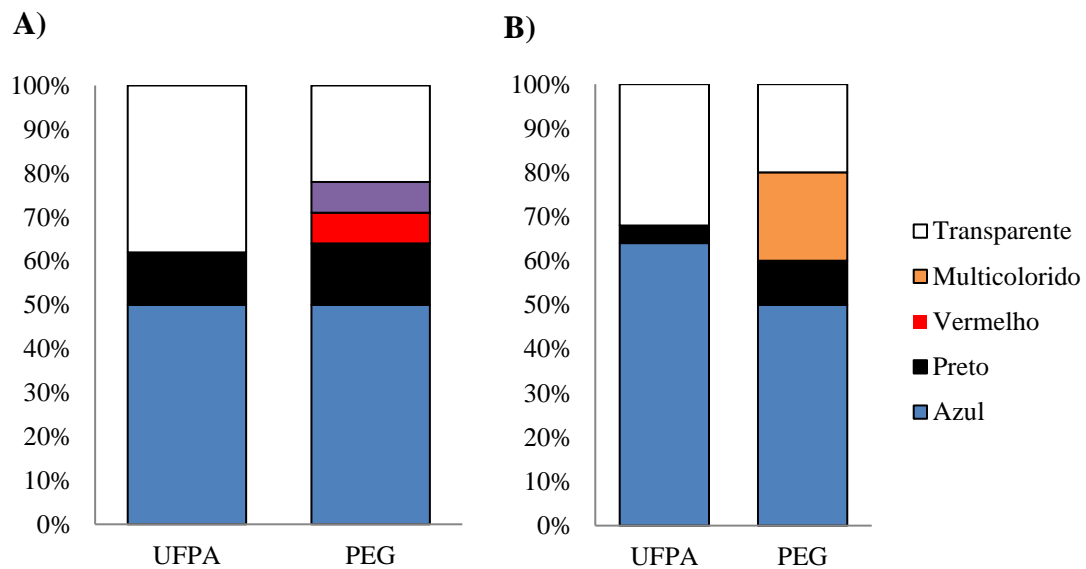
**Figura 1.** Localização da área de estudo onde foi realizado o trabalho.

**Tabela 1.** Informações sobre os pontos de coleta do Ambiente 1 (A1) e do Ambiente 2 (A2).

Localidade	Latitude	Longitude	Comprimento	Largura	Profundidade	Descrição e observações
A11	1°28'08.5"	48°26'29.3"	27m	1,4m	18cm	A poça está situada em meio a um fragmento de floresta primária que, em breve, será destinado à construção de blocos educacionais no campus universitário. A predominância na cobertura vegetal consiste principalmente em arbustos.
A12	1°28'10.8"	48°26'32.9"	30m	2,75m	15cm	A poça está inserida em área de construção ativa de novos blocos educacionais na universidade. A predominância de cobertura vegetal consiste em espécies herbáceas. Foi observado a presença de materiais de construção nas imediações.
A13	1°28'39.6"	48°27'26.7"	14,57m	1m	17cm	A poça está localizada dentro do campus educacional já estabelecido. A cobertura vegetal é inexistente. Alguns sacos plásticos, garrafas, canudos e materiais de uso cotidiano foram observados flutuando na superfície da água.
A21	1°12'14.3"	48°18'08.4"	10m	1,30m	11cm	A poça está situada à beira da estrada, na entrada do Parque Ecológico do Gunma. A predominância de cobertura vegetal consiste, em sua maioria, de espécies arbóreas e arbustos.
A22	1°12'01.8"	48°18'03.1"	8,20m	80cm	11,5cm	A poça está localizada à beira da estrada, próximo a moradias. A predominância da cobertura vegetal consiste em algumas espécies herbáceas e poucas espécies arbustivas.
A23	1°11'52.6"	48°18'06.6"	17.18m	5.38m	7cm	A poça está inserida dentro de um conjunto habitacional, tomando toda a extensão da estrada. A predominância da cobertura vegetal consiste em poucas espécies herbáceas. Observou-se grande movimentação de pessoas e carros na estrada.

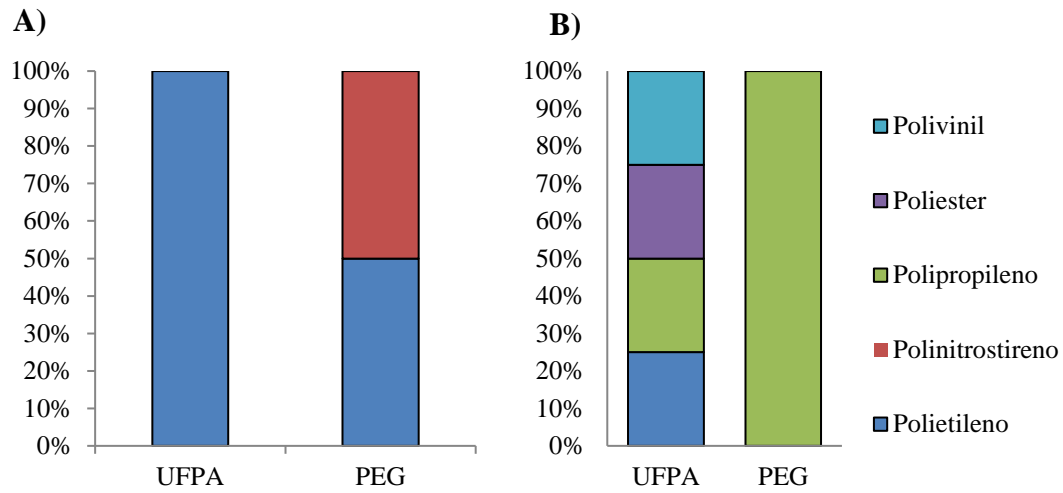


**Figura 2.** Frequência relativa dos formatos de microplásticos em água e sedimento de duas paisagens. A) água A1 e A2, b) sedimento A1 e A2

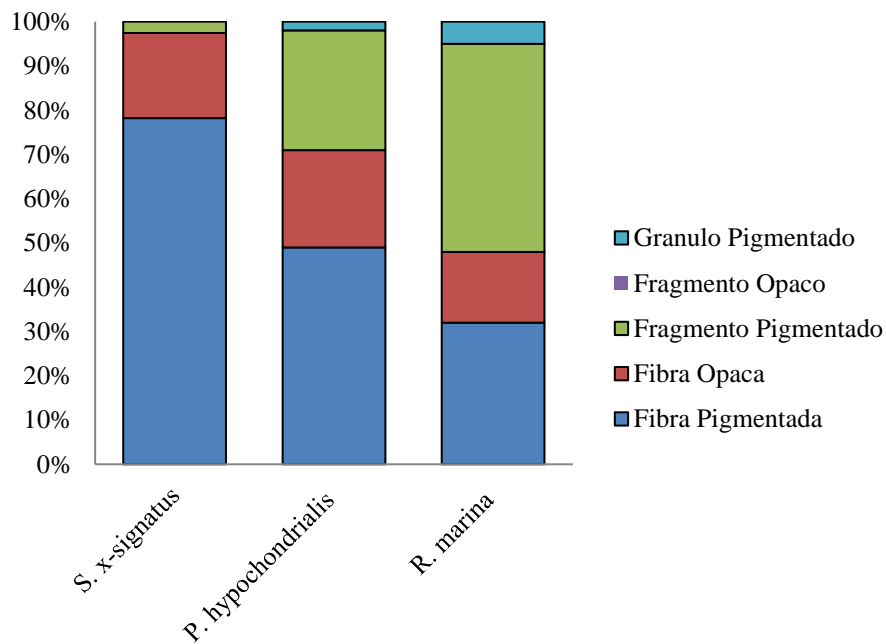


**Figura 3.** Frequência relativa das colorações de microplásticos em água e sedimento de duas paisagens. A) água A1 e A2, b) sedimento A1 e A2

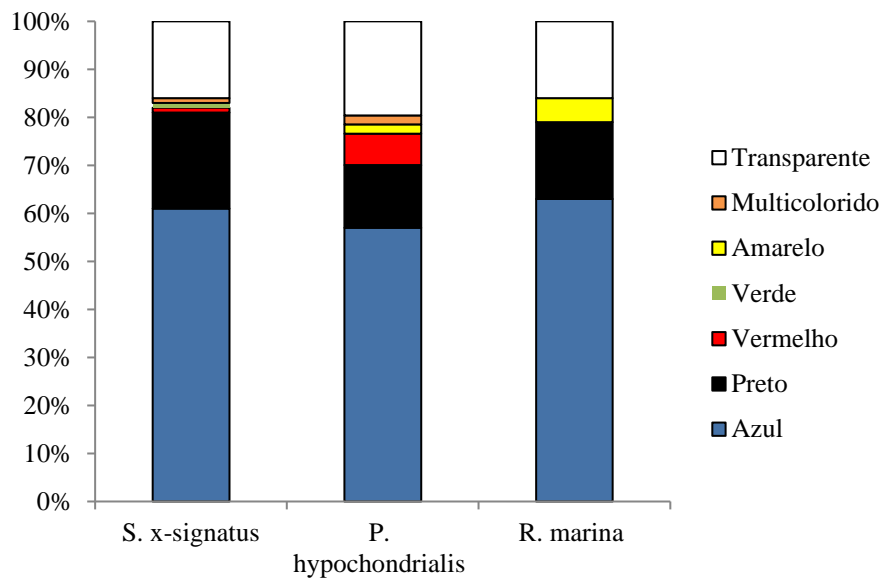




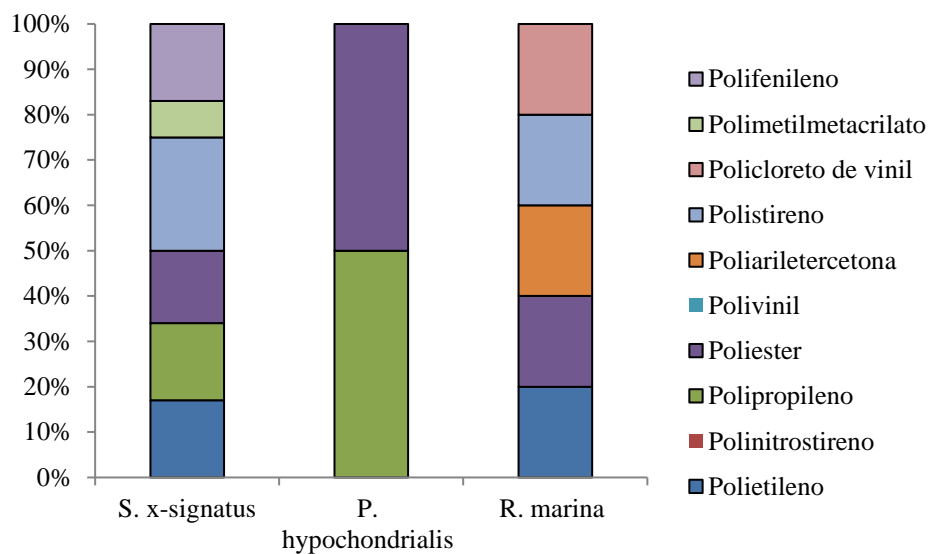
**Figura 4.** Frequência relativa dos polímeros de microplásticos em água e sedimento de duas paisagens. A) água A1 e A2, b) sedimento A1 e A2



**Figura 5.** Frequência relativa dos formatos de microplásticos em nas três espécies de girinos



**Figura 6.** Frequência relativa da coloração de microplásticos nas três espécies de girinos



**Figura 7.** Frequência relativa dos tipos de microplásticos nas três espécies de girinos