

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICROPLÁSTICOS EM LÍQUENS DE UMA
UNIDADE DE CONSERVAÇÃO NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**
***EVALUATION OF THE PRESENCE OF MICROPLASTICS IN LICHENS FROM A
CONSERVATION UNIT IN THE STATE OF ESPÍRITO SANTO***

Blenda Felipe dos Santos Vieira¹

Marcus Andrade Covre²

RESUMO: O presente estudo aborda a poluição atmosférica por microplásticos (MP) em líquens de uma trilha em estágio primário de sucessão ecológica na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Macaco Barbado, Santa Teresa-ES. O objetivo geral é avaliar a presença de MPs nos líquens coletados e os objetivos específicos são identificar as partículas de MPs e comparar os dados quantitativos dos MPs presentes nos líquens coletados. A metodologia envolveu a coleta, análise e digestão por metodologia de peróxido de hidrogênio, além de utilizar estereomicroscópio para identificar e quantificar MP, classificados por cor e forma. Os resultados evidenciaram a presença de 95 MPs do tipo filamento nas cores branco-transparente (49,5%), seguido por azul (30,5%), preto (16,8%) e vermelho (3,2%), sendo a contaminação possivelmente influenciada por fatores como altitude e vento. O ponto mais alto da trilha (P3) apresentou a maior média de concentração de MPs (136,67 MP/g) com desvio padrão de 73,71 MP/g, enquanto o ponto intermediário (P2) teve desvio padrão de 0 MP/g e média de concentração igual ao P1 (90 MP/g). A espécie *Parmeliaceae* sp. de talo folioso destacou-se pelo maior acúmulo de MPs (220 MP/g). Concluiu-se que líquens crostosos, além dos foliosos, podem servir de bioindicadores de poluição atmosférica por MP. Este estudo, pioneiro no Brasil, fornece dados essenciais sobre a dispersão de MP, diferenciando-se por focar em uma região conservada, ao contrário de outros estudos publicados que predominaram em áreas urbanas e altamente poluídas.

Palavras-chave: poluição atmosférica; microplásticos; bioindicador; biomonitoramento.

ABSTRACT: This study addresses atmospheric pollution by microplastics (MPs) in lichens from a trail in the primary stage of ecological succession in the Macaco Barbado Private Natural Heritage Reserve (RPPN), Santa Teresa-ES. The general objective is to evaluate the presence of MPs in the collected lichens, and the specific objectives are to identify the MPs fragments and compare the quantitative data of the MPs present in the collected lichens. The methodology involved the collection, analysis and digestion by the hydrogen peroxide method, in addition to the use of a stereomicroscope for identification and quantification of MP, classified by color and shape. The results showed the presence of type 95 filament MPs in the colors white-transparent (49.5%), followed by blue (30.5%), black (16.8%) and red (3.2%),

¹Graduanda do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário Salesiano. E-mail: blendaflp@gmail.com

²Graduado em Ciências Biológicas e Mestre em Engenharia Ambiental. Área de atuação: Gestão e Monitoramento Ambiental. marcus.covre@salesiano.br.

with contamination possibly influenced by factors such as altitude and wind. The highest point of the trail (P3) presented the highest mean concentration of MPs (136.67 MP/g) with a standard deviation of 73.71 MP/g, while the intermediate point (P2) had a standard deviation of 0 MP/g and a mean concentration equal to P1 (90 MP/g). The species *Parmeliaceae* sp. stood out for the highest accumulation of MPs (220 MP/g), surpassing the only foliaceous species analyzed. It was concluded that crustose lichens, in addition to foliaceous lichens, can serve as bioindicators of atmospheric pollution by MP. This study, a pioneer in Brazil, provides essential data on the dispersion of MP, differing in that it focuses on a conserved region, unlike other published studies that predominated in urban and highly polluted areas.

Keywords: Atmospheric pollution, Microplastic, bioindicator.

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos plásticos têm grande popularidade no mundo atual por serem produtos de baixo custo e de alta praticidade, plasticidade e durabilidade (Sivan, 2011). Entretanto, as qualidades que proporcionam comodidade aos usuários também causam grandes prejuízos ao planeta, pois este material apresenta lenta degradação e quando são descartados sem destinação à reciclagem estes são encaminhados à lixões, aterros sanitários ou até mesmo às ruas, mares e oceanos, onde podem ocasionar na morte de animais pela ingestão e/ou asfixia, tornando-o um dos grandes poluentes da atualidade (Derraik, 2002; Campoy; Beiras, 2019). Segundo um estudo feito pelo WWF (Fundo Mundial para a Natureza) em 2019, só no Brasil são produzidos cerca 11,3 milhões de toneladas de lixo plástico ao ano, o que seria equivalente a aproximadamente um quilo por semana para cada habitante do país, sendo do total apenas 1,28% devidamente destinados a reciclagem.

Durante a degradação ou fragmentação do plástico, o material sofre processos físicos, químicos e biológicos e transforma-se em partículas menores em relação a anterior, classificadas pela Administração Oceânica e Atmosférica Nacional-NOAA em meso, micro e nanoplástico, a depender do tamanho do seu diâmetro (Courtney; Baker; Bamford, 2009; Masura; *et al.*, 2015). Os microplásticos (MP) apresentam diâmetro menor ou igual a 5 mm e são divididos em Primários - aqueles que são fabricados já neste tamanho, a fim de utilização em cosméticos e outros produtos, e os Secundários - advindos a partir da degradação de macroplásticos como garrafas e produtos têxteis (Rahman *et al.*, 2020).

A poluição ambiental por MPs vem ocorrendo desde a degradação do primeiro polímero sintético produzido no século XIX (Campoy; Beiras, 2019) e, devido ao seu tamanho, é gerada uma distorção da real magnitude desta poluição, que apesar de recente a descoberta já é considerada emergente (Oliveira; *et al.*, 2023). Os estudos mais comuns encontrados nesta área estão voltados para os ecossistemas marinhos, portanto há grande necessidade de aumentar os estudos desta poluição com o foco na atmosfera e em ambientes terrestres (Dris, R.; *et al.*, 2016).

Os MPs apresentam fácil dispersão por serem muito leves, podendo ser transportados pela ação do vento, contaminando ambientes distantes dos respectivos produtores do resíduo, incluindo a atmosfera no geral (Kernchen; *et al.*, 2021). Para isso podem ser utilizados como organismos bioindicadores os fungos

liquenizados, que são conhecidos mundialmente como bioindicadores de qualidade do ar, visto que esses organismos necessitam da umidade e nutrientes provenientes da atmosfera para seu crescimento, estabelecimento e sucesso ecológico (Parque Ecológico Imigrantes, 2019; Reis; *et al.*, 2023). Estes organismos podem se diferenciar morfológicamente de acordo com a forma do talo, os crostosos são formados por talo dorsiventral, sem córtex inferior normalmente em formato de “crosta” no substrato, folioso apresenta o talo dorsiventral, com córtex inferior que visualmente faz lembrar folhas e o talo filamentoso é formado por filamentos frouxos e entrelaçados do fotobionte com as hifas do fungo (Spielmann, 2006).

Nesse contexto, poucos estudos foram realizados com líquens para a avaliação da qualidade atmosférica com o foco na identificação de MPs associados à estrutura física e biológica destes indivíduos, o que enfatiza a necessidade de ampliar os estudos neste campo. Sendo assim, o objetivo geral desta pesquisa é avaliar a presença de microplásticos em líquens de três pontos de uma trilha em estágio primário de sucessão ecológica na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Macaco Barbado, Santa Teresa-ES e os objetivos específicos são identificar as partículas de microplásticos em indivíduos de fungos liquenizados coletados a partir de metodologias de análise; Comparar dados quantitativos dos microplásticos presentes em líquens de três pontos em uma trilha em estágio primário de sucessão ecológica na RPPN.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICROPLÁSTICOS E POLUIÇÃO AMBIENTAL

Caixeta, Caixeta e Menezes Filho (2018) e Campoy e Beiras (2019) enfatizam que o uso de produtos plásticos têm ganhado cada vez mais popularidade no mundo devida a sua alta praticidade, plasticidade, durabilidade e o baixo custo de produção, o que leva ao aumento desenfreado do seu consumo pela população. Porém, os autores ainda citam que estas qualidades que prejudicam o meio ambiente principalmente pela demora de sua degradação, além disso o WWF (Fundo Mundial para a Natureza) em 2019 realizou um estudo indicando a produção desenfreada de produtos plásticos gerados ao ano no Brasil são de cerca de 11,3 milhões de toneladas de lixo plástico.

Campoy e Beiras (2019) ainda citam que os primeiros plásticos foram produzidos no século XIX e desde então a poluição e fragmentação dos mesmos têm sido iniciada. Carpenter e colaboradores (1972), complementam a informação de que o primeiro registro de MPs em ambientes marinhos foi observado no início da década de 1970 em plânctons nas águas costeiras do sul da Nova Inglaterra, porém Derraik (2002) relembra que em 1974 o até então membro do Conselho da Federação Britânica de Plásticos e membro do Instituto de Plásticos, Fergusson, afirmou que o lixo plástico era de baixa proporção e que não causaria danos ao meio ambiente, evidenciando que pouca ou nenhuma atenção era dada à esta forma de poluição na época, que perpetuou desta maneira ainda por alguns anos. Desta forma, entende-se que a produção de plástico tornou-se cada vez maior de forma a ignorar as possíveis

consequências e futuras complicações que poderiam causar aos ecossistemas e à saúde dos seres vivos, incluindo a dos seres humanos.

Masura e colaboradores (2015) evidenciam que as partículas plásticas podem ser advindas da degradação de plásticos maiores, como garrafas e embalagens de produtos, e a partir da degradação ou fragmentação destes produtos surgem os microplásticos (MP). As partículas, a depender do diâmetro, são classificadas pela Administração Oceânica e Atmosférica Nacional - NOAA (Courtney; Baker; Bamford, 2009) em macro, meso, micro e nanoplástico, onde os MPs apresentam diâmetro menor ou igual a 5 mm. Entretanto, Rahman e colaboradores (2020) dizem que os MPs também podem ser produzidos já no tamanho de 5 mm para uso em cosméticos, produtos têxteis e entre outros, sendo estes considerados os MPs Primários e os MPs Secundários advindos da degradação e/ou fragmentação de macroplásticos anteriormente citada.

Os MPs fazem-se presentes nos ecossistemas aquáticos, terrestres e atmosféricos. A poluição marinha por macroplásticos é bastante conhecida na atualidade, tendo em vista a fácil visualização deste lixo boiando pelos mares e oceanos, todavia a poluição por MPs apesar de descoberta recentemente em comparação a sua existência é ainda maior e bastante danosa aos organismos marinhos.

Andrady (2011) mostra que os plásticos nos oceanos podem ter duas origens: (a) introdução direta com escoamento a partir da lavagem de roupas e uso de cosméticos com MPs em sua composição como esfoliantes e (b) a degradação por intemperismo de plásticos maiores e acabam sendo levados aos oceanos pelo mau acondicionamento/armazenamento dos lixos e pela forma incorreta da destinação dos mesmos. Além disso, o autor expõe que a degradação dos plásticos dentro e fora dos oceanos ocorrem por biodegradação (ação de macro e microbiota), fotodegradação, degradação termo-oxidativa (lenta em moderadas temperaturas, comum em ambientes aquáticos), degradação térmica (altas temperaturas) e hidrólise.

Luque e colaboradores (2020) realizaram um estudo que evidencia a ingestão de MPs por minhoca da espécie *Eisenia andrei*, possibilitando que a espécie poderia ser utilizada como bioindicadora de ambientes terrestres, além disso os autores expõem que é perceptível uma quantidade inferior de trabalhos publicados no meio ambiente terrestre quando comparados ao meio aquático.

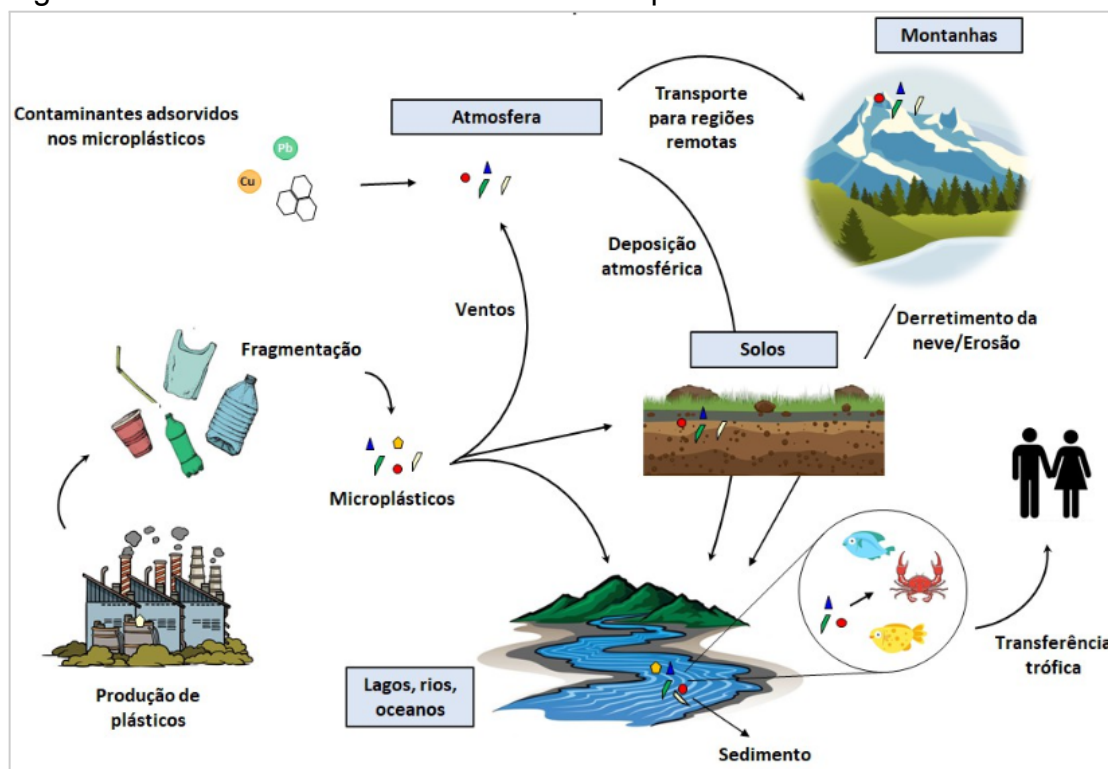
Um outro estudo feito com com minhocas, desta vez com a espécie *Lumbricus terrestris*, realizado por Lwanga e colaboradores (2016), evidenciou que tal espécie é capaz de absorver/ingerir os MPs causando possíveis danos físicos aos seus órgão e tecidos como também desencadear inflamações e insuficiências, além disso podem transportar os MPs pela sua toca, podendo poluir áreas mais profundas dos solos e água subterrâneas, que por sua vez podem transportar os MPs até as plantas pela absorção da água contaminada, afetando todo o ecossistema.

Liebezeit e Liebezeit (2013), identificaram a presença de MPs em mel localmente comercializado, onde evidenciaram a possibilidade da contaminação estar nas inflorescências ou depositadas durante a produção do próprio favo de mel pelo transporte das abelhas ou deposição atmosférica, sendo necessário mais estudos para a conclusão.

Por outro lado, a poluição atmosférica por MPs já é conhecida. Caixeta e colaboradores (2022) evidenciam que a poluição atmosférica por MPs têm diversos tipos de origem além da degradação de macrolásticos, como a queima de produtos plásticos, abrasão de pneus e fuligem de carros, poeira urbana, lavagem e secagem de roupas sintéticas, pós abrasivos, pinturas e entre outros (Figura 1).

Huang e colaboradores (2021) realizaram uma análise do ar da cidade de Guangzhou, China e obtiveram como resultado a presença de 70 a 245 partículas por amostra, com a média de 167 ± 58 partículas/m²/dia. Outro estudo da mesma área, realizado por Dris e colaboradores (2015), analisou o ar externo de zonas urbanas de Paris e teve como resultado que a atmosfera apresenta 29 e 280 partículas de MP/m²/dia.

Figura 1 - Modelo conceitual de fonte e transporte de MPs atmosféricos.



Fonte: Caixeta *et al.*, 2022.

Sabe-se que os MPs e nanoplásticos (diâmetro: $<1 \mu\text{m}$) apresentam sérios riscos a saúde ambiental e humana, segundo Caixeta, Caixeta e Menezes Filho (2018), estas partículas, após inaladas ou ingeridas apresentam capacidade de persistência e acumulação no organismo e gerando uma magnificação trófica na cadeia alimentar, incluindo os seres humanos, além disso eles detêm da alta capacidade de adsorver compostos tóxicos com metais pesados e hidrocarbonetos, prejudicando ainda mais a saúde dos seres vivos.

2.2 FUNGOS LIQUENIZADOS E QUALIDADE AMBIENTAL

Segundo Reis e colaboradores (2023), os fungos liquenizados são uma simbiose entre fungos e organismos fotossintetizantes (algas ou cianobactérias). Segundo Herrera-Campos e colaboradores (2014), os líquens podem ser diferenciados em três classificações a depender da formação do seu talo, sendo crostoso, folioso e fruticoso, podendo ainda haver a junção de duas ou das três formações em um indivíduo em diferentes porções. Os autores ainda citam que forma crostosa é mais achatada e bem aderida ao substrato em que se encontra, podendo em algumas espécies apresentar a borda de coloração diferente do centro abundante, como os gêneros *Rhizocarpon* sp. e *Cryptothecia* sp.; o folioso podem apresentar os talos fixados totalmente ou parcialmente ao substrato por rizinas ou umbigos e o fruticoso apresenta a estrutura ereta ou pendente e geralmente com ramificações. Suas cores e tamanhos podem variar a depender dos gêneros e espécies, sendo inclusive uma das formas de identificação taxonômica dos mesmos.

Quando se fala em qualidade ambiental, um dos gêneros de líquens considerados como bioindicadores é o *Herpothallon*, que se encontram em locais onde a poluição atmosférica presente seja considerada baixa, quase nula e com pouca interferência antrópica (Dutra; et al., 2020). Além disso este gênero em geral é considerado bioindicador de ambientes preservados e encontram-se presentes principalmente em ambientes sombreados e em substratos úmidos, como a depender da casca das árvores (Lucheta; et al., 2017)

Um estudo realizado em Guanajuato, por Puy-Alquiza e colaboradores (2017), utilizou 5 espécies diferentes de líquens para a identificação da melhor espécie como bioindicador de presença de metais pesados na atmosfera da cidade, eles tiveram como resultado que o *Aspicilia* sp foi o líquen mais sensível a poluição por estes elementos, apresentando as concentrações de (612,91 µg g⁻¹) para chumbo (Pb), (72,24 µg g⁻¹) para zinco (Zn), (56,25 µg g⁻¹) para vanádio (V), (18,24 µg g⁻¹) para cobre (Cu).

2.2.1 Fungos Liquenizados como Bioindicadores de Poluição atmosférica por Microplásticos

Poucos estudos foram realizados até o momento com o uso de Fungos Liquenizados na identificação de MPs no ecossistema atmosférico. Loppi e colaboradores (2021) e Jafarova e colaboradores (2022) realizaram estudos de biomonitoramento atmosférico com líquens na Itália a fim de identificar a poluição por MP, sendo o primeiro em um aterro em Toscana, região central da Itália cujo teve como resultados de uma média de 31–147 MP/g por peso seco de líquen amostrados da espécie *Flavoparmelia caperata* e o segundo em áreas urbanas de Milão, com ocorrência de 26 a 56 MP/g por peso seco de líquen mostrados da espécie *Evernia prunastri*.

Em ambos os artigos foi utilizada a metodologia de análise de MPs de Masura e colaboradores (2015), conhecida por metodologia de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), onde as amostras são digeridas em um becker contendo uma solução de H₂O₂ 30% adicionada de solução aquosa de 0.05 M Fe(II), é adicionada uma barra de agitação ao becker e o mesmo é levado à chapa aquecedora a 75°C até que formem bolhas.

Posteriormente o becker é encaminhado à capela e retirado após as bolhas cessarem. Em seguida é novamente esquentada a amostra a 75°C na chapa aquecedora por 30 minutos. Em ambos os trabalhos com líquens citados as amostras são filtradas a vácuo por papel-filtro de fibra de vidro e neles são adicionadas 1 ou 2mL de Rose Bengal (4,5,6,7-tetrachloro-2',4',5',7'-tetraiodofluoresceína, 200 mg/L) a fim de diferenciar visualmente com mais facilidade as partículas inorgânicas de matéria orgânica pela coloração do corante. Por fim, os papéis-filtro, com as amostras já filtradas, são levados à estereomicroscópios para visualização dos MP.

2.3 UNIDADES DE CONSERVAÇÃO

A lei Nº 9.985, de 18 de Julho de 2000, que institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza – SNUC, define como Unidade de Conservação (UC):

Art. 2º Para os fins previstos nesta Lei, entende-se por:

I - unidade de conservação: espaço territorial e seus recursos ambientais, incluindo as águas jurisdicionais, com características naturais relevantes, legalmente instituído pelo Poder Público, com objetivos de conservação e limites definidos, sob regime especial de administração, ao qual se aplicam garantias adequadas de proteção;

Ainda previsto na lei acima, as UCs são divididas em Unidades de Proteção Integral e Unidades de Uso Sustentável, sendo que a primeira é dividida em cinco categorias e apresenta normas mais rígidas quanto a utilização do espaço, sendo mais voltada para pesquisas científicas e preservação do ecossistema; já a segunda é dividida em sete categorias e faz-se possível o uso sustentável dos recursos naturais da área, realização de visitas e atividades educativas, sendo o seu foco a conservação do ambiente natural.

A lei anteriormente citada ainda prevê como categoria de UC de Uso Sustentável a Reserva Particular do Patrimônio Natural - RPPN, onde os proprietários de uma área privada têm por objetivo conservar o ambiente natural e a biodiversidade do local em questão. Nas RPPNs podem ser realizadas pesquisas científicas e visitas com finalidade turística, recreativa e educacional.

3 METODOLOGIA

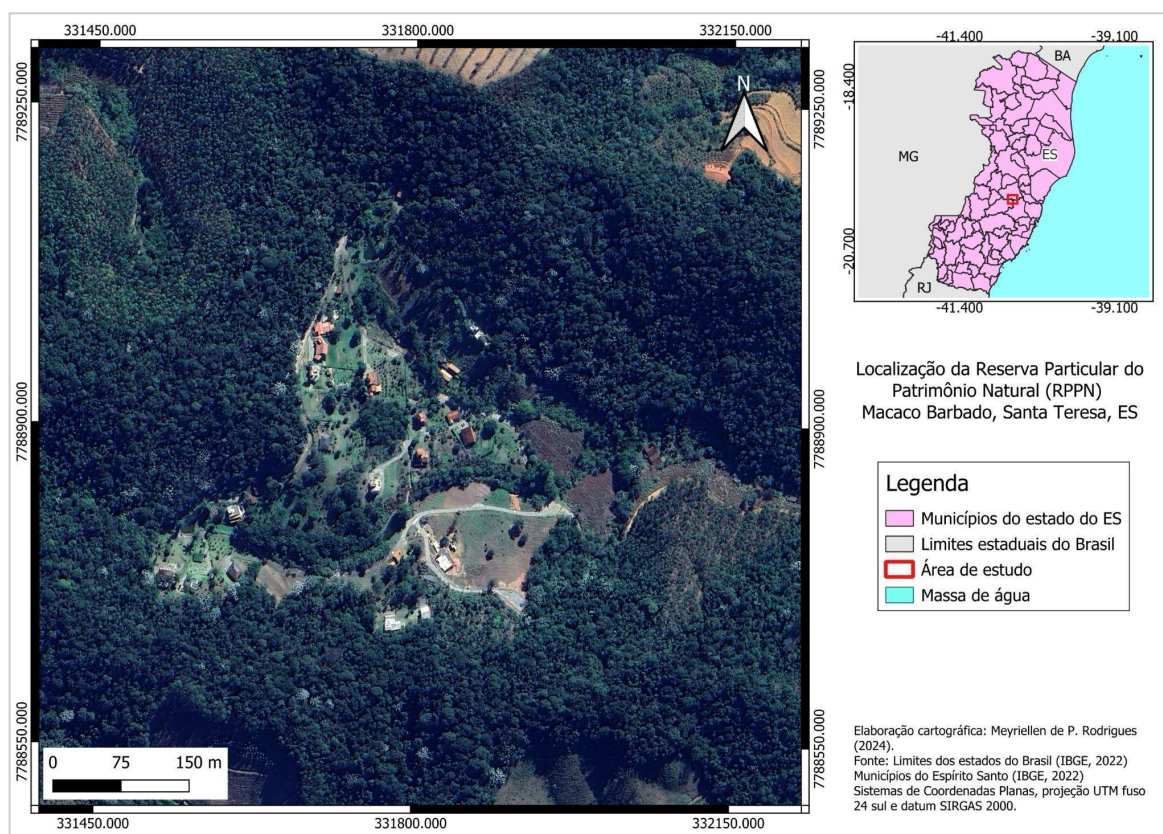
3.1 ÁREA DE ESTUDO

Localizada no município de Santa Teresa, no Espírito Santo, a RPPN Macaco Barbado, descrita na Portaria Conjunta SEAMA/IEMA Nº 13-R, de 30 de junho de 2011, foi criada a partir da mobilização dos moradores da Ecovila Bom Destino, uma vila situada dentro da reserva, com o apoio do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos (IEMA) e da Sociedade Civil dos Bombeiros Voluntários de Santa Teresa, com o propósito de preservar a mata atlântica nativa da Ecovila (ECOVILA BOM DESTINO, 2020).

A RPPN está localizada no bioma da Mata Atlântica, mais especificamente na vegetação de Floresta Ombrófila Densa Montana, apresentando clima do tipo “Cfb” (clima temperado quente) sem estação seca no inverno e com variação de temperatura entre os dias 01/01/2024 a 01/12/2024 de 11°C a 28,48°C e a velocidade do vento entre estes mesmos dias variou de 0,20 m/s a 7,50 m/s, no município de Santa Teresa-ES (Incaper, 2020; Ferreira; *et al.*, 2024; INMET, 2024).

Segundo a Portaria Conjunta SEAMA/IEMA citada anteriormente, a RPPN Macaco Barbado apresenta 2,93ha de área em preservação. A RPPN, atualmente, apresenta infraestruturas (como as trilhas) voltadas para o lazer e para a educação ambiental, sem nenhuma desarborização no ambiente situado, como também a ação de reflorestamento de plantas nativas nas áreas que foram antropizadas (ECOVILA BOM DESTINO, 2020).

Imagem 1 - RPPN Macaco Barbado, Santa Teresa-ES



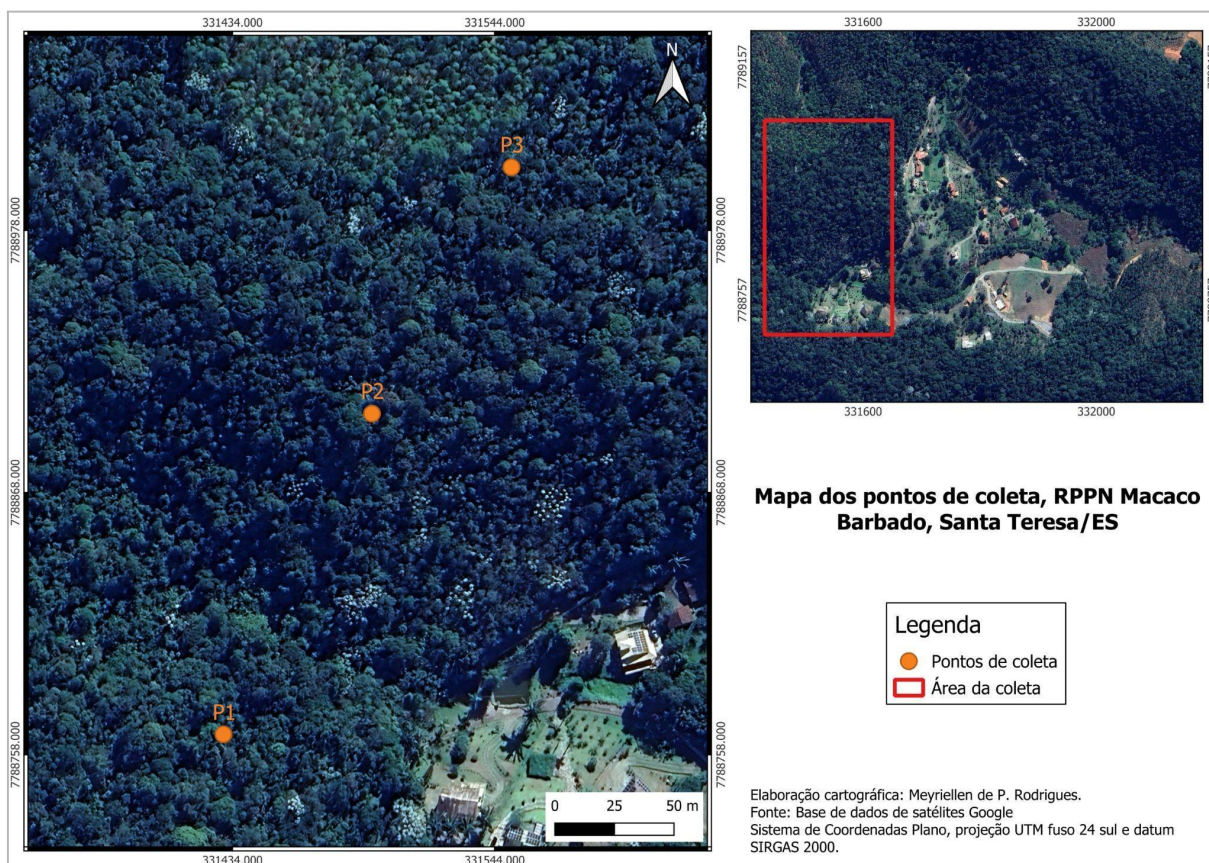
Fonte: Rodrigues, 2024.

3.2 METODOLOGIA DE CAMPO

Primeiramente, para a metodologia de campo, foram feitas as delimitações de três quadrantes de área 5mx5m na trilha João de Barro, onde o Ponto 1 se dispõe mais próxima das moradias e do curso hídrico que abastece a ecovila e a RPPN na altitude de 877m, Ponto 2 em uma localidade de transição de mata aberta para mata fechada que ocorre durante a trilha e com altitude de 879m e Ponto 3 está localizada

em uma parte de mata fechada e mais consolidada da trilha e apresenta altitude mais elevada de 898m. Foram escolhidos estes pontos por apresentarem características mais divergentes entre si dos fatores de altitude e disposição da vegetação citadas.

Imagem 2 - Pontos de coleta dos líquens na trilha João de Barro na RPPN Macaco Barbado, Santa Teresa-ES.



Fonte: Rodrigues, 2024.

Posteriormente foram coletados três indivíduos das espécies mais representativas e frequentes nas áreas amostradas em cada ponto e dentro desse critério, foram amostradas cinco espécies variando a morfologia do talo em crostoso, folioso e filamentoso como observado no Quadro 1, totalizando 15 amostras analisadas.

Após a coleta, os líquens foram armazenados e separados por espécie em placas de Petri vedadas com fita adesiva crepe, a fim de evitar a contaminação, umidade e decomposição dos organismos.

Quadro 1 - Informações de taxonomia e morfologia do talo dos líquens coletados para análise de MP.

Família	Espécie	Morfologia do talo	Ponto de coleta	Imagens exemplares
Arthoniaceae	<i>Herpothallon rubrocinctum</i>	Crostoso	P2 e P3	
Arthoniaceae	<i>Sagenidiopsis undulatum</i>	Crostoso	P1 e P2	
Arthoniaceae	Arthoniaceae sp.	Crostoso	P1	

Família	Espécie	Morfologia do talo	Ponto de coleta	Imagens exemplares
<i>Coenogoniaceae</i>	<i>Coenogonium</i> sp.	Filamentoso	P1, P2 e P3	
<i>Parmeliaceae</i>	<i>Parmeliaceae</i> sp.	Folioso	P3	

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Por fim, as placas de petri contendo os líquens, foram adicionadas em caixa de isopor com gelo a 4°C até o laboratório, e mantidas sob refrigeração em geladeira convencional do laboratório Labsales da UniSales a 4°C.

3.3 ANÁLISES LABORATORIAIS

Esta etapa foi realizada no laboratório LabSales do Centro Universitário Salesiano - UniSales, em que foram pesados 0,1 grama de líquen para cada amostra e sua respectiva duplicata em uma balança semi-analítica de precisão 0,0001. A utilização de duplicatas têm o objetivo de se obter um controle sobre o método de digestão.

Para a digestão da matéria orgânica (MO) presente nas amostras de líquens foi utilizada a metodologia de peróxido de hidrogênio (Masura; *et al.*, 2015), onde foi adicionada, a cada becker que continha as amostras, a solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 30%, sendo aquecido à 75°C pela chapa aquecedora até que nenhuma MO fosse visível no becker.

Após digestão realizada, o líquido obtido foi filtrado em um aparato de filtração por bomba a vácuo com o uso de Membranas Filtrantes MF-Millipore (Mixed Cellulose

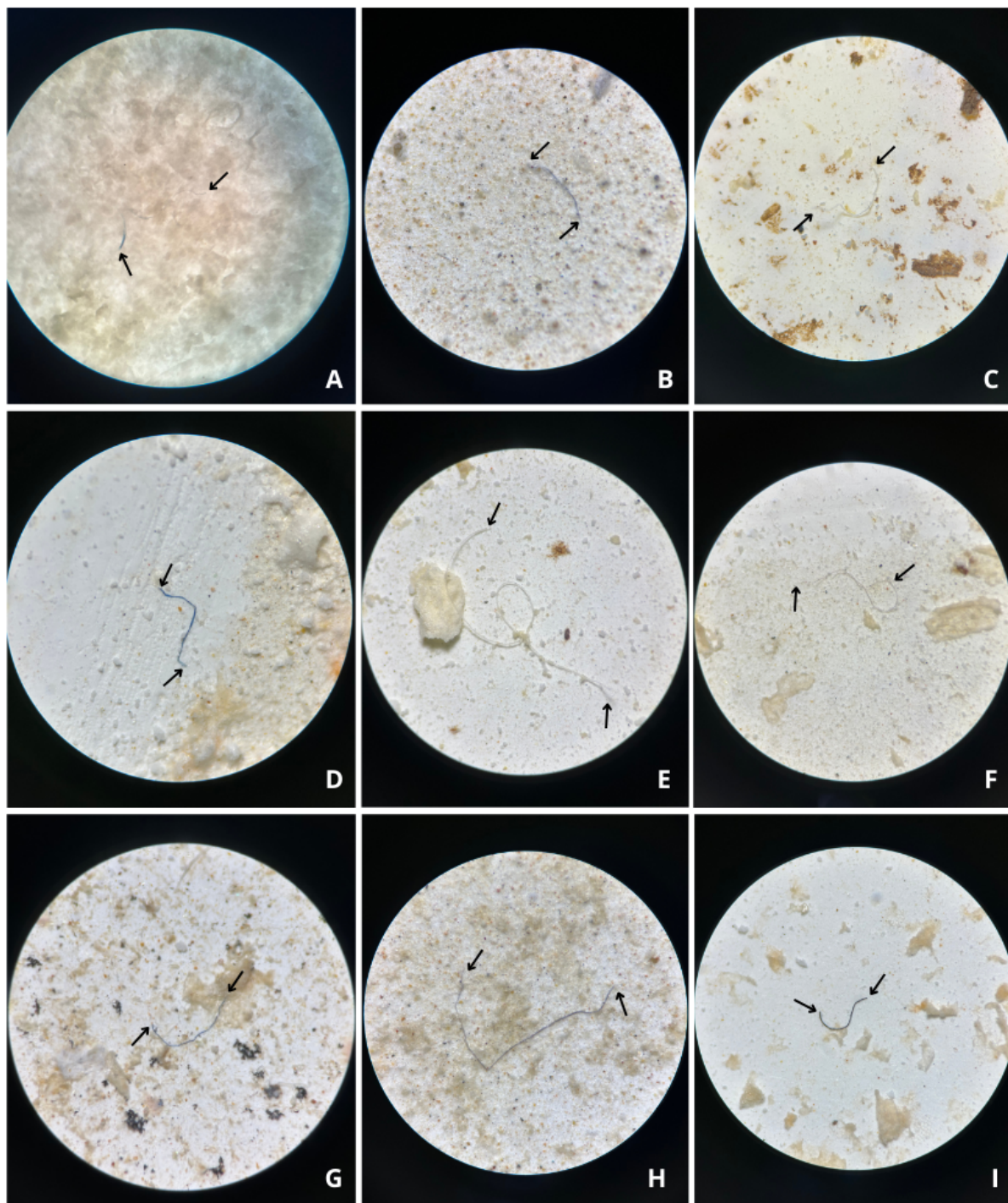
Esters - MCE) com espessura de 150 μm , diâmetro do filtro de 47 mm e tamanho dos poros de 0,45 μm , que posteriormente, dentro de placas de petri fechadas, foram secas em estufa a 60°C por 1 hora ou até que as membranas estivessem secas. Em seguida iniciou-se a análise de presença de MPs nas membranas filtrantes com o auxílio do estereomicroscópio Olympus SZ61 no aumento 4,5x e registros fotográficos, esta última etapa foi realizada no laboratório “Lab-x” localizado dentro da empresa LABMAR ANALISES E SOLUCOES AMBIENTAIS LTDA.

Feita a análise de MP, os dados foram transferidos para o Excel, onde foram elaborados gráficos e tabela com as informações da morfologia do talo do indivíduo, dados quantitativos e qualitativos dos MPs de cada indivíduo/espécie e ponto de coleta, a fim de comparar a quantidade de MPs encontrados em cada espécie e de quais pontos foram retirados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram quantificados 95 MPs do tipo “filamento” nas amostras de líquens (Imagem 3), nas colorações azul, preto, branco-transparente e vermelho. A Tabela 1 apresenta os resultados através da média, máximo, mínimo e desvio padrão dos MPs, convertidos para a unidade de medida “MP/g de líquen seco”, levando em consideração o ponto e espécie coletada.

Imagem 3 - Fotografia dos filamentos encontrados nas amostras de líquens analisadas.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Legenda: As fotografias são referentes às seguintes amostras: A - *Arthoniaceae* sp. presente no P1, B - *Coenogonium* sp. presente no P1, C - *Sagenidiopsis undulatum* presente no P1, D - *Coenogonium* sp. presente no P2, E - *Sagenidiopsis undulatum* presente no P2, F - *Herpothallon rubrocinctum* presente no P2, G - *Parmeliaceae* sp. presente no P3, H - *Coenogonium* sp. presente no P3 e I - *Herpothallon rubrocinctum* presente no P3.

Tabela 1 - Estatística descritiva de microplásticos por ponto de coleta (MP/g de líquen seco).

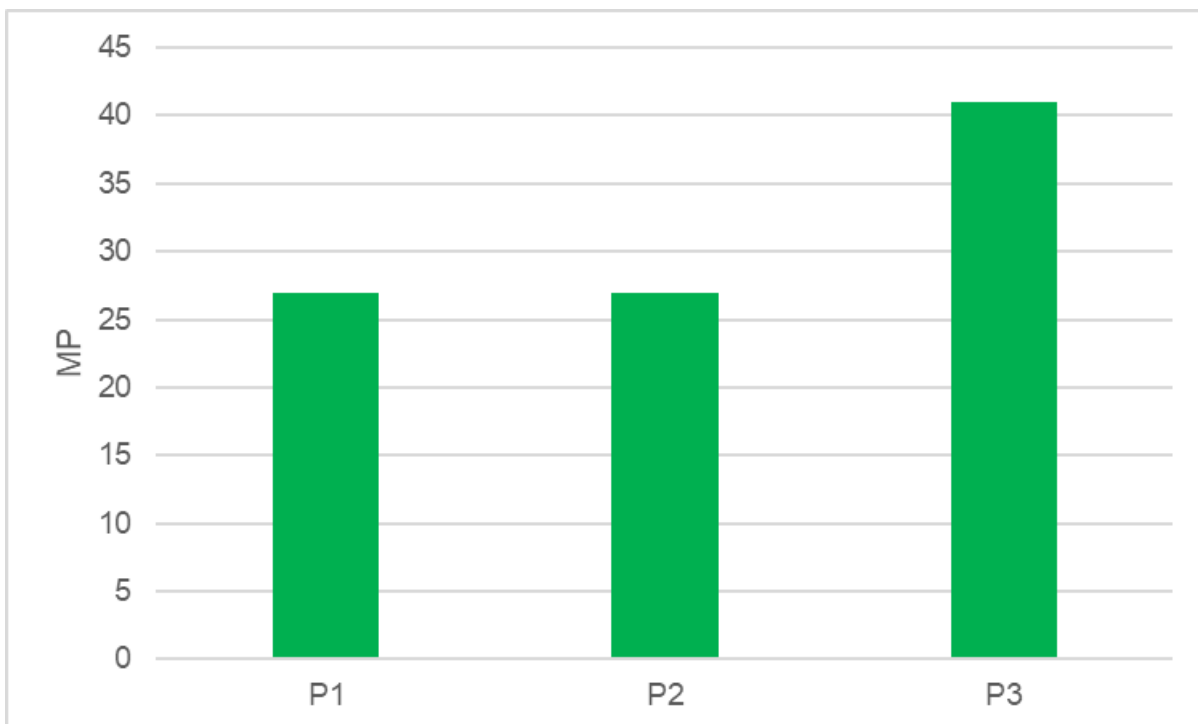
Pontos	Média	Máximo	Mínimo	Desvio Padrão
P1	90	140	20	62,45
P2	90	90	90	0
P3	136,67	220	80	73,71

Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

A partir da análise da Tabela 1, nota-se que o P3 apresenta tanto a média de microplásticos ($136,67 \pm 73,71$ MP/g) quanto o máximo (220 MP/g), superiores aos pontos 1 e 2 que apresentam a mesma média de 90 MP/g, e máximo de 140 MP/g e 90 MP/g, respectivamente. Os valores do desvio padrão foram divergentes em ambos os pontos, P2 obteve o valor de “0 MP/g”, indicando que a disposição da poluição é igualmente proporcional em todas as partes analisadas do seu ponto, enquanto P1 e P3 apresentam valores bem mais elevados de 62,45 MP/g e 73,71 MP/g respectivamente, indicando alta variabilidade na poluição por MPs e que esta ocorre de forma mais instável entre diferentes locais dentro do ponto quando comparados ao P2. Esta grande variação pode estar ligada ao fato de P3 estar localizado em maior altitude em relação aos outros pontos, o que indica a contaminação advinda de fatores intermitentes ou esporádicos de poluição, como ventos e chuva, já que em maiores altitudes é comum apresentar maiores ocorrências de ventos fortes, Bergmann e colaboradores (2019) analisaram altas concentrações de MPs em neve de blocos de gelo no Estreito de Fram no Ártico e em neve dos Alpes Suíços e propõem que os fortes ventos do leste possam ter agravado a dispersão dos MPs de áreas mais afetadas para áreas mais remotas como as estudadas por eles. Já P1, por estar mais próximo das moradias, pode haver a contaminação direta pelo uso de plásticos pelos moradores do entorno e do curso hídrico que abastece a ecovila, trazendo a possibilidade da água estar contaminada com MP, que ao evaporar com o calor, pode estar transportando os MPs para o interior do ponto.

Em complementação a tabela 1, obteve-se o quantitativo dos filamentos encontrados em cada ponto de coleta, representado no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Total de MPs encontrado em cada ponto de coleta.



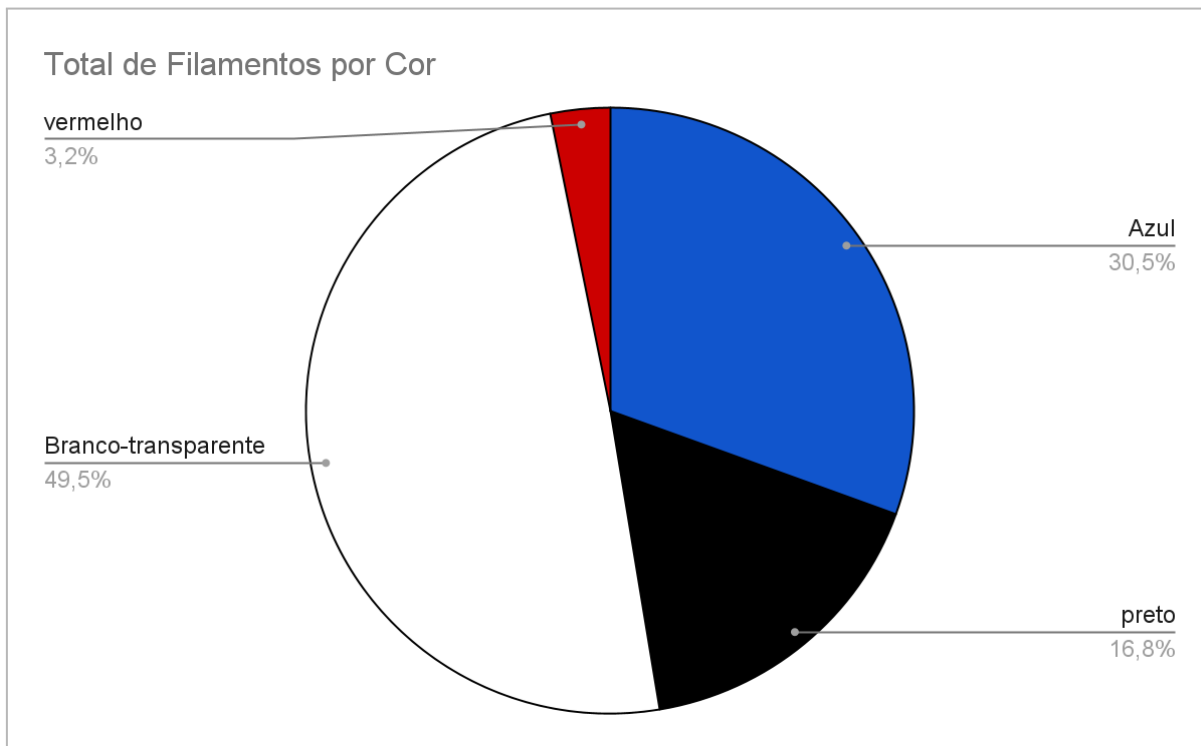
Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Sendo assim, o P1 e P2 apresentam o total de 27 MPs enquanto P3 apresenta 41 MP, evidenciando que a área mais afetada pela poluição de MPs é a P3, reafirmando a ideia da poluição advinda de fatores intermitentes ou esporádicos de poluição, tendo em vista a pouca movimentação humana dentro dos pontos no dia a dia.

Portanto, comparando os dados da tabela 1 com o gráfico 1, P2 por estar em uma área intermediária e com características menos extremas, mais distante da poluição direta que o P1 e em menor altitude que P3, é o ambiente com menos variabilidade de poluição por MPs dentro do ponto, entretanto apresenta o mesmo total de filamentos encontrados que P1.

O quantitativo de filamentos encontrados separados pelas suas cores está explícito no gráfico 2.

Gráfico 2 - Total de Filamentos de MPs encontrados utilizando a separação por cores.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Segundo o gráfico 2, a maior porcentagem de MPs encontrada faz parte da classificação branco-transparente (49,5%), seguido por azul (30,5%), preto (16,8%) e por fim vermelho (3,2%) em menor quantidade. Em alguns dos MPs encontrados foi possível observar sua extremidade com fissuras, indícios de um MPs secundário, e/ou com presença de manchas desbotadas, indicando que alguns filamentos podem ter se estabelecido no líquen ou na atmosfera há um tempo mais longo.

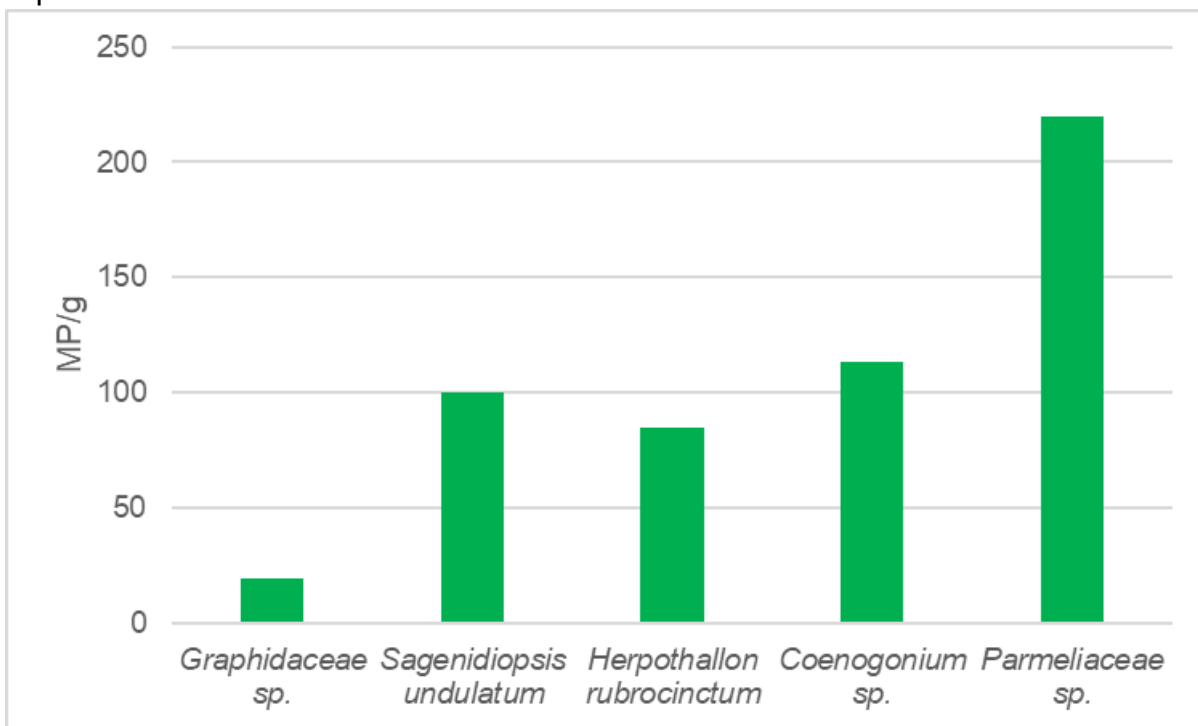
O trabalho realizado por Oliveira e colaboradores (2023) avaliou a presença de MPs dispersos no ar e em um lixiviado de um aterro sanitário, um dos parâmetros utilizados foi a forma dos MPs e sua coloração. Na amostra do lixiviado que mais obteve presença de MPs foram encontrados em formas de Fibra ou filamento (63%), Fragmento (19%), Esfera (15%) e Filme (3%), enquanto nos dispersos no ar, as amostras com maior presença de MPs obtiveram os formatos de Filamentos (65% e 76%) e Fragmentos (35% e 24%), isto evidencia que os formatos de Filamentos são mais facilmente dispersos pelo vento que os outros formatos, por serem mais leves e menos densos, comprovando o proposto por Wright e colaboradores (2020). Esta informação concorda com os resultados analisados no presente trabalho, levando em consideração que foram encontrados apenas filamentos nas amostras analisadas.

Ainda nestas mesmas amostras de Oliveira e colaboradores (2023), ao comparar as colorações dos MPs, que por se tratar de um aterro sanitário, foram encontradas em maiores variações de cores. Nas amostras do ar com maior presença de MPs as cores encontradas foram a Preta (8 e 18), Verde (12 e 5), Azul (6 e 5), Marrom (5 e

1), Amarelo (0 e 3), Vermelho (1 e 2), Transparente (2 e 0). Estes resultados diferem dos encontrados no presente trabalho, a começar pela presença de três colorações a mais e pela cor em maior presença ser a Preta, enquanto que no presente trabalho foi a Branco-transparente com 49,5%, coloração que para Oliveira e colaboradores (2023) foi a cor com menor incidência nas amostras de análise atmosférica, esta variação ocorre por conta das diferentes origens dos MPs encontrados em cada área analisada.

Por fim, foram analisadas a quantidade de MP/g de líquen seco encontrados em cada espécie, para a comparação foi feita a média de MP/g das espécies que apareceram em mais de um ponto e para as que apareceram em apenas um ponto foi utilizado o valor total. Os resultados estão dispostos no gráfico 3.

Gráfico 3 - Concentração de MPs (MP/g) de líquen seco encontrados separados por espécie.



Fonte: Elaborado pela autora, 2024.

Quando comparado a presença dos filamentos por espécie, a menor incidência ocorre na espécie *Arthoniaceae sp.* (crostoso) com apenas 20 MP/g e encontra-se pouca variação de MPs totais nas espécies *Herpothallon rubrocinctum* com média de 85 MP/g e *Sagenidiopsis undulatum* com média de 100 MP/g que apresentam talo crostoso. A espécie de talo filamentoso *Coenogonium sp.* obteve a média de 113,33 MP/ge por fim, a espécie com a maior incidência de poluição por MPs é a *Parmeliaceae sp.* com 220 MP/g, um líquen de talo folioso.

Jafarova e colaboradores (2022) realizaram um trabalho semelhante com a avaliação de MPs em líquens dispostos em áreas urbanizadas de Milão na Itália,

porém selecionaram apenas a espécie de líquen epífito folioso *Evernia prunastri*, que segundo os autores é conhecida por apresentar capacidade de bioacumular elementos-traço devido a estrutura dos líquen desta morfologia que tendem a apresentar uma maior capacidade de captar/reter essas partículas. Um dos pontos analisados pelos autores foi o “local controle”, onde os mesmos escolheram uma área montanhosa, distante do centro e de fontes de poluição atmosférica, foram transplantados 3 indivíduos do líquen em análise. Como resultado desta área foram encontrados em média 20 MP/g de líquen seco em que 100% deles em forma de filamento, não sendo informado a coloração deles.

O resultado obtido no presente trabalho comparado com o trabalho de Jafarova e colaboradores (2022), indica que espécies de líquens foliosos, além da *Evernia prunastri*, podem ser utilizados para a avaliação de poluição atmosférica por MP, mas não se deve descartar a utilização das espécies de morfologia do talo do tipo filamentoso e crostoso, incluindo aqueles conhecidos como bioindicadores de boa qualidade do ar como é o caso dos líquens do gênero *Herpothallon* que são comumente presentes em ambientes com baixa e/ou nula poluição atmosférica (Dutra; *et al.*, 2020) e como observado no presente trabalho o líquen de deste gênero (*Herpothallon rubrocinctum*) teve considerável contaminação, em contrapartida o líquen com maior incidência da poluição por MPs foi o *Parmeliaceae* sp. de talo folioso, que se fez presente em apenas um ponto de coleta e obteve a concentração de MP/g mais elevada de todos indivíduos dos três pontos, mesmo quando observados separadamente.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho identificou ao todo 95 filamentos de MPs em 18 amostras (contabilizando as duplicatas) de líquens de cinco espécies diferentes em três pontos de coleta e foram realizadas análises quantitativas e comparativas sobre os MPs encontrados com o uso dos parâmetros de ponto de coleta, espécie e coloração.

O P3 apresentou a maior incidência de MPs com 41 filamentos, a maior média e desvio padrão com 136,67 MP/g e 73,71 MP/g, respectivamente; acredita-se que seja em decorrência de fatores como chuva e ventos, já que o local apresenta altitude mais elevada que os outros pontos, a poluição direta é descartada por não ser uma área de grandes movimentações antrópicas diárias. Em relação a coloração dos MPs encontrados, observou-se uma predominância da cor branco-transparente (49,5%) seguido pela cor azul (30,5%), por se tratar de uma área de mata conservada e distante de focos de poluição a origem dos MPs não pôde ser determinada apenas pela cor, mas foi possível identificar alguns MPs com suas extremidades fissuradas e/ou com presença de manchas desbotadas pelo filamento o que indicam ser MPs secundários e que estão no ambiente há um tempo mais longo que os que não apresentam as manchas. Por fim, ao comparar as espécies afetadas por esta poluição, *Parmeliaceae* sp., de morfologia do talo do tipo folioso, destacou-se como a mais impactada com 220 MP/g, seguida pela *Coenogonium* sp. (filamentoso) que apresentou a segunda maior média de 113,33 MP/g; pela disposição e formato dos líquens foliosos e filamentosos, já era esperado que estas

espécies apresentariam a maior ocorrência da poluição, mas estes resultados não diminuem a importância da utilização das espécies de líquens de talo crostoso para avaliar a presença de poluição atmosférica por MP, incluindo espécies consideradas bioindicadoras de boa qualidade atmosférica, como a *Herpothallon rubrocinctum* avaliada no estudo com a média de 85 MP/g.

Por fim, este trabalho contribui para o acervo de dados científicos para próximos estudos na área da poluição atmosférica por MP, já que se trata de um estudo pioneiro, tendo em vista a existência de poucos artigos publicados que fizeram uso de líquens para este tipo de biomonitoramento. Além disso, as publicações existentes nessa linha de pesquisa são majoritariamente internacionais e focadas em áreas urbanas e aterros sanitários, ambientes usualmente mais poluídos, o que diferencia o presente estudo que analisou uma área de mata conservada.

REFERÊNCIAS

Andrady, A.L. Microplastics in the marine environment. **Marine Pollution Bulletin**. Estados Unidos, n. 62, p. 1596–1605, 2011.

Bergmann, M.; *et al.* White and wonderful? Microplastics prevail in snow from the Alps to the Arctic. **Science Advances**. v.5,n.8, 2019. Disponível em: <<https://www.science.org/doi/full/10.1126/sciadv.aax1157#sec-3>>. Acesso em: 02 dez. 2024.

BRASIL. Constituição (1989). **Lei nº 9.985, de 18 de Julho de 2000**. Regulamenta o art. 225, § 1o, incisos I, II, III e VII da Constituição Federal, institui o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza e dá outras providências. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9985.htm>. Acesso em: 28 Set 2024.

Caixeta, D. S.; Caixeta, F. C.; Menezes Filho, F. C. M. de. Nano e microplásticos nos ecossistemas: Impactos ambientais e efeitos sobre os organismos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v. 15, n. 27, p. 19-34, 2018.

Caixeta, D. S; *et al.* Microplásticos como indicadores de poluição ambiental e seus efeitos sobre os organismos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Jandaia-GO, v.19, n.40; p. 23-40, 2022.

Campoy, P.; Beiras R. **Revisión: Efectos ecológicos de macro-, meso- y microplásticos**. 2019. 35 p. Proyecto REPESCAPLAS2. Estación de Ciencias Mariñas de Toralla (ECIMAT) - Universidade de Vigo, Vigo, nov. 2019.

Carpenter, E. J.; *et al.* Polystyrene spherules in coastal waters. **Science**. 17 nov. 1972, v. 178 n. 4062, p.749-50.

Courtney, A.; Baker, J.; Bamford, H. **Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects and Fate of Microplastic Marine Debris**.

NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R, 30. University of Washington Tacoma, Tacoma, WA, USA, 2009.

Derraik, J. G.B. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. **Marine Pollution Bulletin**. Wellington, New Zealand, n. 44, p. 842–852, 2002.
Kernchen; *et al.* Airborne microplastic concentrations and deposition across the Weser River catchment. **Science of the Total Environment**. Germany, n. 818, 2021.

Dris, R.; *et al.* Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris. **Environmental Chemistry**. v. 5, n.12, p.592-599, 21 July 2015. Disponível em: <<https://www.publish.csiro.au/en/en14167>>. Acesso em: 09 jun. 2024.

Dris, R.; *et al.* Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment? **Marine Pollution Bulletin**. v. 104, n.1–2, p. 290-293, 2016. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025326X16300066>>. Acesso em: 01 dez. 2024.

Dutra, V. S. V.; Silva, L. M. da; Borgo, A. L.; Oliveira, J. E. Z. de. LÍQUENS COMO BIOINDICADORES DA QUALIDADE DO AR NO MUNICÍPIO DE BARBACENA-MG. **nciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Jandaia-GO, v.17, n.34, p. 311, 2020.

Ferreira, A. D.; *et al.* Levantamento florístico como ferramenta de conservação da Reserva Particular do Patrimônio Natural Macaco Barbado. **REVISTA CADERNO PEDAGÓGICO**. n.5, v.21, p. 01-19. 2024.

ECOVILA BOM DESTINO. **Quem somos?**. Espírito Santo, 2020. Disponível em: <<https://ecovilabomdestino.com.br/quem-somos/>>. Acesso em: 30 mai. 2023.

ESPÍRITO SANTO (Estado). Portaria Conjunta SEMA/IEMA, nº 13-R, de 30 de Junho de 2011. Cria a Reserva Particular do Patrimônio Natural Macaco Barbado, no município de Santa Maria de Jetibá - ES. **Diário Oficial dos Poderes de Estado**. Disponível em:<<https://iema.es.gov.br/Media/iema/RPPN/ATOS%20CRIA%C3%87%C3%83O/33%20-%20RPPN%20Macaco%20Barbado%20-%20IEMA.pdf>>. Acesso em: 28 Set 2024.

Herrera-Campos, M. de los Á; *et al.* Biodiversidad de líquenes en México. **Revista Mexicana de Biodiversidad**. n.85, p.82-99, 2014.

Huang, Y.; *et al.* Atmospheric transport and deposition of microplastics in a subtropical urban environment. **Journal of Hazardous Materials**. Amsterdã. v. 2021, n.416, p. 1-8, May. 2021.

Incaper. **Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural: PROATER 2020 - 2023**. 2020. Disponível em:

<https://incaper.es.gov.br/media/incaper/proater/municipios/Santa_Teresa.pdf>.
Acesso em: 04 dez. 2024.

INMET. **Gráficos Anuais de Estações Automáticas:** Estação SANTA TERESA (A613). 2024. Disponível em: <<https://tempo.inmet.gov.br/GraficosAnuais/A001>>.
Acesso em: 04 dez. 2024.

Jafarova, M.; *et al.* Lichen Biomonitoring of Airborne Microplastics in Milan (N Italy). **Biology**. v. 11, n. 1815, p. 1-7, 2022.

Liebezeit, G.; Liebezeit, E. Non-pollen particulates in honey and sugar. **Food Additives & Contaminants: Part A**. Reino Unido, v. 12, n. 30, p.2136-2140, 11 Sep. 2013.

Loppi, S. *et al.* Accumulation of airborne microplastics in lichens from a landfill dumping site (Italy). **Scientific Reports**. v. 11, n. 4564, 2011.

Lucheta, F.; Koch, N. M.; Martins, S. M. A.; Schmitt, J. L. Comunidade de líquens corticícolos em um gradiente de urbanização na Bacia Hidrográfica do Rio dos Sinos, no sul do Brasil. **Rodriguésia**. Rio de Janeiro, p. 323-334, jul. 2017.

Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/rod/a/CGSfbsZ6yQHRcp5XfnzyYtm/?format=pdf&lang=pt>>.
Acesso em: 28 abr. 2024.

Luque, S.; *et al.* Possíveis Impactos Da Presença De Microplásticos Em Ambiente Terrestre. **XV SIMPÓSIO DOS PROGRAMAS DE MESTRADO PROFISSIONAL**. São Paulo. n. 15, p. 1079-1089, nov. 2020. Disponível em:
<<http://www.pos.cps.sp.gov.br/files/artigo/file/971/c9cd51a4511470d1466bc2b9972d790b.pdf>>. Acesso em 08 jun. 2024.

Lwanga, E. H.; *et al.* Incorporation of microplastics from litter into burrows of *Lumbricus terrestris*. **Environmental Pollution**. n. 220, v. 2017, p.523-531, out. 2016.

Masura, J.; *et al.* **Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment:** recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-48. [Estados Unidos], 31 p., July 2015.

Oliveira, M. M. C.; *et al.* Determinação de microplásticos no ar e no lixiviado de um aterro sanitário. **Revista GEAMA, Scientific Journal of Environmental Sciences and Biotechnology**, Bahia, v. 2, n. 9, p. 11-19, ago. 2023.

PARQUE Ecológico Imigrantes. **Para os mais curiosos e atentos visitantes do parque ecológico imigrantes chama a atenção a quantidade de líquens**. São Paulo, 2019. Disponível em:
<<https://parqueecologicoimigrantes.org.br/atracoes/liquens/>>. Acesso em 12 mai. 2024.

Puy-Alquiza, M. J.; *et al.* Study of the Distribution of Heavy Metals in the Atmosphere of the Guanajuato City: Use of Saxicolous Lichen Species as Bioindicators.

Ingeniería, investigación y tecnología. México, v. 18, n.1, 2017. Disponível em: <<https://dialnetunirioja.es/servlet/articulo?codigo=8340283>>. Acesso em: 09 Jun. 2024.

Rahman, A.; *et al.* Potential human health risks due to environmental exposure to microplastics and knowledge gaps: A scoping review. **Science of the Total Environment.** 2020.

Reis, A. K.; *et al.* Líquens como bioindicadores da qualidade do ar de Posto da Mata (BA). **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, Bahia, v. 1, p. 1-8, 2023.

Sivan, A. New perspectives in plastic biodegradation. **Current Opinion in Biotechnology.** v. 22, n.3, p. 422-426, 2011. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166911000292>>. Acesso em: 01 dez. 2024.

Spielmann, A. A. **Fungos Liqueenizados (Líquens).** Programa de capacitação de monitores e educadores. Programa de Pós graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente – Instituto de Botânica, São Paulo: Brasil, 2006. Disponível em: <https://smastr16.blob.core.windows.net/pgibt/sites/242/2023/10/fungos-liquenizados-liquens_spielmann.pdf>. Acesso em: 05 dez. 2024.

WWF. **Solucionar a Poluição Plástica:** Transparência e Responsabilização. WWF:Suíça, 2019.

Wright, S.L.; *et al.* Atmospheric microplastic deposition in an urban environment and an evaluation of transport. **Environment International.** v.136,2020.