

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



Ciências
ULisboa

**Ocorrência de microplásticos em zonas intermareais e
sua relação com variáveis ambientais**

Mestrado em Biologia da Conservação

Ana Catarina Serra Gonçalves

Dissertação orientada por:

Professor Doutor José Pedro Granadeiro
Doutor Pedro Miguel Gomes Lourenço

2016

Esta tese de mestrado foi desenvolvida no âmbito do Projeto: “Elos invisíveis: desvendando a origem de aves limícolas migradoras através de marcadores biogeoquímicos”, da responsabilidade da Fundação da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa e financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (PTDC/MAR/119920/2010).



Ciências
ULisboa
Faculdade
de Ciências
da Universidade
de Lisboa

Agradecimentos

Em especial, gostaria de agradecer ao meu orientador Pedro Lourenço, pela disponibilidade, atenção dispensada, paciência, dedicação e profissionalismo ... um Muito Obrigado. Acima de tudo pela confiança que depositou em mim.

Ao Prof. José Granadeiro o meu sincero agradecimento pela orientação que providenciou ao longo deste projeto. Muito obrigada pelo apoio que foi determinante na elaboração desta Tese.

A equipa do Departamento de conservação e restauro da FCT, nomeadamente à Joana Ferreira e à Prof. Maria João Melo.

A todas as pessoas que ajudaram para a elaboração desta tese, essencialmente no trabalho de campo e recolha de amostras: Teresa Catry, José Alves, Camilo Carneiro, Pedro Lourenço e José Pedro Granadeiro.

Ao Afonso Rocha e José Alves pela disponibilização dos indivíduos de aves para análise das moelas e intestinos.

À Madelena Caria Mendes e Joana Casimiro pela sua disponibilidade e ajuda na análise de amostras em laboratório.

Sem nunca esquecer a todos os meus amigos (eles sabem quem são) que sem eles não era possível ter ultrapassado os meus momentos de desespero, pelo convívio, entreaajuda, apoio e incentivo incondicional. Em especial: ao Antunes e Sofia pela companhia nas longas noites na FCUL a trabalhar na tese; ao Guilherme, por ser um docinho das cavernas; ao Jaime e ao Cabecinha pelas “boleias” mas também pelas suas facetas de comediantes; ao Caldas por ser um bom amigo; à Raquel por me ter aturado como boa companheira de laboratório que é; à Ana por me ensinar tudo sobre pescas; à “Xuxu” e António por serem quem são na minha vida; à Inês por ainda me aturar depois de 26 anos; e às meninas dos “Fixes” que são muito especiais e por mais mil “blablabla’s”. (Depois da minha declaração quero ver quem me paga uma jola)

Ao Ricardo que me ajudou a seguir o caminho certo na Biologia e quem sempre se disponibilizou para me ajudar no decorrer da tese. Pelos intermináveis desabafos e pela partilha dos bons (e menos bons) momentos. Resumindo, obrigado por ser um bom amigo em todas as ocasiões.

Por último um grande obrigado à minha família, aos meus pais e à minha irmã, por me terem aturado este tempo todo. Mas principalmente à minha mãe a quem estarei sempre grata por todo o apoio e sacrifícios que me providenciou e a quem peço desculpa pelas enormes “dores de cabeça” que causei.

Espero que após esta etapa, consiga finalmente de alguma forma, retribuir e compensar todo o apoio e dedicação que me deram. A eles, dedico todo este trabalho.

Obrigada!

“In conservation, the motto should always be 'never say die'.”

Gerald Durrell

To argue that the current extinction event could be averted if people just cared more and were willing to make more sacrifices is not wrong, exactly; still, it misses the point. It doesn't much matter whether people care or don't care. What matters is that people change the world. This capacity predates modernity,”

Elizabeth Kolbert

Índice

Resumo	7
Abstract	10
Introdução Geral	13
Capítulo 1	20
<i>Abundância e distribuição de microplásticos em sedimentos intermareais no estuário do Tejo e sua relação com variáveis ambientais</i>	20
Introdução	20
Métodos	24
Área de Estudo	24
Recolha de amostras	25
Análise laboratorial	27
Quantificação dos microplásticos nas amostras	27
Porcentagem de sedimentos finos	28
Contaminação laboratorial	28
Análise de dados	30
Obtenção de variáveis ambientais e antropogénicas	30
Análise estatística	31
Resultados	33
Deteção dos microplásticos nas amostras	33
Efeito das variáveis ambientais no número de fibras em sedimentos e bivalves	37
Discussão	42
Capítulo 2	47
<i>Ocorrência de microplásticos nas cadeias tróficas de três zonas intermareais ao longo da costa oriental do Oceano Atlântico</i>	47
Introdução	47
Métodos	50
Área de Estudo	50
Recolha de amostras	52
Análise laboratorial	55
Quantificação dos microplásticos nas amostras	55
Identificação dos polímeros constituintes dos microplásticos	55
Contaminação laboratorial	56
Análise de dados	56
Resultados	58
Sedimento	58
Invertebrados	59
Estômagos das aves	61
Dejetos de aves	62
Identificação dos polímeros constituintes dos microplásticos	68

Discussão	69
<i>Considerações Finais</i>	75
<i>Referências</i>	77
ANEXO I	85
ANEXO II	88

Resumo

A poluição do ambiente pelos plásticos é uma preocupação crescente e é expectável que perdure por muitos séculos, sendo particularmente grave nas águas costeiras onde os plásticos representam 50-80% dos detritos de origem humana. Com base no seu tamanho, estes detritos podem ser classificados como macro e microplásticos, sendo os últimos os detritos de tamanho inferior a 5mm. Na última década, um grande número de estudos evidenciou a ocorrência de microplásticos em ambientes marinhos e costeiros. Os estuários são considerados um dos ecossistemas mais produtivos a nível mundial, revestindo-se de grande importância para a biodiversidade, e são frequentemente locais propícios à acumulação de microplásticos devido ao tipo de substrato e ao regime cíclico de circulação das águas. Contudo, existe pouca informação acerca de quais os fatores que influenciam a distribuição destes detritos em sistemas estuarinos. Dadas as suas pequenas dimensões, estes plásticos são facilmente ingeridos por uma larga gama de organismos integrando assim as cadeias tróficas. Os microplásticos são considerados bio-disponíveis para organismos em diferentes níveis das cadeias tróficas, desde os consumidores primários aos predadores de topo, podendo ser ingeridos diretamente, ou indiretamente através da ingestão de presas que contém microplásticos.

Este estudo pretende mapear a abundância e distribuição de microplásticos em sedimentos das zonas intermareais do estuário do Tejo e averiguar a sua relação com diversas variáveis ambientais (eg. distância à costa, distância a zonas urbanizadas, distância a saídas de esgoto, densidade populacional na costa adjacente, granulometria do sedimento). A uma escala mais alargada, pretende-se também comparar a incidência de microplásticos em zonas intermareais de diferentes regiões ao longo da costa oriental do Oceano Atlântico (estuário do Tejo, arquipélago dos Bijagós, Guiné-bissau e Banc d'Arguin, Mauritânia), com níveis de pressão humana distintos de modo a compreender melhor a influência da urbanização na abundância de microplásticos e detetar eventuais

padrões macrogeográficos. Pretende-se ainda avaliar a eventual propagação destes detritos nas cadeias tróficas destes locais.

Na primeira parte do trabalho, foram definidos 64 pontos distribuídos pela margem sul do estuário do Tejo. Utilizámos modelos de regressão para relacionar a concentração de microplásticos nestas amostras com um conjunto de variáveis ambientais. Observou-se uma elevada concentração de microfibras de plástico nos sedimentos (média: 5.2 ± 7.0 microfibras.ml⁻¹) e bivalves analisados (média: 1.7 ± 2.6 microfibras.g⁻¹ peso fresco). Os modelos de regressão sugerem que a concentração de microfibras está relacionada com a granulometria do sedimento (concentrações mais altas em sedimentos mais finos) e pelo número de habitantes do concelho onde foi recolhida a amostra (concentrações mais altas em concelhos mais populosos).

Na segunda parte do trabalho, foram recolhidas amostras de sedimento e macroinvertebrados, no estuário do Tejo, arquipélago dos Bijagós e Banc d'Arguin. Foram adicionalmente recolhidos dejetos de aves limícolas nos mesmos três locais, incluindo espécies com diferentes estratégias alimentares (Tátil, Mista e Visual).

Foi verificada uma menor abundância de microfibras no sedimento do sistema intermareal menos urbanizado, o Banc d'Arguin 4.4 ± 1.6 microfibras.ml⁻¹, comparativamente aos Bijagós 10.8 ± 4.3 microfibras.ml⁻¹ e ao estuário do Tejo 7.5 ± 0.4 microfibras.ml⁻¹, que são alvo de maior influência humana.

Foi ainda observada a presença de microfibras em todos os elementos da cadeia alimentar analisados (consumidores primários – macroinvertebrados – e secundários - aves). Os resultados demonstraram uma tendência similar à verificada para o sedimento, de uma menor presença de microfibras no Banc d'Arguin, havendo ainda uma tendência para concentrações mais elevadas de microfibras em dejetos de aves com uma estratégia

alimentar táctil. Isto poderá sugerir uma propagação destas partículas ao longo da cadeia trófica, sendo que as limícolas ingerem microfibras diretamente do sedimento (táteis e mistas) mas também indiretamente através da ingestão de presas que contêm os detritos (visuais).

Os nossos resultados confirmam a abrangência da problemática dos microplásticos a nível global, tendo sido detetados elevados níveis destes detritos nos três sistemas intermareais amostrados. A presença humana aparenta ser um fator chave na abundância de microplásticos. É ainda verificada a presença de microplásticos nos vários níveis da cadeia trófica, bem como a sua possível propagação ao longo da mesma, o que sugere que estes detritos podem afetar todos os animais estuarinos até aos consumidos de topo, onde se inclui o Homem.

Palavras-chave: Microplásticos, Cadeia-trófica, Zonas intermareais, Limícolas, Estuário

Abstract

Plastic pollution is a growing concern and is expected to last many centuries, being of particularly concern in the coastal waters where plastic represents 50-80% of human waste. Based on their size, plastics can be classified as macro- and micro-plastics, the latter being all particles below 5mm. In the last decade, a large number of studies revealed the occurrence of micro-plastics in marine and coastal environments. Estuaries are among the most productive ecosystems in the world, and are highly important for biodiversity, often forming places favourable to the accumulation of micro-plastics due to the type of substrate and the cyclical system of water circulation. However, there is little information about the factors that influence the distribution of microplastic debris in estuarine systems. Given their small size, microplastics are easily ingested by a wide range of organisms and can therefore integrate the trophic chains. These particles are considered bio-available to organisms at different levels of the trophic chain, from primary consumers to top predators, and may be ingested directly, or indirectly through prey (with microplastics) consumption.

This study aims to map the abundance and distribution of microplastics in the Tejo estuary intertidal sediments and survey its relationship with various environmental variables (eg. distance to nearest coast, distance to nearest urban areas, distance to nearest sewage points, population on the coast adjacent, granulometry). On a larger scale, we also aim to compare the incidence of microplastics in intertidal zones of different regions along the eastern Atlantic coast (Tejo estuary, Bijagós archipelago, Guinea-Bissau and Banc d'Arguin, Mauritania) showing different levels of human pressure levels to understand the effect of urbanization and detect possible macro-geographical patterns. The study also aims to evaluate the potential spread of such debris in the local food chains.

In the first chapter, 64 points were selected along the southern shore of the Tejo estuary. We used regression models to relate microplastic concentration with different environmental variables. The sediment showed high plastic microfiber concentrations (mean: 5.2 ± 7.0 microfibers.ml⁻¹), the same being true for bivalve individuals (mean: 1.7 ± 2.6 microfibers.g⁻¹ fresh weight). Regression models suggest that microfibers concentration is related to sediment granulometry (higher concentrations in muddy sediments) and population (highest concentrations in most populated districts).

In the second chapter, sediment and macroinvertebrate samples were collected in the Tagus estuary, Bijagós archipelago and Banc d'Aguin. Additionally, bird faeces were also collected in the same areas, including species with different feeding strategies (Tactile, Visual and Mixed).

The results showed a lower microfiber concentration on the sediment of the least urbanized intertidal system, Banc d'Arguin (4.4 ± 1.6 microfibers.ml⁻¹), comparing to Bijagós archipelago (10.8 ± 4.3 microfibers.ml⁻¹) and Tejo estuary (7.5 ± 0.4 microfibers.ml⁻¹), both being subjected to higher human influence.

Microfibers were present in all elements of the local trophic chains analysed (primary consumers – macroinvertebrates - and secondary consumers - birds). The results showed a similar trend from the one observed for the sediments; lower microfibers concentration in Banc d'Arguin (least urbanized), and there was also a trend for higher concentrations of microfibers in bird species with a tactile feeding strategy. This suggests these particles are widely spread along the food chains. Waders seem to ingest microfibers both directly from sediment (tactile and mixed), but also indirectly through prey intake (visual).

Our results confirm the global extent of the microplastics problematic, with high microplastic concentrations in all three sampled intertidal systems. Human influence

appears to be a key factor in microplastic abundance in intertidal zones. The presence of the microplastic was confirmed along various trophic levels, and it is possible they spread along the food chains, suggesting that these debris may affect all estuarine animals up to the top predators, where humans are included.

Key-words: Microplastics, Trophic Chain, Estuary, Waders, Intertidal zone

Introdução Geral

O termo “plástico” é comumente usado para definir materiais constituídos por polímeros sintéticos cuja matéria-prima são hidrocarbonetos de origem natural (eg. álcool, gás natural, carvão e petróleo). Os plásticos são produzidos através do processo químico denominado de polimerização, que consiste na união de monómeros (sintéticos ou naturais). Caracterizam-se por serem facilmente moldados, através do efeito do calor e/ou da pressão, em certa fase da sua produção. Estes materiais foram desenvolvidos no século XIX, mas foi no século XX, com a descoberta e a produção de novos tipos de plásticos (e.g. baquelite, poliestireno (PS), policloreto de vinil (PVC) e Raiom) que a sua comercialização começou a crescer exponencialmente (Derraik 2002; Andrady & Neal 2009). O uso generalizado dos plásticos deve-se ao seu baixo custo e às suas propriedades úteis como o baixo peso, longa durabilidade, resistência, e propriedades de isolamento térmico e elétrico (Derraik 2002; Thompson et al. 2009b). Assim, a produção mundial de plástico aumentou dramaticamente de cerca de 1.7 milhões de toneladas em 1950 para 288 milhões de toneladas em 2012 (Plastic Europe 2013).

Vivemos na era do plástico, estando este presente na maior parte da rotina dos seres humanos, desde os transportes às comunicações, roupa, calçado, embalagens de comida e bebida, entre outros usos. Apesar da sua grande utilidade, o uso de plásticos acarreta também diversos problemas, designadamente devido à sua resistência à degradação, sendo reconhecidos internacionalmente como um problema para o ambiente (Gregory 2009). O lixo marinho é constituído por 60 a 80% de plásticos (Derraik 2002; Rios et al. 2007; Barnes et al. 2009). A abundância de detritos plásticos varia bastante com o tempo e o local, mas há registos de mais de 100 000 objetos plásticos.m⁻² em substratos costeiros (Barnes et al. 2009) e de cerca de 3 520 000 objetos.km⁻² na superfície oceânica (Yamashita & Tanimura 2007).

Diversos estudos têm vindo a demonstrar que o emaranhamento e a ingestão de detritos plásticos é uma importante causa de mortalidade em diversos animais marinhos, incluindo invertebrados, peixes, tartarugas, aves e mamíferos (Derraik 2002; Gregory 2009; Boerger et al. 2010; Choy & Drazen 2013; Carson 2013; de Carvalho et al. 2015). Para além da mortalidade direta, os plásticos podem também potencialmente transferir substâncias tóxicas para as cadeias tróficas (Teuten et al. 2009). O plástico é um material sintético, constituído por cadeias poliméricas de monómeros orgânicos (e.g. etileno, propileno). Entre os materiais usados na sua produção estão materiais tão diversos, como a celulose, o carvão, o gás natural, sal e crude (petróleo bruto) (Derraik 2002; Rios et al. 2007; Thompson et al. 2009a). Cada polímero tem propriedades, estrutura e tamanhos específicos dependendo dos vários tipos de monómeros básicos usados (Plastic Europe 2013). Estes materiais contêm usualmente aditivos que podem ser tóxicos (e.g. BPA – bisfenol-A), havendo muita controvérsia sobre os efeitos da libertação de alguns destes aditivos para o meio ambiente (Plastic Europe 2013).

Os detritos plásticos podem ser classificados como macro e microplásticos, tendo os primeiros mais de 5 mm de diâmetro, enquanto os segundos são todos os detritos de plástico de diâmetro inferior a 5 mm (Fendall & Sewell 2009; Andrady 2011). Os macroplásticos foram identificados como um problema ambiental desde os anos 1960 (Moore 2008), mas foi só na última década que a problemática dos microplásticos começou a ser alvo de estudos detalhados. Na verdade, mais de 60% dos estudos existentes sobre a presença de microplásticos em ambiente marinho foram publicados nos últimos 8 anos (Ivar do Sul & Costa 2014). Consoante a via de entrada no meio marinho, os microplásticos são definidos como primários ou secundários. Os plásticos que são fabricados com um tamanho microscópico são definidos como microplásticos primários, incluindo as pastilhas de resina virgem usadas como matéria-prima na indústria dos plásticos, as microesferas usadas em produtos cosméticos esfoliantes e pastas de dentes e

os microplásticos usados na tecnologia de *airblasting* (Derraik 2002; Gregory 2009), entrando no ambiente por descargas diretas. Os microplásticos secundários resultam da degradação de detritos plásticos de maiores dimensões (Thompson 2004; Ryan et al. 2009) através de processos físicos, químicos e biológicos que levam à redução da sua integridade estrutural e consequente fragmentação (Browne et al. 2007). A longevidade dos macropelásticos está estimada em centenas de anos, o que possibilita uma longa exposição a processos de fragmentação e degradação, permitindo a sua decomposição em parcelas cada vez menores, até atingirem as dimensões de microplásticos (Rios et al. 2007; Ryan et al. 2009; Fendall & Sewell 2009). Consequentemente, a abundância e distribuição global dos microplásticos no ambiente marinho tem vindo a aumentar (Barnes et al. 2009). Contudo as consequências destes microplásticos no ambiente são ainda pouco conhecidas.

Devido à sua maior razão superfície/volume, os microplásticos são mais suscetíveis à contaminação por poluentes do que plásticos de maior dimensão (Ivar do Sul & Costa 2014). A superfície dos plásticos é altamente hidrofóbica e tem uma elevada afinidade a alguns poluentes químicos, o que faz com estes últimos sejam adsorvidos pela superfície dos microplásticos, podendo estes atuar como reservas de químicos tóxicos no ambiente (Teuten et al. 2007; Cole et al. 2011). Devido ao seu pequeno tamanho, os microplásticos podem ser ingeridos por organismos em diferentes níveis das cadeias tróficas, sendo a exposição a estas partículas potencialmente maior nas zonas mais urbanizadas/industrializadas (Ivar do Sul & Costa 2014). Ao ingerir microplásticos os indivíduos tornam-se suscetíveis a perturbações físicas e a doses de contaminantes adsorvidos que não seriam acessíveis de outra forma. Os contaminantes presentes nos microplásticos, como os ftalatos e o BPA, podem mesmo entrar na cadeia circulatória dos animais, chegando a outros órgãos e causando alterações fisiológicas que incluem alterações hormonais (Hu et al. 2009; Rochman et al. 2014) e imunológicas (Browne et

al. 2008), podendo também afetar a reprodução e retardar o desenvolvimento dos indivíduos (Hu et al. 2009; Oehlmann et al. 2009).

Muitos consumidores secundários como as aves e mamíferos podem ingerir microplásticos diretamente, mas também os podem ingerir indiretamente através das suas presas (Ivar do Sul & Costa 2014). Estas por sua vez podem também ingerir microplásticos diretamente ou indiretamente (Watts et al. 2014, 2015), evidenciando a transferência destas partículas através das cadeias tróficas (Figura 1.1). Os microplásticos podem afetar diferentes níveis da cadeia trófica, desde os consumidores primários aos predadores de topo.

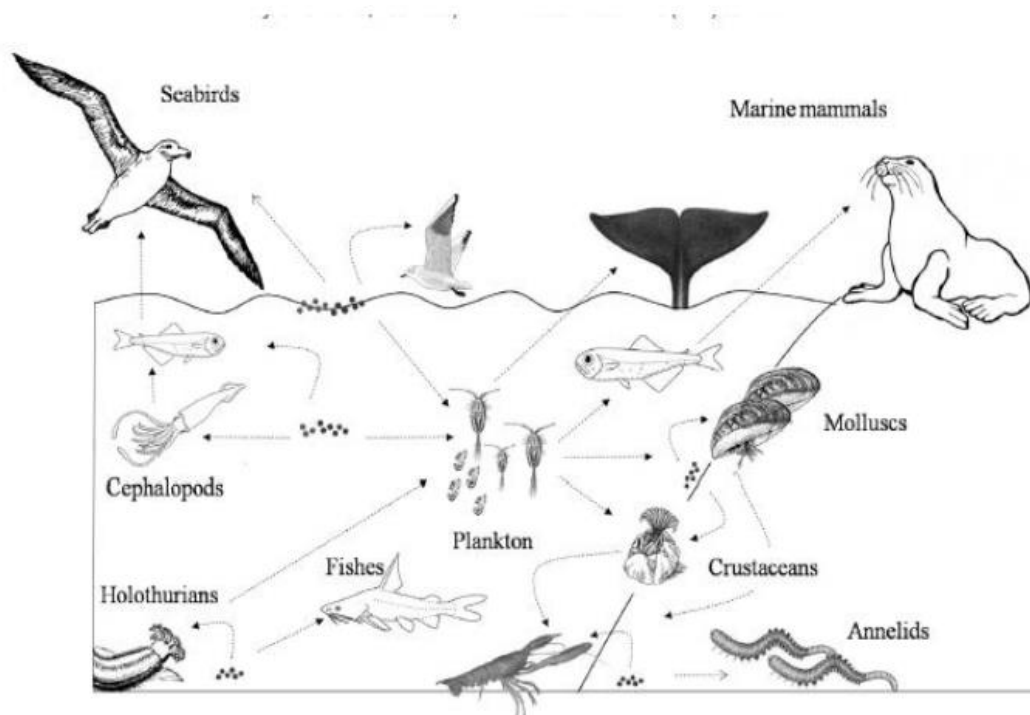


Figura 1.1 – Propagação de microplásticos ao longo da cadeia trófica marinha. As partículas de microplásticos são representadas na figura pelo símbolo (●). (Figura obtida em Ivar do Sul & Costa 2014)

Os estuários são considerados um dos ecossistemas mais produtivos a nível mundial (Bakir et al. 2014a) e suportam muitas espécies de aves, mamíferos, peixes e invertebrados, muitas delas exploradas para consumo humano, e por isso com grande

importância económico e social. Contudo, a mesma produtividade que atrai tanta biodiversidade é também propícia ao estabelecimento humano, e reveste os estuários de grande importância a nível económico (Mitsch & Gosselink 2000; Lee et al. 2006; Bakir et al. 2014a). Deste modo, para gerir os conflitos entre o desenvolvimento humano e a conservação da biodiversidade, muitos estuários foram incluídos em áreas protegidas ao abrigo de convenções internacionais e/ou de legislação nacional (Stroud et al. 2001)(Mehlman 2003). Diversas ameaças afetam atualmente os estuários, incluindo atividades económicas primárias (eg. pesca, agricultura), poluição urbana e industrial, transformação de habitats naturais para outros usos, bem como as alterações climáticas (Sutherland et al. 2012). A essas ameaças mais reconhecidas, junta-se também a presença de microplásticos, cuja influência nas populações animais e vegetais é ainda pouco conhecida (Sutherland et al. 2012; Bakir et al. 2014b; Zhao et al. 2014, 2015). Estes ecossistemas são locais favoráveis à acumulação de microplásticos devido às suas características hidrológicas (Browne et al. 2010; Bakir et al. 2014b). Os produtos químicos tendem a ser adsorvidos pela matéria particulada que vai sobretudo sedimentar nas zonas de sedimentos mais finos e nos sapais, as quais são consideradas das mais importantes no que se refere a ambientes de reprodução, de desenvolvimento e de alimentação de muitos animais estuarinos (Granadeiro et al. 2007; Vinagre et al. 2008). Este problema poderá ser agravado em muitos casos, como no estuário do Tejo, pela proximidade de grandes centros urbanos e industriais, que favorecem a entrada de grandes quantidades de detritos veículos de poluentes, como os microplásticos (Lee et al. 2006; Browne et al. 2011). Os microplásticos podem também entrar nos estuários, e eventualmente no oceano, através das descargas efetuadas em rios, aumentando assim o número de potenciais pontos de origem destes detritos a todas as áreas cobertas pelas bacias hidrográficas dos rios (Moore & Clarke 2002). Por outro lado, é provável que os microplásticos possam também entrar nos estuários vindos do oceano, onde são

espalhados pelas correntes oceânicas, pelo que mesmo zonas costeiras desprovidas de presença humana podem também ser afetadas por este problema.

Embora sejam habitats suscetíveis à acumulação de microplásticos e de possuírem condições favoráveis à sua ingestão por parte dos animais que neles habitam, poucos estudos sobre microplásticos foram realizados em estuários. Foi demonstrado que os microplásticos são abundantes nas zonas intermareais do Estuário do Tamar (UK) (Browne et al. 2010) e por sua vez também se encontram depositados nos sedimentos intermareais do estuário do Goiana (Brasil) (Costa et al. 2011).

As aves limícolas usam os estuários durante a invernada e migração, sendo importantes predadores nas zonas intermareais (Moreira 1997). Estas aves podem ser usadas como bioindicadores da “saúde” dos estuários (Amat & Green 2010; Zhang & Ma 2011). A distribuição das limícolas nas zonas estuarinas é influenciada pela abundância e disponibilidade dos invertebrados intertidais de que elas se alimentam, assim como por variáveis ambientais como a salinidade e o tipo de substrato (Myers et al. 1980; Quammen 1982; Goss-Custard & Yates 1992; Yates et al. 1993; Austin & Rehfish 2003), pelo que alterações das condições ambientais nos estuários são prováveis de serem refletidas nos seus efetivos populacionais, no seu comportamento (Piersma & Lindström 2004).

Os microplásticos foram recentemente considerados como uma das ameaças a ter em conta para a conservação das zonas intermareais num futuro próximo (Sutherland et al. 2012), sendo por isso importante conhecer melhor os padrões de ocorrência dos microplásticos nestas zonas e até que ponto estes entram nas cadeias tróficas. Assim este estudo tem como objetivos gerais, descrever a abundância e a distribuição dos microplásticos em três zonas intermareais ao longo da costa oriental do Oceano Atlântico e avaliar a sua prevalência nas cadeias tróficas destas zonas. De forma a identificar os fatores ambientais que possam influenciar a abundância de microplásticos, foi também

estudada com maior detalhe a distribuição espacial destes detritos nos sedimentos intermareais do estuário do Tejo.

Capítulo 1

Abundância e distribuição de microplásticos em sedimentos intermareais no estuário do Tejo e sua relação com variáveis ambientais

Introdução

Diversos estudos têm vindo a demonstrar uma presença crescente de microplásticos no meio marinho (Eriksen et al. 2014; Jambeck et al. 2015; Galgani 2015) bem como a sua ingestão por parte das espécies marinhas (Thompson et al. 2009a). As zonas estuarinas são potencialmente zonas de acumulação de microplásticos, podendo estes ter origem em descargas efetuadas diretamente no estuário, ou nos rios que o alimentam (Moore & Clarke 2002), podendo ainda entrar no estuário pelo oceano através do efeito das correntes e ventos (Bakir et al. 2014b). Os padrões espaciais e temporais de acumulação dos microplásticos são influenciados por diversos fatores como o vento, a ação das ondas e correntes marinhas, as características do sedimento (Browne et al. 2010). O transporte das partículas de microplásticos é determinado pelo seu tamanho, forma e densidade, sendo de referir que a densidade das partículas de microplásticos difere consoante os polímeros constituintes, o que pode determinar o comportamento destas partículas na coluna de água (Browne et al. 2010). A capacidade de retenção de sedimentos do estuário está dependente da velocidade das correntes, dos regimes cíclicos de maré e da morfologia do estuário. Quanto mais elevado o tempo de retenção da água (tempo necessário para que a água proveniente do rio chegue ao mar) no interior dos estuários, maior é a acumulação de materiais finos (Caill-Milly et al. 2012). Sendo os microplásticos pouco densos será expectável que tendam a acumular mais nas zonas com menor hidrodinamismo, constituídas fundamentalmente por fundos vasosos.

Após a sua deposição, os microplásticos ficam disponíveis para uma grande variedade de organismos que dependem direta ou indiretamente do sedimento. Assim, a ingestão de microplásticos foi confirmada nos mais diversos organismos incluindo bivalves (Van Cauwenberghe & Janssen 2014; Browne et al. 2015), crustáceos (Iribarne & Martinez 1999; Murray & Cowie 2011; Watts et al. 2014, 2015), poliquetas (Wright et al. 2013a; Besseling et al. 2013; Browne et al. 2013), peixes (Boerger et al. 2010; Lusher et al. 2013; Choy & Drazen 2013), aves (Robards et al. 1995; Blight & Burger 1997; Ryan et al. 2009), tartarugas (de Carvalho et al. 2015; Nelms et al. 2015) e mamíferos marinhos (Baulch & Perry 2014; Besseling et al. 2015).

Os químicos poluentes adsorvidos pelos microplásticos bem como os aditivos que os constituem podem ser tóxicos para as espécies que os ingerem. Embora as consequências da ingestão destas partículas, seja ainda pouco conhecida, estudos recentes demonstraram alguns dos efeitos em diferentes organismos. Foi observada uma redução na taxa de alimentação e um aumento das inflamações em *Mytilus edulis* (Browne et al. 2008; von Moos et al. 2012; Van Cauwenberghe et al. 2015), e em *Arenicola marina* (Wegner et al. 2012; Van Cauwenberghe & Janssen 2014; Van Cauwenberghe et al. 2015). Foi também detetada uma diminuição da capacidade reprodutora e da fecundidade dos crustáceos *Daphnia magna* (Cladocera) (Besseling et al. 2014), *Tigriopus japonicus* (Copepoda) (Lee et al. 2013; Besseling et al. 2014), *Calanus helgolandicus* (Copepoda) (Cole et al. 2015) e de *Crassostrea gigas* (Bivalvia) (Sussarellu et al. 2016). Contudo é preciso ter em conta que o impacto biológico da ingestão de microplásticos não é imediato, podendo ocorrer apenas após um determinado tempo de exposição dos organismos a estes detritos, até estes causarem um distúrbio suficiente para despoletar uma resposta fisiológica. Os efeitos da ingestão de microplásticos por *C. gigas* só foram detetados após 2 meses (Sussarellu et al. 2016). Um estudo recente demonstrou ainda que estes microplásticos acumulam-se no intestino de bivalves (mexilhões *Mytilus edulis*) e que podem ser

translocados para o seu sistema circulatório onde podem persistir durante 48 horas (Browne et al. 2008). O mesmo estudo demonstrou que partículas de menores dimensões tinham um maior potencial para se acumularem nos tecidos dos organismos (Browne et al. 2008).

O estuário do Tejo é considerado uma das mais importantes zonas húmidas de Portugal tendo sido classificado como Reserva Natural (RNET) em 1976. Em 1994 a área classificada foi ampliada através da criação de uma Zona de Especial Proteção (ZPE), ao abrigo da Rede Natura 2000, que abrange também a RNET. Para além disso, ao abrigo da Convenção de Ramsar, o estuário do Tejo encontra-se classificado como zona húmida de importância internacional, devido à sua elevada importância em especial enquanto habitat de aves aquáticas. Torna-se desta forma importante estudar todos os impactos humanos que possam interferir com a qualidade do ecossistema e consequentemente dos organismos que o habitam.

Os organismos comumente utilizados como bioindicadores da qualidade dos ecossistemas estuarinos incluem o plâncton, e também os bivalves, sendo importante estudar espécies possuidoras de diferentes estratégias alimentares (Wilson 1994). O processo de crescimento dos moluscos é fortemente influenciado por alterações ambientais, pelo que são considerados bons indicadores, sendo frequentemente usados para avaliar os níveis de contaminantes na água e nos sedimentos envolventes. O mexilhão *Mytilus edulis* tem sido usado frequentemente na monitorização da qualidade do habitat. Mais recentemente a *S. plana* é usada como indicador da contaminação química do ecossistema (Bryan & Uysal 1978; Bryan & Langston 1992; Luoma et al. 1995).

A espécie escolhida como modelo neste estudo, foi o bivalve *Scrobicularia plana* (Da Costa, 1778), que representa uma importante fonte de alimento para muitas das espécies

de aves e de peixes no estuário do Tejo (Moreira 1997, 1999; Evans et al. 2006; Salgado et al. 2007; Moreira et al. 2011; Santos et al. 2011). Esta espécie de bivalve é também explorada para alimentação humana, revestindo-se assim de um elevado valor económico em Portugal e Espanha (Langston et al. 2007). Esta espécie de bivalve já foi indicada em diversos estudos como um bom bioindicador da poluição por metais pesados, nomeadamente mercúrio (Hg) (Coelho et al. 2014), devido à sua capacidade de resposta imunotoxicológica e de bioacumulação (Ahmad et al. 2011). O bivalve *S. plana* representa a maioria da biomassa bentónica no estuário do Tejo (Rodrigues et al. 2006) estando presente em quase todas as zonas intermareais do estuário, mas com maiores densidades nas zonas mais vasosas, que são os locais mais ricos em matéria orgânica (Carvalho et al. 2005; Rodrigues et al. 2006; Bocher et al. 2007). Dependendo da sua dimensão, *S. plana* ocorre no sedimento a uma profundidade entre 5 e 20 cm (Akberali & Davenport 1981) podendo alimentar-se da matéria orgânica disponível na superfície do sedimento (*deposit feeders*) ou filtrar matéria orgânica em suspensão na coluna de água (*suspension feeders*).

Os invertebrados possuidores destas estratégias alimentares são especialmente suscetíveis de ingerir microplásticos (Thompson 2004; Browne et al. 2008; Graham & Thompson 2009; Murray & Cowie 2011), pelo que *S. plana* pode ser um bom indicador da ocorrência destes poluentes na comunidade bentónica do estuário. Podem também ser um vetor de propagação de microplásticos na cadeia trófica do estuário, uma vez que os predadores podem ingerir indiretamente microplásticos ao alimentarem-se de presas contaminadas (referências, capítulo 2). Sendo o processo de deposição e distribuição de microplásticos ainda pouco estudado e compreendido em estuários (Reddy et al. 2006; Browne et al. 2010), é importante estudar a distribuição dos microplásticos nos sedimentos, a uma escala relativamente larga e investigar possíveis variáveis ambientais, que podem influenciar a sua distribuição em zonas estuarinas.

Assim, o presente estudo pretende (1) descrever a prevalência de microplásticos nos sedimentos intermareais do estuário do Tejo, e para além disso, pretende-se (2) investigar os fatores que influenciam a distribuição espacial dos microplásticos nas diferentes áreas intermareais da margem sul do estuário do Tejo

Métodos

Área de Estudo

Este trabalho foi desenvolvido nas zonas intermareais da margem sul do estuário do Tejo (38°46'37"N, 9°1'36"W). Estas zonas são bastante heterogéneas no que respeita ao substrato. Nas zonas a montante e no interior do estuário predominam os sedimentos finos, enquanto a jusante e ao longo da costa predominam os sedimentos mais arenosos (Cabral & Costa 1999). Este estuário destaca-se pela sua área total de 325 km² o que o torna uma das mais extensas zonas húmidas da Europa Ocidental. O estuário do Tejo é bastante influenciado pelo regime de marés, que aqui atingem uma amplitude máxima de cerca de 4 m, formando uma extensa área intermareal que durante as marés mais baixas atinge aproximadamente 92 km² (Catry et al. 2015). O estuário é alvo de diversos impactos antropogénicos, incluindo descargas de zonas industriais e zonas agrícolas, sobretudo na região norte do estuário (Cabral et al. 2001) e também de uma população de cerca de 3.5 milhões de habitantes nos concelhos limítrofes (INE 2015), tornando-se um local ideal para o estudo da contaminação por microplásticos em zonas intertidais. É na zona mais a jusante do estuário que ocorre uma maior pressão urbana, encontrando-se aí os maiores aglomerados populacionais (Cabral et al. 2001; Costa 2013). A maior fonte de entrada de água doce é o Rio Tejo, que possui um fluxo médio anual de 400 m³.s⁻¹, sendo que a água doce tem um tempo de permanência no estuário em média de 6-65 dias

(Brogueira & Cabeçadas 2006). O rio Tejo é também uma importante fonte de nutrientes para o sistema estuarino, com contribuições menores dos rios Sorraia e Trancão (Brogueira & Cabeçadas 2006). O estuário do Tejo tem também uma importante produção primária, sendo os sapais existentes a mais importante fonte de energia e de nutrientes para o sistema (Catry et al. 2015).

Recolha de amostras

A amostragem decorreu de novembro 2014 a Março 2015, tendo sido definidos 64 estações de amostragem dispersas por 11 áreas intermareais inseridas na margem sul do estuário do Tejo (Figura 1.2). As 11 áreas amostradas representam um espectro de diferentes características hidrológicas e antropogénicas, apresentando diferentes tipos de sedimento e diferentes níveis de urbanização nas zonas circundantes. Cinco das 11 áreas referidas situam-se dentro da ZPE, duas das quais localizadas dentro dos limites da RNET (ICNF 2015). A amostragem foi limitada à margem sul do estuário, onde se concentram as maiores extensões de sedimentos intertidais, constituindo também a área do estuário de maior importância para a biodiversidade (ICNF 2015). Os pontos de amostragem localizaram-se ao longo de transectos realizados perpendicularmente à costa, de forma a obter amostras com diferentes distâncias à linha de costa. Cada transecto distou pelo menos 500 m do transecto mais próximo. Foram realizados 3-5 pontos de amostragem ao longo de cada transecto, sendo que cada ponto foi amostrado com um afastamento de 50-200 m relativamente ao ponto precedente. O número de pontos amostrados e a distância entre os pontos de amostragem variou de acordo com a largura da área intermareal. Na maioria dos casos os transectos abrangeram a distância da linha de costa à linha da maré-baixa, mas ocorreram exceções que se deveram essencialmente às características das áreas intertidais, nomeadamente casos em que a área intermareal era excepcionalmente extensa ou zonas de sedimentos extremamente finos que foram evitadas por motivos de

segurança. Cada ponto de amostragem foi georreferenciado com recurso a um GPS (Garmin Oregon 450), seguindo-se a colheita de uma amostra de ca. 2 ml de sedimento superficial, com recurso a uma seringa de 1 cm de diâmetro, tendo desta forma sido amostrados os 2.5 cm superficiais do sedimento. Num raio de 2 m em redor do ponto de amostragem foram recolhidos 3 indivíduos de *S. plana*, excetuando os locais onde estes eram escassos ou inexistentes. Esta recolha foi executada com recurso a um tubo de amostragem de sedimento (10 cm de diâmetro, 20 cm de profundidade). Cada indivíduo recolhido foi colocado num frasco individual e congelado o mais brevemente possível após a recolha. Foi também recolhida uma amostra de 40 ml de sedimento em cada ponto de amostragem para posterior determinação da percentagem de sedimentos finos.

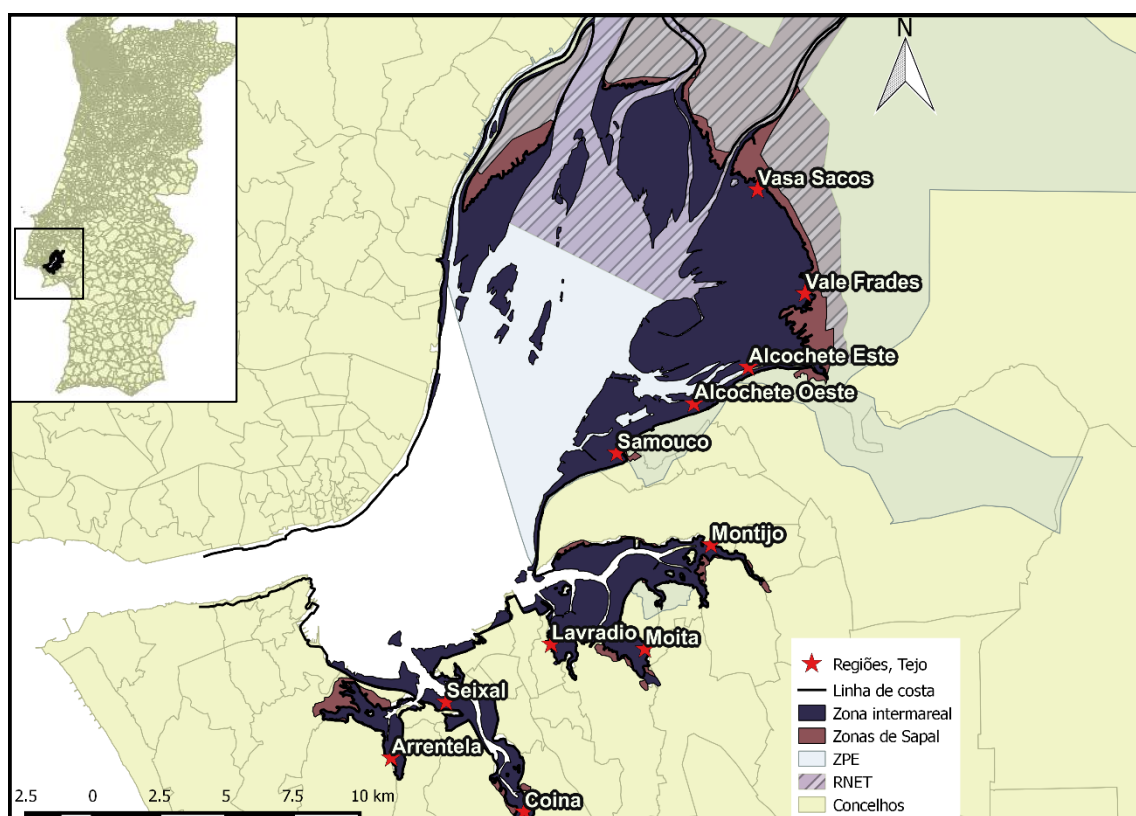


Figura 1.2 – Mapa do estuário do Tejo com a localização de cada área de estudo ao longo da margem sul do estuário. Os limites das áreas sujeitas a proteção legal (ZPE e RNET) estão também indicadas.

Análise laboratorial

Quantificação dos microplásticos nas amostras

Foram analisadas 64 amostras de sedimento recolhidas ao longo dos transectos. Todas as amostras de sedimento recolhidas foram secas a uma temperatura constante de 40°C durante 72 horas. Depois de secas, as amostras de 2 ml de sedimento usadas para a quantificação de microplásticos foram maceradas com recurso a pilão e almofariz de modo a facilitar a separação das partículas de sedimento, sendo posteriormente analisadas sob uma lupa binocular de ampliação 10-40x. Todos os microplásticos foram contabilizados, descritos (cor, diâmetro e comprimento) e armazenados em tubos eppendorf.

Os bivalves foram descongelados à temperatura ambiente e seguidamente pesados. De forma a detetar os microplásticos existentes nos bivalves, os tecidos moles de cada indivíduo foram digeridos através da aplicação da enzima neutrase. Cada indivíduo foi mantido numa solução de aproximadamente 20 ml de água destilada e 5 ml de neutrase, a uma temperatura constante de 40 °C durante 3-6 horas, até a matéria orgânica ser completamente digerida. A concha foi removida e pesada, sendo este peso subtraído ao peso total de forma a obter apenas o peso dos tecidos moles, que será doravante referido simplesmente como peso fresco. Os microplásticos presentes em cada indivíduo foram detetados tal como o descrito acima para as amostras de sedimento. Neste estudo apenas foram contabilizados os microplásticos do tipo fibras (doravante referidas como microfibras) (ANEXO I – Figura 2), sendo que estas, salvo muito raras exceções, representaram todos os microplástico detetados. Foi possível coletar indivíduos de *S. plana* em 58 dos 64 pontos, o que resultou num total de 162 indivíduos analisados.

Foram detetados três novelos de microfibras, dois em amostras de sedimento e um num exemplar de *S. plana*. Uma vez que nestes casos foi impossível quantificar com precisão o número de fibras, por algumas se terem fragmentado enquanto se separavam do novelo, estas amostras foram excluídas dos testes de estatísticos (ver abaixo).

Percentagem de sedimentos finos

A percentagem de sedimentos finos (partículas < 63 µm) foi determinada de acordo com o protocolo descrito por Quintino et al (1989). Num primeiro passo obteve-se o peso seco (ca. 72h numa estufa, a 40°C) de cada amostra de sedimento, sendo de seguida aplicada uma solução de pirofosfato de sódio na forma hidratada $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10(\text{H}_2\text{O})$ (30g/l), de forma a facilitar a separação das partículas finas de sedimento. De seguida as amostras foram crivadas numa rede com malha de 1 mm, de forma a eliminar partículas de grande dimensão, como rochas ou conchas, tendo estas sido pesadas após secagem para subtrair esse peso ao peso inicial da amostra. A amostra voltou a ser crivada com água através de um crivo com malha de 63 µm. As partículas retidas neste último crivo foram secas e a amostra foi depois pesada. De forma a calcular a percentagem de sedimentos finos, usou-se a fórmula $F = ((P_c - P_r) / P_c) \times 100$, onde F corresponde à percentagem de sedimentos finos, P_c corresponde ao peso corrigido da amostra após a remoção das partículas de grande tamanho, e P_r corresponde ao peso das partículas retidas pelo crivo de 63 µm. As classes de granulometria foram classificadas consoante a percentagem de sedimentos finos, em quatro classes (Folk 1954): arenoso (0-10%), vaso-arenoso (10-50%), areno-vasoso (50-90%), vasoso (90-100%).

Contaminação laboratorial

Uma vez que as microfibras são omnipresentes, estando presentes em roupas, na pele humana e até mesmo no ambiente de laboratório (poeiras) (e.g. Browne et al. 2011;

Woodall et al. 2014), foram tomados cuidados particulares no manuseamento das amostras, de modo a minimizar a sua contaminação. Todos os frascos e tubos usados para armazenamento das amostras foram novos e apenas abertos imediatamente antes da colheita. Os frascos com amostras estiveram sempre fechados antes do uso, bem como durante a secagem, o congelamento e a digestão com enzima. Todo o material usado em laboratório, como as caixas de petri, foram lavados entre utilizações e verificada a presença de fibras nos mesmos antes da amostra seguinte começar a ser analisada.

Dado que a análise de algumas amostras foi bastante demorada, as amostras ficaram nesta fase expostas ao ar durante longos períodos, correndo-se algum risco de contaminação. Para avaliar o nível de contaminação das amostras em laboratório foi feito um ensaio em que foram colocadas 20 caixas de petri junto aos postos de trabalho do laboratório, enquanto estavam pessoas a trabalhar. Estas caixas de petri estiveram expostas ao ar, e com uma pequena porção de água destilada para igualar as condições em que decorreu a análise das amostras, tendo sido quantificada a presença de microfibras após 20 minutos, 1 hora, 3 horas, 16 horas e 24 horas. Este ensaio evidenciou níveis baixos de contaminação laboratorial. Uma regressão linear revelou que o número de microfibras acumulado nas caixas de petri aumentou com o decorrer do tempo ($R^2=0.4$; $F_{(1,19)}=71.8$; $p<0.001$), contudo o declive da reta de regressão foi de 0.1 ± 0.1 microfibras.h⁻¹, o que sugere uma contaminação média de cerca de 1 microfibra em amostras de sedimento que demorem ca. 10 horas de análise. Tendo em conta que as amostras de sedimento demoraram entre 5 a 10 horas a analisar, e tinham em média 10.3 ± 14.0 microfibras, a contaminação laboratorial poderá representar um máximo de 10% das microfibras observadas. As amostras de bivalves tinham em média 5.3 ± 7.6 microfibras, mas o tempo de análise foi muito inferior (c. 2 horas) pelo que o nível de contaminação deverá ser também reduzido.

Análise de dados

Obtenção de variáveis ambientais e antropogénicas

As variáveis ambientais (Tabela 1.1) relativas aos pontos de amostragem foram obtidas através de um Sistema de Informação Geográfica (*QGIS v2.6.0 Brighton*) e no *Google Earth*. As variáveis obtidas para cada ponto foram: distância à linha de costa (km), distância à zona urbana mais próxima (km), distância ao ponto de descarga direta de esgotos mais próximo (km) e a distância ao limite inferior do intermareal (km). A localização dos pontos de descargas diretas, refere-se a dados de 2005 da Administração da Região Hidrográfica do Tejo (ARH Tejo 2015) (ANEXO I – Figura 1), uma vez que desde esta data estes efluentes foram progressivamente eliminados, passando a partir de 2011 a convergir todos numa única conduta subaquática que descarrega diretamente no oceano. Adicionalmente, foi também obtida a variável “população dos concelhos” em que se inserem as áreas de amostragem, sendo que os dados referentes a esta variável foram obtidos de censos elaborados pelo Instituto Nacional de Estatística (INE 2015).

Tabela 1.1 – Lista de variáveis ambientais e antropogénicas obtidas para cada ponto de amostragem de modo a explicar a distribuição a concentração dos microplásticos no estuário do Tejo.

Variáveis	Origem	Tipo de variável
Distância à linha de costa	<i>Google Earth</i>	Contínua
Distância à zona urbana mais próxima	<i>Google Earth</i>	Contínua
Distância ao ponto de descarga direta (esgotos) mais próximo	<i>QGIS</i> - ARH (dados de 2005)	Contínua
Distância ao limite inferior do intermareal	<i>QGIS</i>	Contínua
População dos concelhos	INE – censos 2011 (www.ine.pt)	Contínua
Percentagem de sedimentos finos	Laboratório	Contínua

Análise estatística

A percentagem de amostras com presença de microfibras, a concentração média (\pm desvio padrão) e a concentração mínima e máxima de microfibras foram calculados para todo o estuário e para cada área de amostragem, tanto para o sedimento como para os bivalves. Para o sedimento, os dados são apresentados em número de microfibras.ml⁻¹ enquanto para os bivalves os dados são apresentados por número de microfibras.g⁻¹ peso fresco. Esta diferença de tratamento deveu-se à grande variação existente no peso fresco do sedimento, que variava consoante a sua granulometria. A média (\pm desvio padrão) também foi calculada para o comprimento das microfibras presentes no sedimento e nos bivalves, para todo o estuário e para cada área de amostragem. Nos testes estatísticos em que se compararam áreas, a concentração de microfibras nos bivalves utilizada para cada ponto de amostragem refere-se à média dos indivíduos amostrados nesse ponto. Foram usados testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis para avaliar diferenças entre as 11 áreas de amostragem no que respeita à concentração e o comprimento das microfibras (para os bivalves e para o sedimento), e à percentagem de sedimentos finos. Sempre que foram detetadas diferenças significativas entre áreas, o teste *a posteriori* de Dunn de somatórios de *rank* e sem ajustamento dos *p-values*, foi usado para detetar quais os pares de áreas que diferiam significativamente. O teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi usado para detetar diferenças na concentração e comprimento das microfibras nos bivalves e sedimento de amostras colhidas dentro e fora da ZPE. O mesmo teste foi também usado para comparar a concentração de microfibras e o comprimento destas em amostras de sedimento e de bivalves. A relação entre a massa dos bivalves (peso fresco) e o número de microfibras presente nos respetivos indivíduos foi testada por uma correlação não paramétrica de Spearman. Este teste foi também usado para testar se a concentração de microfibras nas amostras de bivalves e nas amostras de sedimento do mesmo ponto de amostragem estão correlacionadas.

Foram usados modelos de regressão múltipla para testar quais das variáveis ambientais e antropogénicas obtidas poderiam estar a influenciar a concentração de microfibras ao longo do estuário do Tejo. Para explicar a concentração de microfibras no sedimento foi usado um modelo de regressão linear, enquanto para a concentração de microfibras nos bivalves foi usado um modelo linear misto, utilizando como fator aleatório o local. Esta opção deveu-se ao facto de se ter recolhido mais de um indivíduo de *S. plana* em cada ponto de amostragem, sendo de prever que as amostras de bivalves recolhidas em cada ponto estejam auto-correlacionadas (Zuur et al. 2009). Antes das análises, os dados relativos à densidade de fibras foram transformados por logaritmização ($\log(x+1)$), para atingir a normalidade dos dados. Por outro lado, antes de usar as variáveis nos modelos múltiplos envolvendo as variáveis ambientais, foi usada a correlações de Spearman para testar a ocorrência de correlação entre as algumas dessas variáveis. As variáveis com correlações mais elevadas foram excluídas dos modelos, o que apenas aconteceu no caso da distância à urbanização mais próxima, que estava correlacionada com a linha de costa ($\rho=0.7$, $p<0.001$) e com a distância ao limite mínimo inferior do intermareal ($\rho=0.4$, $p<0.001$). Em cada caso, o melhor modelo foi selecionado através da remoção das variáveis sempre que a sua remoção resultava num modelo melhor ajustado aos dados, pela comparação dos valores do *Akaike Information Criterion* (AIC) no caso dos modelos lineares mistos, e dos valores do R^2 no caso dos modelos de regressão linear.

Todos os testes estatísticos foram realizados com recurso ao *software* R v 3.1.2 (R Core Team, 2014) e Microsoft Office Excel 2013. Devido à elevada dispersão dos dados, nas caixas de bigodes apresentadas ao longo deste estudo, os bigodes que representam os valores mínimos e máximos excluem todos os pontos que sejam mais de 1.5x superiores ou inferiores ao intervalo interquartil.

Resultados

Deteção dos microplásticos nas amostras

Foram detetadas microfibras, em 95.3% (n=64) das amostras de sedimento tendo-se observado uma concentração média de 5.2 ± 7.0 microfibras.ml⁻¹ (Tabela 1.2). O diâmetro das microfibras foi bastante uniforme, tendo uma média de 0.02 mm (variando entre 0.01-0.03 mm).

Nas amostras de bivalves foram detetadas microfibras em todos os 58 locais com presença de *S. plana*, sendo detetados em 94.4% dos 162 indivíduos analisados, o que significa que apenas 9 indivíduos não continham microfibras. Observou-se uma concentração média de 2.3 ± 2.2 microfibras.g⁻¹ (p.f.) (Tabela 1.2). O diâmetro das microfibras encontradas nos bivalves foi semelhante ao descrito acima para as amostras de sedimento.

Tabela 1.2 – Dados descritivos da concentração e comprimento dos microplásticos nas amostras de sedimento e de bivalves.

Variáveis	N	min-máx	Média ± Desvio Padrão
Sedimento			
<i>Concentração de microfibras (N.ml⁻¹)</i>	64	0.0 – 41.5	5.2±7.0
<i>Comprimento das microfibras (mm)</i>	686	0.0 – 22.5	2.3±2.2
Bivalves			
<i>Concentração de microfibras (N.g⁻¹)</i>	162	0.0-18.2	1.7±2.6
<i>Comprimento das microfibras (mm)</i>	855	0.1-29.9	2.2±2.4

Não foram detetadas diferenças significativas na concentração de microfibras do sedimento entre amostras colhidas dentro das áreas protegidas (ZPE) e fora destas (NP) ($W=368.5$, $N_{ZPE}=13$, $N_{NP}=51$, $p=0.54$), o mesmo sucedendo para o comprimento das microfibras ($W=313$, $N_{ZPE}=13$, $N_{NP}=51$, $p=0.76$) (Figure 1.3). Contudo, quando foram comparadas as diferentes áreas de amostragem, encontraram-se diferenças significativas na concentração de microfibras (KW $H_{10}=24.8$, $p<0.01$) mas não para os comprimentos destas (KW $H_{10}=17.7$, $p=0.06$) (Figura 1.4). Nos testes *a posteriori* de Dunn, verificou-se que as diferenças nas concentrações entre as diferentes áreas se deveram maioritariamente a 3 das áreas, Alcochete Este, Alcochete Oeste e Samouco, que continham concentrações significativamente inferiores às restantes áreas (Figura 1.4, ANEXO I - Tabela 1).

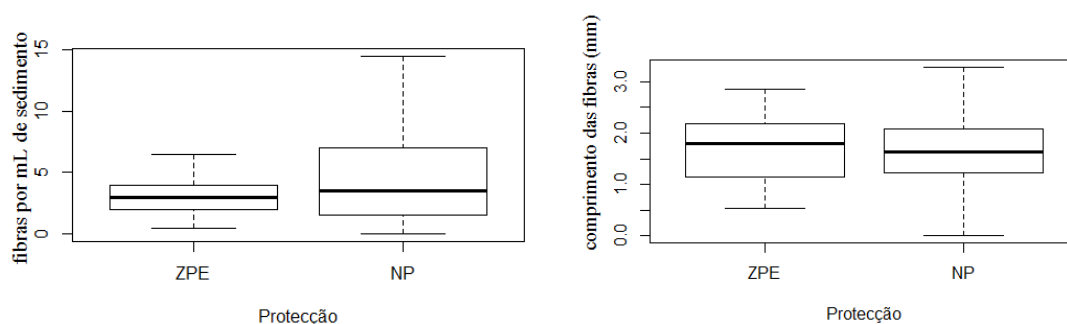


Figura 1.3 – Concentração (a) e comprimento (b) das microfibras presentes no sedimento, em áreas protegidas (ZPE) e fora destas (NP). As caixas apresentam o 1^a e 3^o quantil da distribuição (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa), enquanto os bigodes representam os valores mínimos e máximos.

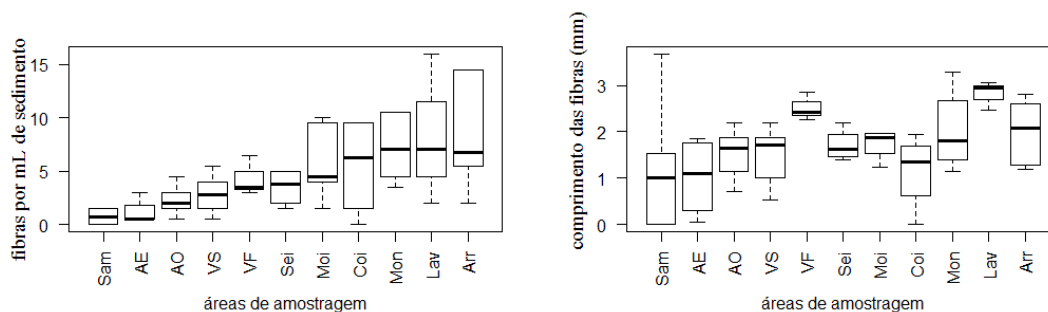


Figura 1.4 – Concentração (a) e Comprimento (b) das microfibras presentes no sedimento, nas 11 áreas de amostragem. As caixas de bigodes apresentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1^a e 3^o quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa). Sam (Samouco), AE (Alcochete Oeste), Coi (Coima), AO (Alcochete Oeste), VS (Vasa Sacos), Sei (Seixal), Moi (Moita), Arr (Arrebitela), Mon (Montijo), VF (Vale Frades), Lav (Lavradio).

Foram detetadas diferenças significativas no que respeita à concentração de microfibras nos bivalves entre as áreas protegidas e as áreas não protegidas ($W=348.5$, $N_{ZPE}=13$, $N_{NP}=51$, $p<0.05$), apresentando maiores concentrações fora das áreas protegidas. As microfibras detetadas nos indivíduos de *S. plana* eram significativamente maiores fora das áreas protegidas ($W=390$, $N_{ZPE}=13$, $N_{NP}=51$, $p<0.01$) (Figura 1.5). A concentração de microfibras nos bivalves variou entre as diferentes áreas de amostragem ($H_{10}=20.5$, $p<0.05$), o mesmo acontecendo para o comprimento das microfibras ($H_{10}=25.01$, $p<0.01$). As diferenças foram detetadas pelo teste *a posteriori* de Dunn, cujo resultado não evidenciou nenhum padrão entre áreas, ou seja, praticamente todas as áreas eram significativamente diferentes de alguma outra área em particular (Figura 1.6, ANEXO I – Tabela 2).

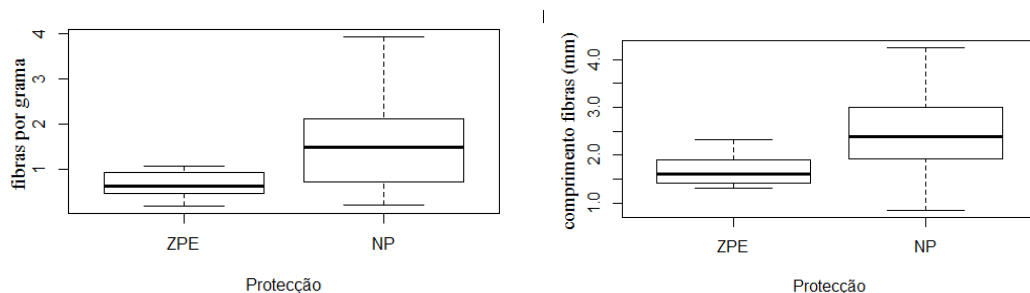


Figura 1.5 – Concentração (a) e comprimento (b) das microfibras presentes nos bivalves, em áreas protegidas (ZPE) e fora destas (NP).. As caixas de bigodes apresentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa).

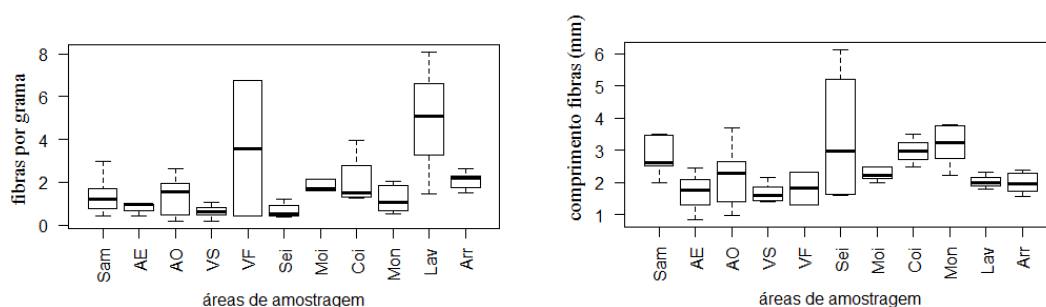


Figura 1.6 – Concentração (a) e Comprimento (b) das microfibras presentes nos bivalves, nas 11 áreas de amostragem. As caixas de bigodes apresentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa). Sam (Samouco), AE (Alcochete Oeste), Coi (Coína), AO (Alcochete Oeste), VS (Vasa Sacos), Sei (Seixal), Moi (Moita), Arr (Arrebtela), Mon (Montijo), VF (Vale Frades), Lav (Lavrado).

Foi detectada a existência de uma correlação entre a concentração de microfibras.g⁻¹ e o tamanho (comprimento) de cada indivíduo (rho=-0.40; N=161, p<0.001) (Figura 1.7).

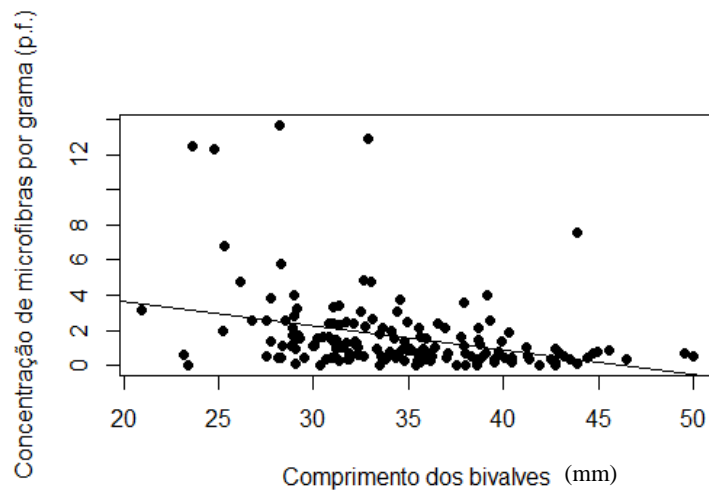


Figura 1.7 – Correlação entre a concentração de microfibras.g⁻¹ (p.f.) com o tamanho de cada indivíduo de bivalve expresso em comprimento (mm).

O teste de *Spearman* (rho=0.2, N=56, p=0.22) demonstrou a não existência de uma correlação significativa entre a concentração de microfibras no sedimento e nos bivalves (Figura 1.9).

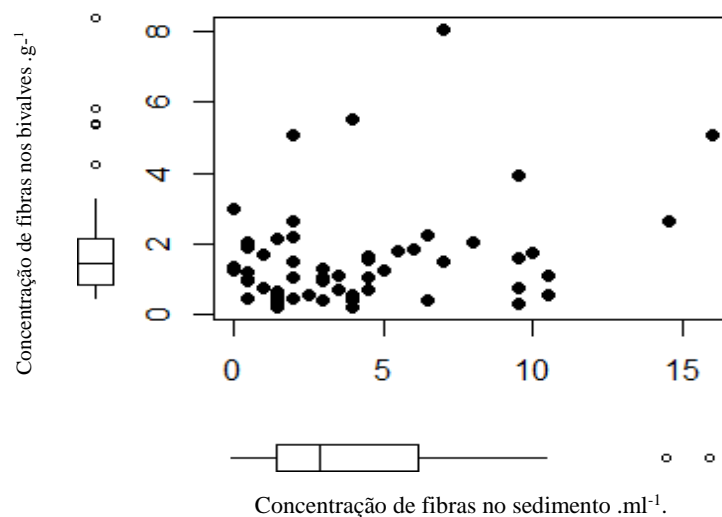
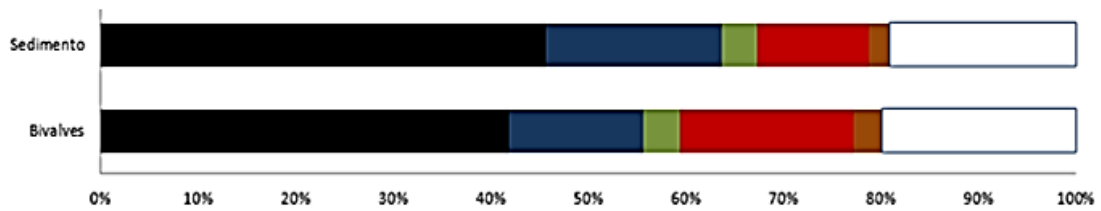


Figura 1.9 – Relação entre a concentração de microfibras presentes no sedimento (.ml⁻¹) e a concentração de microfibras presentes nos bivalves (.g⁻¹ de peso fresco).

Tanto nas microfibras detetadas no sedimento como nos bivalves, a cor mais comum foi o preto, seguido pelo branco com uma diferença de cerca de 20%. As cores menos comuns foram em ambos os casos o castanho e o verde, havendo percentagens intermédias de microfibras azuis e vermelhas (Figure 1.10).



Cores	% nos bivalves (N=855)	% no sedimento (N=686)
● Preto	41.9	45.7
● Azul	13.8	18.0
● Verde	3.7	3.6
● Vermelho	17.8	11.5
● Castanho	2.9	2.1
○ Branco	19.9	19.1

Figura 1.10 – Proporção das cores das microfibras presentes nas amostras de sedimento e nas amostras de bivalves. Dados apresentados em percentagem.

Efeito das variáveis ambientais no número de fibras em sedimentos e bivalves

Para o caso do sedimento, os resultados da regressão linear (Tabela 1.4) demonstraram que as variáveis que influenciam a distribuição da concentração de microfibras no estuário do Tejo é a percentagem de sedimentos finos ($p < 0.01$) e a população dos concelhos nos quais se inserem as áreas de amostragem ($p < 0.01$) (Figura 1.11; 1.12).

Tabela 1.4 – Variáveis significativas obtidas pelo modelo de regressão Linear para a concentração de microfibras no sedimento.

Resultados da Regressão Linear: $F_{(2,59)}= 15.1, p<0.001, R^2=0.31$

Variáveis	Coefficientes	<i>t</i>	<i>P</i>
Interseção	-0.6±0.2	0.2	=0.01
Log(Percentagem de sedimentos finos+1)	0.4±0.1	3.4	<0.01
Log(População dos concelhos)	0.3±0.1	3.3	<0.01

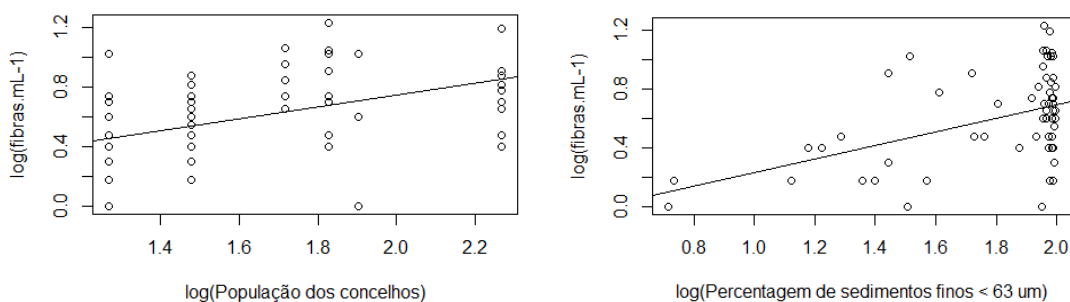


Figura 1.11 – Variáveis incluídas no modelo final: (a) População dos concelhos e (b) Percentagem de sedimentos finos em relação à concentração de microfibras no sedimento ($.ml^{-1}$).

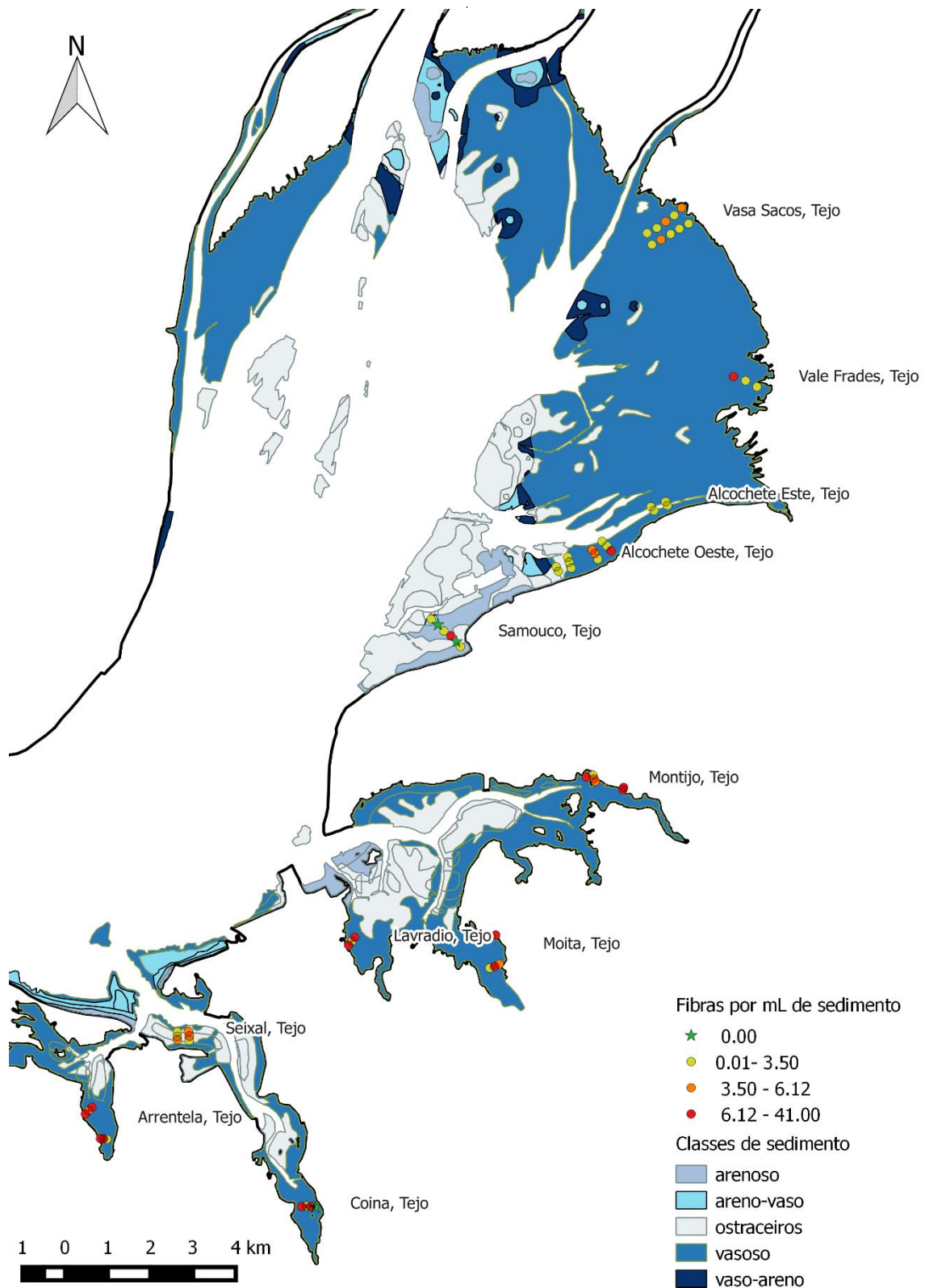


Figura 1.12 – Mapa do estuário do Tejo com as diferentes classes de granulometria tidas em conta associadas à concentração de microfibras no sedimento ($.ml^{-1}$ sedimento), sendo que este é proporcional ao tamanho do símbolo (●). As classes de sedimento foram estão de acordo com a classificação de Folk (1954).

No que respeita à concentração de microfibras nos bivalves, o melhor modelo incluiu as mesmas duas variáveis que influenciaram a distribuição das microfibras no sedimento, a percentagem de sedimentos finos e a população dos distritos. Contudo, o efeito da percentagem de sedimentos finos foi apenas marginalmente significativo ($p=0.05$; Tabela 1.5).

Tabela 1.5 – Variáveis significativas obtidas pelo modelo linear misto para a concentração de microfibras nos bivalves.

Resultados da Regressão linear <i>Mixed Effect</i>					
Variáveis	Coefficientes	SE	t	Df	p
Interseção	0.4	0.1	55.8	2.6	=0.01
Log (Percentagem de sedimentos finos)	-0.1	0.1	-2.0	56.1	=0.05
Log (População dos concelhos)	0.1	0.1	2.2	54.6	<0.05

O modelo indica que a concentração de microfibras nos bivalves aumenta com a população dos concelhos, o que sugere que maiores agregados populacionais causam maiores concentrações de fibras. Ao mesmo tempo, apesar de não ser significativa, existe uma ligeira tendência para maiores concentrações de fibras quando a percentagem de sedimentos finos é menor, indicando concentrações de fibras ligeiramente mais elevadas em zonas mais arenosas (Figura 1.13, 1.14).

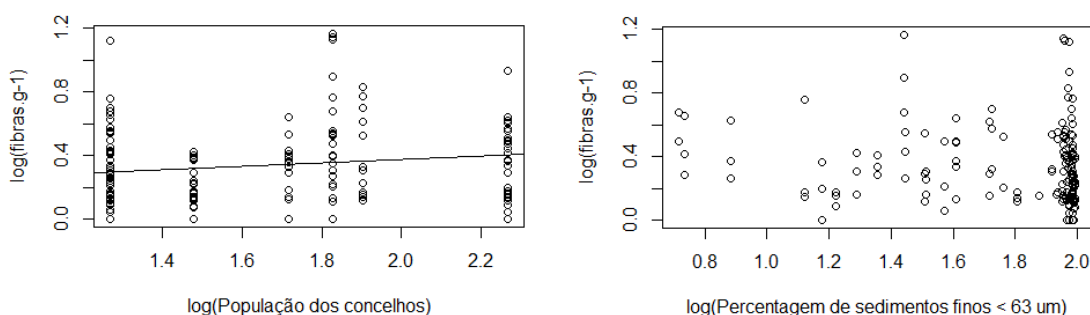


Figura 1.13 - Variáveis incluídas no modelo final: (a) População dos concelhos e (b) Percentagem de sedimentos finos em relação à concentração de microfibras presentes nos bivalves ($.g^{-1}$).

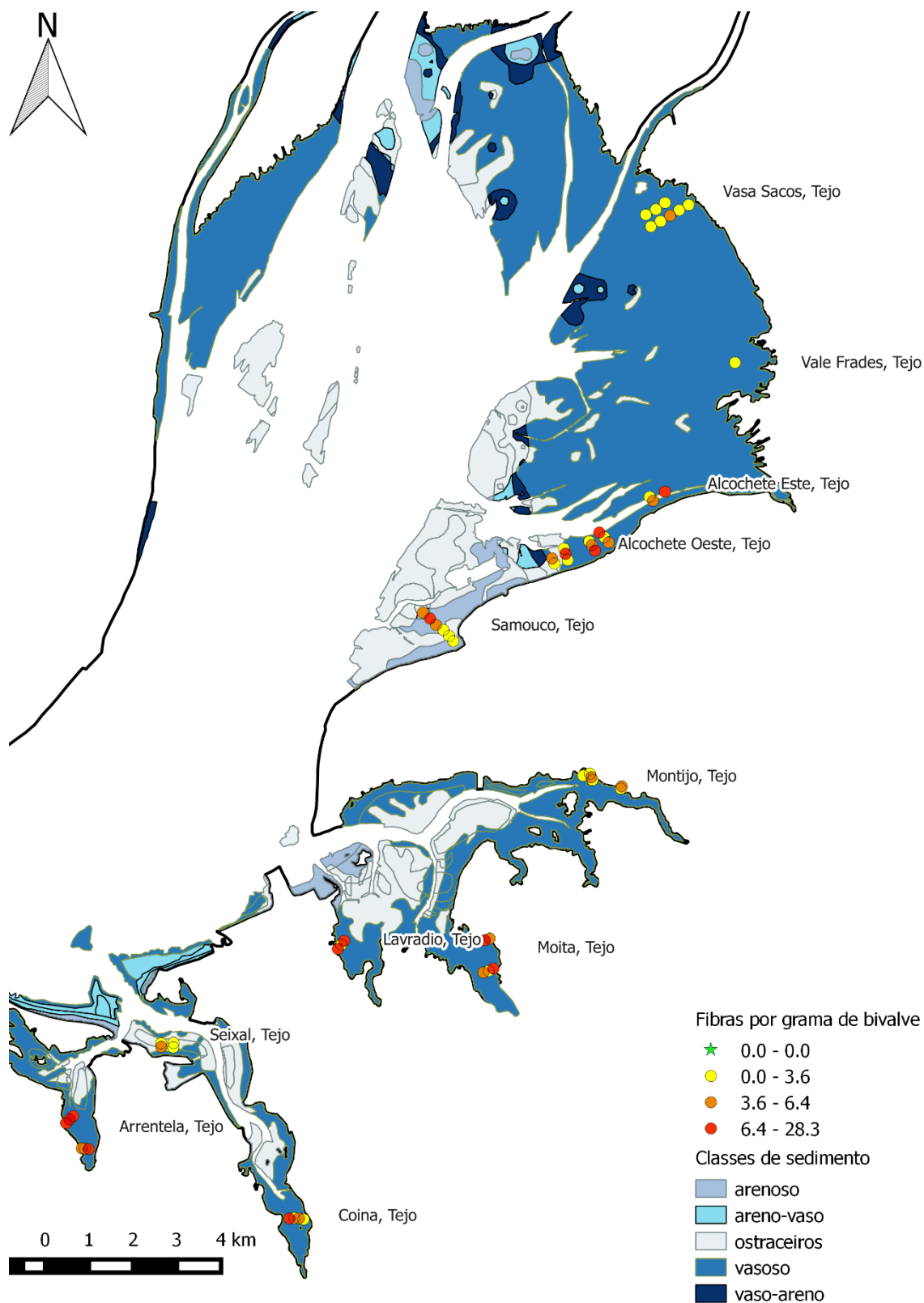


Figura 1.14 – Mapa do estuário do Tejo com as diferentes classes de granulometria tidas em conta associadas à concentração de microfibras nos bivalves ($.g^{-1}$ peso fresco), sendo que este é proporcional ao tamanho do símbolo (●). As classes de sedimento foram estão de acordo com a classificação de Folk (1954).

Discussão

Combinando a análise dos sedimentos e dos bivalves, todas as estações de amostragem do estuário do Tejo, tanto para as amostras de sedimento como para os indivíduos de *S. plana* obtiveram presença de microfibras, o que sugere que este estuário é alvo de um elevado nível de prevalência de poluição por este tipo de detritos. Ao longo do estudo foi possível constatar que os sedimentos (nos 2.5 cm superficiais) do estuário do Tejo apresentam em média 81 053 microfibras.m⁻², tendo as fibras coloridas sido as mais comuns em todos os casos em estudo. Estes resultados corroboram os dados de Moreira (Moreira 1995), que observou pela primeira vez a presença da forma de poluição no estuário do Tejo em dejetos de alfaiate *Recurvirostra avosetta* e posteriormente também em sedimentos intermareais na zona de Sarilhos, concelho da Moita. Da mesma forma, o presente estudo corrobora estudos prévios em que a presença de microplásticos foi demonstrada em diversos sistemas estuarinos do mundo (Browne et al. 2010; Costa et al. 2011; Yonkos et al. 2014; Zhao et al. 2015; Naidoo et al. 2015) confirmando que estes sistemas podem ser locais de acumulação de microplásticos ou de passagem para os oceanos, tendo já sido considerados “hotspots” de microplásticos (Wright et al. 2013b). Estes factos reforçam a ideia de que é necessária uma melhor monitorização desta problemática nestes habitats. É na zona mais a jusante do estuário que ocorre uma maior pressão humana, derivada de atividades como a pesca e pela existência de maiores aglomerados populacionais (Cabral et al. 2001; Costa 2013), zona essa que corresponde às áreas desprovidas de estatuto de proteção. Uma vez que as áreas protegidas do estuário, estão localizadas mais a montante e menos influenciadas por atividades antropogénicas (razão que as torna zonas de maior interesse para a conservação da biodiversidade), seria de esperar que tivessem menores concentrações de microplásticos. Contudo, e apesar destas áreas estarem mais afastadas de efluentes, a concentração de microfibras no

sedimento não diferiu entre áreas protegidas e não protegidas. Este facto pode estar associado à ampla distribuição destes detritos ao longo de todo o estuário possivelmente refletindo a redistribuição destes por ação das correntes e marés depois da sua descarga, bem como aos processos de sedimentação e de deposição destas partículas.

Demonstrou-se que uma das principais fontes de microfibras provém da lavagem de roupas sintéticas, que chega ao ambiente através de descargas diretas de esgotos urbanos, ao invés de serem derivadas de produtos de limpeza (esfoliantes) e/ou da fragmentação de macrolásticos (Browne et al. 2011). Uma elevada proporção das microfibras encontradas nesse estudo, eram compostas por polímeros usados no fabrico de roupas sintéticas (e.g. acrílico, poliéster, etc.). O mesmo autor estimou que cada peça de roupa numa simples lavagem liberta mais de 1900 microfibras que são diretamente expelidas por descargas diretas pelos esgotos para o habitat (Browne et al. 2011). Com isto podemos estimar que pelo constante acréscimo da população humana, haja um maior consumo de têxteis sintéticos, levando a um acréscimo na taxa de libertação de microfibras nestes ecossistemas.

Como os esgotos urbanos são a principal origem dos microplásticos seria expectável que se observassem maiores concentrações de microfibras próximo dos maiores aglomerados populacionais. Os resultados demonstraram diferenças significativas entre os 11 locais de amostragem no que respeita à concentração de microfibras no sedimento, tendendo a haver concentrações mais elevadas nos locais com maior população. Quando analisados os resultados do modelo de regressão linear confirmou-se que a concentração de microfibras no sedimento é influenciada pela população dos concelhos limítrofes e também pela percentagem de finos do sedimento. A concentração destes detritos aumenta nos concelhos com maior número de habitantes sugerindo que uma maior pressão urbana resulta em níveis mais elevados de microplásticos nos sedimentos intermareais. Assim os

nossos resultados apoiam a ideia, obtida a escalas mais vastas, de que mais de 90% da variação na abundância de fragmentos plásticos acumulado em sedimentos costeiros (praias) é explicada pela densidade populacional do país onde a amostragem era realizada (Barnes 2005).

Verificou-se que as zonas com sedimentos mais vasosos tendem a apresentar concentrações de microfibras mais altas do que as zonas com sedimentos mais arenosos. Esta tendência poderá resultar do maior hidrodinamismo das zonas de deposição de sedimentos arenosos, uma vez que o pequeno tamanho e baixa densidade do microplásticos favorecerá a sua deposição em locais de menor hidrodinamismo, que são as zonas onde se acumulam maior quantidade de sedimentos vasosos. A baixa densidade das microfibras sugere que estas tendem a sedimentar de uma forma semelhante às partículas de argila e de silte, também muito leves, que são os principais componentes dos bancos de vasa do estuário (Gregory 2009).

Não se observou uma correlação entre a concentração de microfibras nos bivalves e a concentração de microfibras no sedimento. Este resultado é inesperado, uma vez que seria de esperar que em locais onde o sedimento tivesse maior concentração de microfibras também os bivalves apresentassem um ponto de equilíbrio da concentração dos mesmos detritos proporcionalmente mais elevado do que em locais de menor concentração de microfibras no sedimento. A ausência desta correlação pode dever-se ao facto de o estuário conter nos seus sedimentos concentrações tão altas de microfibras que as ameijoas atingiram um ponto de saturação máximo, relacionado com as taxas de entrada e saída, onde é impossível aumentar mais a concentração de microfibras, independentemente da quantidade de microfibras existentes no meio.

Olhando mais em pormenor os resultados obtidos para os bivalves, observou-se uma correlação negativa significativa entre a concentração de microfibras nos bivalves

(microfibras.g⁻¹) e o seu tamanho (milímetros), isto é, os bivalves mais pequenos contêm uma maior concentração de microfibras. O facto de os bivalves mais pequenos apresentarem concentrações mais elevadas pode indicar que os indivíduos maiores, devem ingerir mais microfibras pois filtram uma maior quantidade de água e sedimento, e por isso retêm uma menor proporção dessas microfibras, por estas passarem por sífões e brânquias de maior dimensão. Já os indivíduos de menores dimensões, que devem ingerir menos microfibras por filtrarem uma menor quantidade de água e sedimento, podem reter uma maior proporção dessas microfibras por terem sífões e brânquias mais estreitos onde é mais provável as microfibras ficarem retidas. Como as microfibras são de reduzido tamanho é mais provável ficarem retidas em sífões e brânquias mais pequenos que nos de maior tamanho.

Por outro lado, é preciso também ter em conta que a inexistência de uma correlação entre tamanho dos bivalves e o número de microfibras nos mesmos indivíduos pode dever-se também ao facto de as dimensões dos indivíduos analisados apresentarem uma variação relativamente pequena, isto é, os bivalves analisados variaram entre 21 e 50 mm de comprimento, o que incluem uma gama de dimensões consideráveis, mas exclui as classes de tamanho mais pequenas uma vez que esta espécie de bivalve tem na fase pós-larvar dimensões a partir de 0.3 mm (Sola 1997). Para se poder compreender em maior detalhe a dinâmica das concentrações de microfibras em bivalves de diferentes dimensões seria necessário realizar no futuro um estudo numa área em que a espécie seja abundante, de forma a poder controlar outras variáveis que poderão estar a ter efeito na concentração de microfibras nestes espécimes. Foram ainda detetadas diferenças na concentração de microfibras entre bivalves recolhidos nos diversos locais de amostragem, tendo sido estas diferenças um pouco generalizadas sem nenhum padrão definido, sendo que as zonas onde se verificou maior concentração de microfibras nos bivalves não foram as mesmas

onde foram detetadas maiores concentrações no sedimento, tal como a ausência de uma correlação entre estas duas variáveis sugeria.

O modelo de regressão misto realizado para a concentração de microfibras nos bivalves indicou que neste caso apenas a variável referente à população existente nos concelhos circundantes influencia de forma significativa o padrão observado nos indivíduos de *S. plana* ao longo do estuário do Tejo, com concentrações mais elevadas em zonas com mais população. Ao contrário do que era de prever a concentração de microfibras nos bivalves não foi influenciada pela percentagem de sedimentos finos, como aconteceu no caso do sedimento, diferença essa que explicará também ausência de uma correlação significativa entre a concentração de microfibras nos bivalves e no sedimento.

Sendo os esgotos uma das principais fontes de microfibras pelas descargas de microfibras provindas da lavagem de roupas (Browne et al. 2011) poderia ser expectável que a distribuição destas substâncias estivesse correlacionada com a distância a descargas diretas. Contudo, esta não foi incluída nos modelos sobre a distribuição das concentrações de microfibras ao longo do estuário do Tejo. É preciso referir que os dados sobre locais de descarga direta de esgotos se referem a 2005 (ARH Tejo 2015) sendo que desde 2011 que estas descargas estão inativas o que pode ter influenciado este resultado. Ainda assim, os resultados corroboram que a concentração de microfibras ao longo do estuário é influenciado por outros fatores, sendo a distância aos esgotos uma variável que possivelmente é reduzida devido aos efeitos do hidrodinamismo do próprio estuário.

Capítulo 2

Ocorrência de microplásticos nas cadeias tróficas de três zonas intermareais ao longo da costa oriental do Oceano Atlântico

Introdução

Os padrões de distribuição e de acumulação de micro e macroplásticos nos ecossistemas são influenciados por vários fatores ambientais e antropogénicos. Entre os primeiros contam-se o vento, as correntes e giros oceânicos e o tipo de costa, e entre os segundos são de realçar as vias de entrada dos plásticos no ambiente, os grandes aglomerados populacionais, as atividades pesqueiras e as rotas de transporte marítimo (Barnes et al. 2009).

De facto, a abundância destas partículas está fortemente correlacionada com a presença de população humana, com maiores concentrações de plásticos em zonas de maior densidade populacional (Barnes et al. 2009). Foi também verificado que nas linhas de costa mais fechadas tendem a existir maiores densidades de detritos plásticos, como acontece nas Caraíbas (Barnes et al. 2009), embora outros estudos tenham também encontrado altas densidades de plásticos em baías mais abertas no Brasil (Santos et al. 2005) e no Havai (Dameron et al. 2007). As características físicas dos próprios detritos plásticos também influenciam a sua distribuição no ambiente. Os detritos mais densos tendem a descer para a base da coluna de água oceânica, acabando por sedimentar nas zonas de baixa circulação e de maior acumulação de sedimentos. Já os detritos menos densos são flutuantes e acumulam-se nas costas continentais e nas ilhas oceânicas. Os detritos plásticos podem assim acumular-se nos fundos marinhos ou acabar depositados nas zonas costeiras em baías ou estuários (Hess et al. 1999; Stefatos et al. 1999).

O mar mediterrânico e o oceano Atlântico contêm uma elevada densidade de detritos de plástico mesmo em locais afastados das costas continentais. Estas densidades elevadas podem estar associadas em larga escala temporal aos ventos e aos padrões residuais de circulação oceânica superficial (Law et al. 2010; Eriksen et al. 2013, 2014).

Os rios são potenciais fontes de transporte de microplásticos para os sistemas estuarinos (Moore et al. 2002; Bakir et al. 2014b) e para o meio marinho. Os grandes rios são responsáveis por uma grande quantidade de detritos que entram nos oceanos (Williams & Simmons 1996), sendo que a dimensão do caudal e da corrente dos rios podem determinar se esses detritos se vão acumular nos estuários e/ou nas zonas adjacentes à foz do rio ou se acabam no mar aberto (Acha et al. 2003). Por outro lado, os detritos podem também chegar aos sistemas estuarinos através do meio marinho, pelo efeito das correntes oceânicas. Devido à facilidade com que são transportados, os microplásticos estão possivelmente presentes em áreas muito vastas. A presença de microplásticos foi já confirmada em zonas intermareais de diversos estuários do mundo, (Browne et al. 2010; Costa et al. 2011; Sadri & Thompson 2014; Zhao et al. 2014, 2015; Yonkos et al. 2014; Gallagher et al. 2015; Naidoo et al. 2015). Contudo a maioria dos estudos estão focados em escalas mais pequenas, pelo que se torna necessário efetuar uma comparação dos níveis de contaminação por microplásticos em sistemas estuarinos a escalas supra-nacionais.

Além da presença destas partículas ter sido confirmada em diversos ecossistemas (e.g. em mar aberto, em sistemas estuarinos, lagoas e rios), foi também confirmada em organismos em diferentes níveis da cadeia trófica e com diferentes estratégias alimentares (Thompson 2004; Barnes et al. 2009; Ivar do Sul & Costa 2014). Os predadores podem ingerir os microplásticos quer diretamente, através da ingestão de água ou sedimento com microplásticos juntamente com as suas presas, quer indiretamente através da ingestão dos

microplásticos previamente ingeridos pelas suas presas e contidos no interior do tubo digestivo destas.

As aves limícolas são um dos principais predadores no topo das cadeias tróficas intermareais (Wootton 1997). Estas aves reproduzem-se essencialmente em zonas de latitudes elevadas, migrando para sul para passar o inverno em zonas estuarinas onde aproveitam as elevadas abundâncias de macroinvertebrados intertidais para a sua alimentação (van de Kam et al. 2004).

De forma geral, as aves limícolas podem apresentar dois tipos de estratégia alimentar nas zonas intertidais. As aves com estratégia alimentar visual recorrem sobretudo à visão para detetar presas em movimento na superfície do sedimento, capturando-as através de bicadas superficiais pelo que geralmente têm bicos relativamente curtos (Barbosa 1995; van de Kam et al. 2004). As espécies de limícolas que possuem um bico mais longo tendem a usar uma estratégia alimentar táctil, utilizando o longo bico para penetrar o sedimento em busca de presas enterradas, em alguns casos com a ajuda de mecanorreceptores localizados no bico (Barbosa 1995; Piersma et al. 1998; van de Kam et al. 2004). Assim, as espécies com estratégia alimentar táctil tendem a ingerir sedimento juntamente com o alimento, o que quase não acontece no caso das espécies com estratégia alimentar visual. Se as aves de estratégia alimentar visual apresentarem microfibras esta poderá ser uma evidência de que estas partículas se propagam ao longo da cadeia trófica, i.e. passaram dos macroinvertebrados presa para as aves predadoras.

O presente estudo pretende (1) caracterizar a ocorrência de microfibras em três zonas costeiras com características físicas e antropogénicas muito distintas: o estuário do Tejo (Portugal), o Banco d'Arguin (Mauritânia) e o arquipélago dos Bijagós (Guiné-Bissau). Para além disso, (2) procuramos detetar e quantificar a presença de microplásticos em diferentes componentes das cadeias tróficas estuarinas e (3) averiguar até que ponto os

microplásticos se propagam ao longo da cadeia trófica mediante a comparação de predadores com estratégias alimentares diferentes.

Métodos

Área de Estudo

O estuário do Tejo (38°46'36" N, 9°1'35"O) apresenta uma forte influência fluvial (sobretudo do rio Tejo) e elevada presença humana quer nas suas margens quer ao longo da bacia hidrográfica que o abastece (Cabral & Costa 1999). Foram focadas três zonas pertencentes a este sistema estuarino, Sacavém, Moita e Montijo (Figura 2.1).

O Banc d'Arguin (19°56'27"N, 16°35'25"O) é uma área costeira de águas pouco profundas e vastas zonas intermareais localizadas ao longo da costa norte da Mauritânia. Está incluído no Parque Nacional do Banc d'Arguin, que compreende uma área total de 10 000 km², sendo que cerca de 500 km² correspondem ao intermareal. Esta região recebeu o estatuto de parque nacional em 1976 devido à sua enorme importância para a biodiversidade, nomeadamente para as aves (Engelmoer et al. 1984; Zwarts et al. 1990; Wolff & Smit 1990), recebendo anualmente cerca de 2 milhões de aves migratórias, provenientes do Norte da Europa, Sibéria e Gronelândia que ali passam o inverno. O Banc d'Árgin não tem atualmente contribuições de nenhum rio (Honkoop et al. 2008) e localiza-se numa zona semi-desértica com muito pouca presença humana que está limitada a pequenas aldeias com um total de cerca de 1 500 habitantes (Honkoop et al. 2008). O intermareal é constituído maioritariamente por sedimentos vasosos, incluindo vastas áreas cobertas por erva-marinha *Zostera* sp. e *Cymodocea* sp. (Wolff et al. 1993). Este trabalho focou-se em duas áreas, Baie d'Aouatif e Eberlk Aiznay, ambas localizadas próximo da aldeia de Iwik (Figura 2.1).

O arquipélago dos Bijagós ($11^{\circ}15'00''N$, $16^{\circ}05'00''O$), pertencente à República da Guiné-Bissau, abrange uma área total de $2\,624\text{ km}^2$ e é formado por 88 ilhas e ilhéus localizados ao largo da costa africana. A área intermareal compreende aproximadamente 760 km^2 e incluiu zonas de sedimentos arenosos, zonas de sedimentos vasosos e vastas áreas de mangal. Estas ilhas foram classificadas pela UNESCO em 1996 como reserva da biosfera e incluem dois Parques Nacionais, o Parque Nacional Marinho de João Vieira Poilão (PNMJVP) e o Parque Nacional de Orango (PNO). Os Bijagós abrangem uma população esparsa de cerca de 30.000 habitantes (INEGB 2015) e localizam-se próximo da foz dos rios Geba e Grande que passam em zonas urbanas de dimensão considerável, incluindo Bissau. Foram amostradas 3 zonas, Praia de Bruce, Praia das Escadinhas e Porto de Bubaque, todas localizadas na Ilha de Bubaque (Figura 2.1).

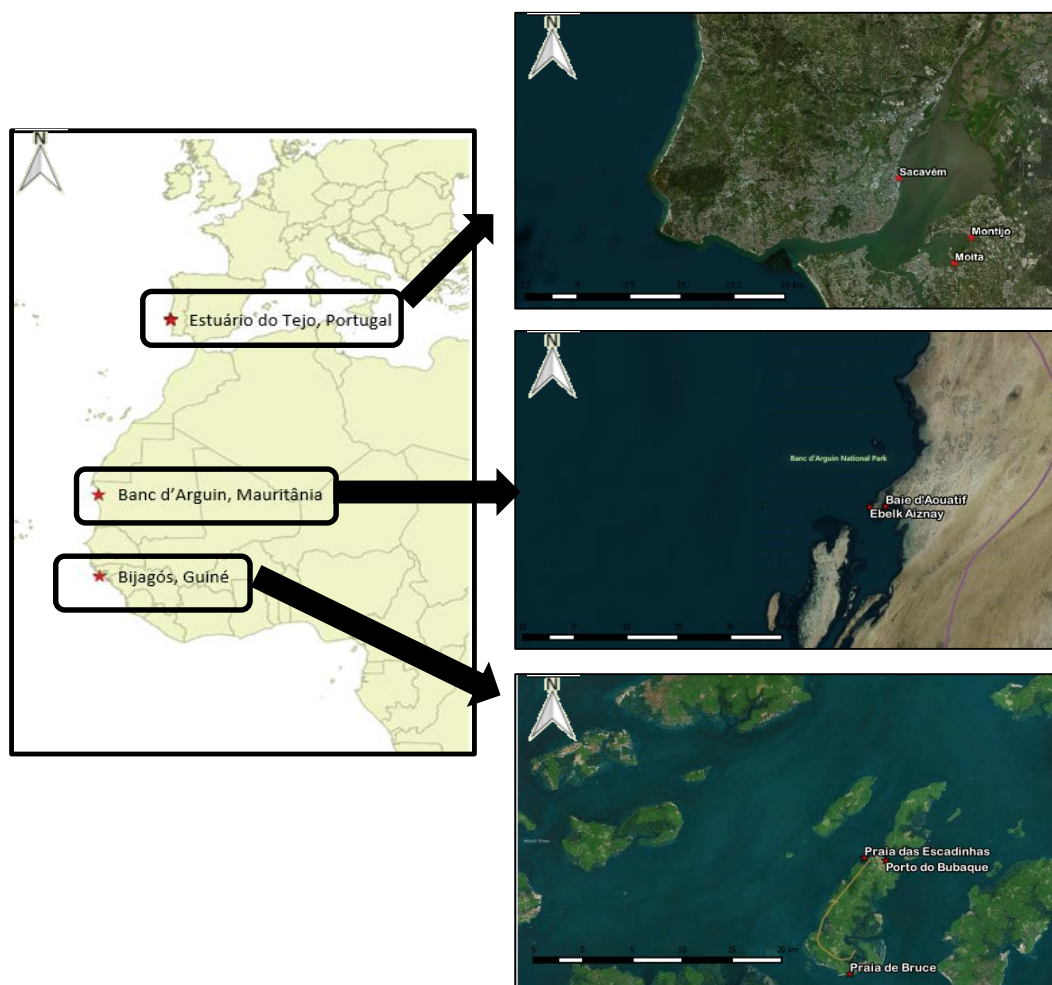


Figura. 2.1 – Localização das áreas de estudo. A vermelho situam-se os locais amostrados dentro de cada área de estudo (estuário do Tejo, Banc d'Arguin e Bijagós).

Recolha de amostras

As amostras de sedimento foram recolhidas durante o período de junho 2013 a dezembro 2014. No total foram recolhidas 38 amostras de sedimento em zonas intermareais vasosas, 18 no estuário do Tejo, 12 no Banc d'Arguin e 6 no arquipélago dos Bijagós. As amostras de sedimento foram recolhidas em pontos aleatórios de cada uma das áreas de estudo. O sedimento foi amostrado com recurso a uma espátula, tendo sido recolhida uma área de 3x3 cm até 1 cm de profundidade. Cada amostra tinha assim 9 ml de sedimento.

Para a análise da presença e propagação de microfibras ao longo da cadeia trófica foram recolhidos e analisados indivíduos de diferentes níveis da cadeia.

Foram assim recolhidos indivíduos de várias das espécies de macroinvertebrados estuarinos mais abundantes no estuário do Tejo e no Banc d'Arguin, durante janeiro de 2014. Esta recolha foi executada com recurso a um tubo de amostragem (*core sample* 10 cm de diâmetro, 20 cm de profundidade). Cada indivíduo recolhido foi colocado num frasco individual e armazenados em etanol a 70% imediatamente após a coleta. Os invertebrados recolhidos pertencem a duas classes: poliquetas e bivalves (Tabela 2.1).

Foram recolhidos os tubos digestivos de aves limícolas mortas acidentalmente durante sessões de anilhagem no estuário do Tejo, incluindo 4 indivíduos de tarambolas-cinzentas *Pluvialis squatarola* (Linnaeus, 1758) e 8 indivíduos de pilritos-comuns *Calidris alpina* (Linnaeus, 1758) recolhidos entre setembro de 2013 e fevereiro 2014, bem como 5 indivíduos de maçaricos-de-bico-direito *Limosa limosa* (Linnaeus, 1758) recolhidos em fevereiro de 2008.

Tabela 2.1- Espécies de macroinvertebrados amostradas para determinação da presença de fibras de acordo com a sua classificação e o local de amostragem correspondente.

Macroinvertebrados	Locais Amostrados	Classe
<i>Cerastoderma edule</i>	Estuário do Tejo	Bivalve
<i>Diopatra neapolitana</i>	Banc d'Arguin	Poliqueta
<i>Dosinia isocardia</i>	Banc d'Arguin	Bivalve
<i>Glycera alba</i>	Banc d'Arguin	Poliqueta
<i>Hediste diversicolor</i>	Estuário do Tejo	Poliqueta
<i>Nereis caudata</i>	Banc d'Arguin	Poliqueta
<i>Scolelepis squamata</i>	Banc d'Arguin	Poliqueta
<i>Scrobicularia plana</i>	Estuário do Tejo	Bivalve
<i>Senilia senilis</i>	Banc d'Arguin	Bivalve

Foram também recolhidos dejetos de 12 espécies diferentes de aves limícolas, 226 no estuário do Tejo, 230 no Banc d'Arguin e 144 no arquipélago dos Bijagós. Os dejetos foram recolhidos nas zonas intermareais durante a maré vazante. De forma a assegurar a correta identificação da espécie que produziu cada dejetos, nuns casos foram seguidos bandos monoespecíficos em alimentação e noutros casos os dejetos foram identificados com base na forma e tamanho dos dejetos e das pegadas a ele associadas. As diferentes espécies amostradas foram classificadas de acordo com a sua estratégia alimentar com espécies visuais (V), táteis (T) ou mistas (M) (Barbosa 1995; Lourenço et al. 2008, 2015b) (Tabela 2.2).

Tabela 2.2 - Espécies de aves amostradas para análise de fibras nos dejetos e nos seus órgãos de acordo com a sua estratégia alimentar e local de amostragem correspondente.

Espécies de Aves	Amostras	Locais Amostrados	Estratégia Alimentar
<i>Arenaria interpres</i>	Dejetos de aves	Estuário do Tejo	Visual
<i>Calidris alba</i>		Banc d'Argin	
	Dejetos de aves	Estuário do Tejo Bijagós	Mista
<i>Calidris alpina</i>		Banc d'Argin	
	Dejetos de aves	Estuário do Tejo	Tátil
<i>Calidris canutus</i>		Banc d'Argin	
	Órgãos de aves	Estuário do Tejo	
<i>Calidris ferruginea</i>	Dejetos de aves	Bijagós	Mista
<i>Charadrius hiaticula</i>		Banc d'Argin	
	Dejetos de aves	Estuário do Tejo Bijagós	Visual
<i>Limosa lapponica</i>		Banc d'Argin	
	Dejetos de aves	Bijagós	Mista
<i>Limosa limosa</i>	Dejetos de aves	Estuário do Tejo	Mista
	Órgãos de aves	Estuário do Tejo	
<i>Numenius phaeopus</i>	Dejetos de aves	Bijagós	Visual
<i>Pluvialis squatarola</i>		Estuário do Tejo	
	Dejetos de aves	Bijagós	Visual
<i>Recurvirostra avosetta</i>		Estuário do Tejo	
	Órgãos de aves	Estuário do Tejo	
<i>Tringa totanus</i>	Dejetos de aves	Estuário do Tejo Bijagós	Mista

Análise laboratorial

Quantificação dos microplásticos nas amostras

Todas as amostras de sedimento foram secas a uma temperatura constante de 40°C durante 72 horas. Após secagem, as amostras foram pesadas e apenas foi analisada uma subamostra correspondente a 25% do peso seco de cada amostra de forma a reduzir o tempo despendido com cada amostra. Para facilitar a observação dos microplásticos, as amostras foram maceradas antes de analisadas de forma a separar as partículas de sedimento. Os invertebrados e aves recolhidos foram congelados o mais brevemente possível após a recolha. No caso das aves, posteriormente foi extraído o tubo digestivo para análise. Os invertebrados foram descongelados à temperatura ambiente, foi medido o seu comprimento total e de seguida foram digeridos com a enzima neutrase tal como foi descrito no primeiro capítulo para as amostras de *S. plana*. Os tubos digestivos das aves foram abertos sob lupa binocular com um bisturi e foram procurados microplásticos ao longo de toda a extensão do tubo digestivo que foi também medido de forma a estimar a sua área interna. Todas as amostras de sedimento, macroinvertebrados, tubos digestivos e dejetos foram analisadas sob uma lupa binocular de ampliação 10-40x. As fibras foram contabilizadas, descritas (cor, diâmetro e comprimento) e armazenadas em tubos.

Identificação dos polímeros constituintes dos microplásticos

As microfibras encontradas nas amostras de sedimento, de macroinvertebrados, dos tubos digestivos e dos dejetos de aves foram analisadas através da técnica de Espectroscopia de Infravermelhos por Transformada de Fourier (μ -FTIR) no Departamento de Conservação e Restauro da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL). Esta técnica foi utilizada de forma a confirmar a natureza sintética das microfibras encontradas nas amostras e para identificar os respetivos polímeros

constituintes (Frias et al. 2014). Para este efeito cada microfibra foi cortada sob o microscópio Leica® KL 1500 LCD (objetiva de ampliação 12x) de forma a obter amostras que pudessem ser comprimidas numa célula de compressão de diamante (DAC). Os espectros de infravermelhos foram obtidos com recurso ao uso de um espectrómetro Nicolet Nexus associado a um microscópio ótico contínuo (objetiva de ampliação 32x) com um detetor MCT (Mercúrio Cádmio Telureto - HgCdTe). Os espectros foram obtidos pela realização de 128 scans, com uma resolução de $4.\text{cm}^{-1}$. Estes foram analisados sem qualquer correção, exceto a remoção da banda de absorção do CO_2 (dióxido de carbono) presente nos $2300\text{-}2400.\text{cm}^{-1}$ (Frias et al. 2014). Para cada microfibra, dependendo da sua heterogeneidade (estado de degradação e qualidade do espectro) foram realizadas 2 a 3 análises para o mesmo corte. A identificação dos polímeros foi executada através de uma busca extensiva numa base de dados de espectros de polímeros pré-existente.

Contaminação laboratorial

De forma a minimizar o risco de contaminação laboratorial, foram seguidos os mesmos cuidados explicados no primeiro capítulo.

Análise de dados

A percentagem de amostras com presença de microfibras, a média \pm desvio padrão da concentração de microfibras e a concentração mínima e máxima foram calculados para cada local de amostragem e para cada tipo de amostra (órgãos e dejetos de aves, invertebrados e sedimento).

Para o sedimento e dejetos de aves os dados são apresentados em número de microfibras. ml^{-1} , enquanto para os invertebrados os dados são apresentados em número de microfibras por indivíduo. Para os órgãos de aves os dados são apresentados em número de microfibras. cm^{-2} (referindo-se à área interna de cada órgão). Foram usados

testes não-paramétricos de Kruskal-Wallis para avaliar diferenças entre as 3 áreas de amostragem no que respeita à concentração de fibras no sedimento e testes *a posteriori* de Dunn de somatórios de *rank* (sem ajustamento dos *p-values*) para comparações par-a-par. Para avaliar se o número de microfibras presentes em cada indivíduo de invertebrado estava relacionado com o seu tamanho (comprimento) realizou-se uma correlação não-paramétrica de Spearman, para os poliquetas e para os bivalves. O teste Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar a concentração de microfibras nos dejetos de cada espécie de limícola nos três locais de amostragem. Quando as espécies ocorriam apenas em dois locais, utilizou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Os mesmos testes foram aplicados para detetar diferenças entre as diferentes estratégias alimentares para cada local amostrado. O teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi também aplicado para detetar diferenças na concentração de microfibras nos invertebrados (poliquetas e bivalves), entre os locais de amostragem e por fim para detetar diferenças na concentração de fibras nos órgãos das aves (moela e intestino). Foram ainda contabilizadas as cores em cada amostra para se obterem proporções destas para cada tipo de amostra (órgãos e dejetos de aves, invertebrados e sedimento) e para cada local.

Todos os testes estatísticos foram realizados com o software R v 3.1.2 (R Core Team, 2014) e MS Excel 2013. Devido à elevada dispersão dos dados, nas caixas de bigodes apresentadas ao longo deste estudo, os bigodes que representam os valores mínimos e máximos excluem todos os pontos que sejam mais de 1.5x superiores ou inferiores ao intervalo interquartil, que foram considerados outliers.

Resultados

Sedimento

A presença de microfibras foi detetada em 97.2% das amostras, ou seja, esteve presente em 35 das 36 amostras, sendo a amostra sem ocorrência de microfibras pertencente ao Banc d'Arguin (BA). As amostras dos Bijagós (B) apresentaram a concentração média de microfibras mais elevada (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 - Concentração (microfibras.mL⁻¹) de microfibras nas amostras de sedimento

Área de Estudo	N	Min-Máx	Média±Desvio Padrão
Banc d'Arguin	12	0-18.5	4.4±1.6
Bijagós	6	7.5-17.9	10.8±4.3
Estuário do Tejo	18	5.2-10.8	7.5±0.4

Verificou-se existirem diferenças significativas entre os três locais de amostragem (KW H₂=16.1, p<0.001), sendo a concentração de microfibras dos sedimentos do Banc d'Arguin significativamente inferior à observada nas outras duas áreas de estudo (Figura 2.2, ANEXO II - Tabela 1).

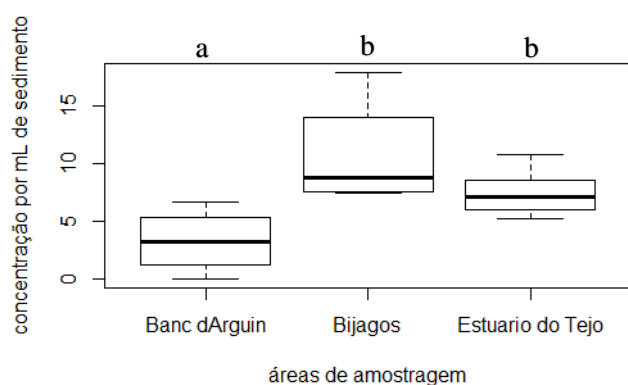


Figura 2.2 – Concentração das microfibras presentes nas 3 áreas de estudo (Banc d'Arguin, Bijagós e estuário do Tejo). As caixas apresentam o 1^a e 3^o quantil da distribuição (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa), enquanto os bigodes representam os valores mínimos e máximos. Os locais com letras diferentes (topo dos gráficos) apresentam diferenças estatisticamente significativas.

As microfibras encontradas no sedimento eram maioritariamente pretas (39.8-53.1%) em todos os locais de amostragem, seguindo-se as microfibras brancas (18.8-30.8%). O verde (2.3-5.8%) e o castanho (1.5-3.1%) foram as cores que menos foram detetadas, enquanto o vermelho (7.8-10.9%) e o azul (11.7-17.4%) ocorreram em percentagens intermédias (Figura 2.3).

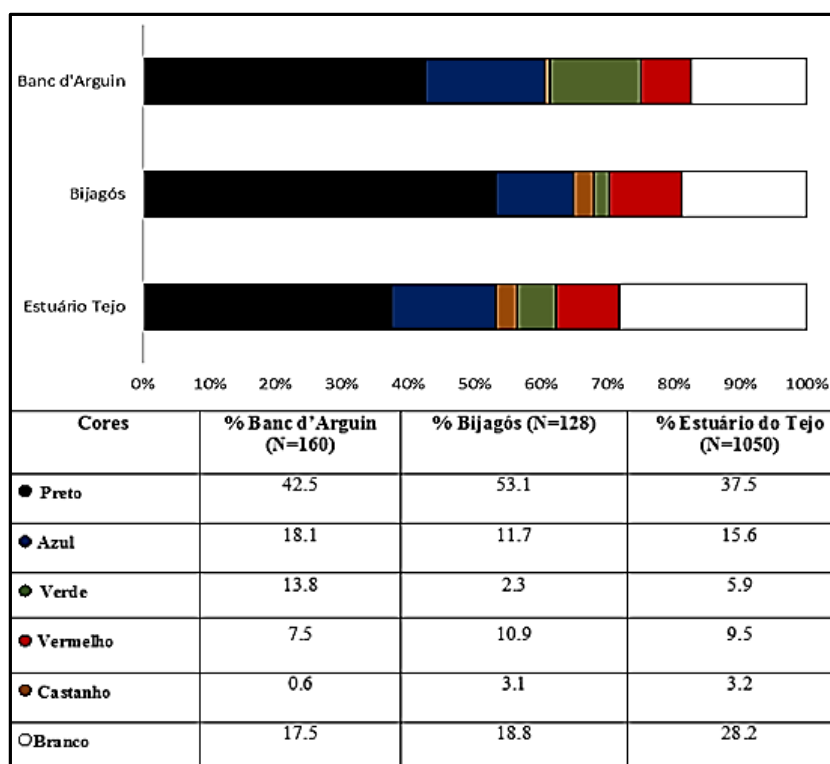


Figura 2.3 - Proporção das cores das microfibras presentes nas amostras de sedimento nos 3 locais de amostragem. Dados apresentados em percentagem.

Invertebrados

A maioria dos invertebrados do Tejo (96.7% dos indivíduos amostrados) continham microfibras, enquanto no Banc d'Arguin essa percentagem era de apenas 43.9%. Os invertebrados do Banc d'Arguin (BA) apresentaram uma média de microfibras por indivíduo bastante inferior aos do estuário do Tejo (ET), tanto nos bivalves ($W=764.5$, $N_{BA}=40$, $N_{ET}=20$, $p < 0.001$) como nos poliquetas ($W=149$, $N_{BA}=26$, $N_{ET}=10$, $p < 0.001$) (Tabela 2.5). As percentagens de ocorrência de microfibras em cada uma das espécies de

macroinvertebrados para cada local de amostragem está discriminada no ANEXO II – Tabela 8.

Tabela 2.5 – Número de microfibras/indivíduo nas amostras de invertebrados.

Áreas de Estudo	Classe	N	Média ± Desvio Padrão	Min-Máx
Estuário do Tejo	Anelídeos	10	2.7±1.6	0 – 6
	Bivalves	20	3.8±3.3	0 – 14
Banc d'Arguin	Anelídeos	26	0.7±1.0	0 – 3
	Bivalves	40	1.3±2.3	0 – 11

Não se observou uma correlação significativa entre o número de microfibras e o comprimento dos poliquetas ($\rho=-0.3$, $N=36$, $p=0.09$) (Figura 2.4 (a)) mas existe uma correlação com o tamanho dos bivalves ($\rho=0.3$, $N=60$, $p<0.05$), onde o número de microfibras aumenta com o tamanho dos indivíduos (Figura 2.4 (b)).

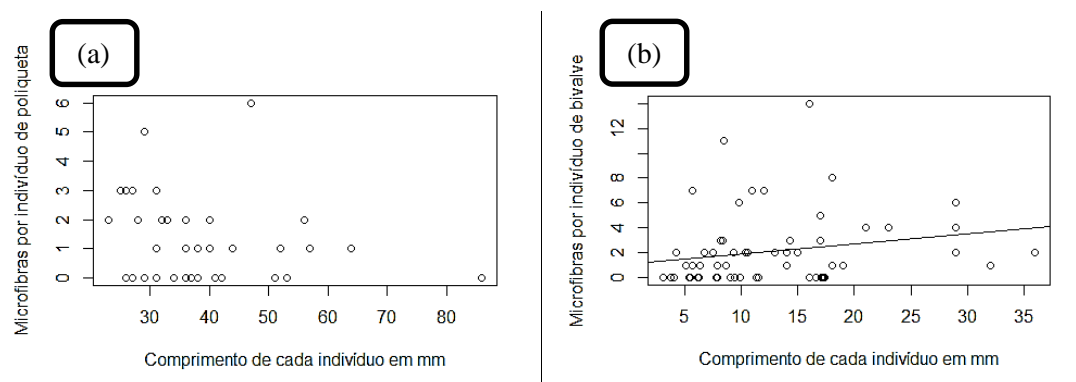
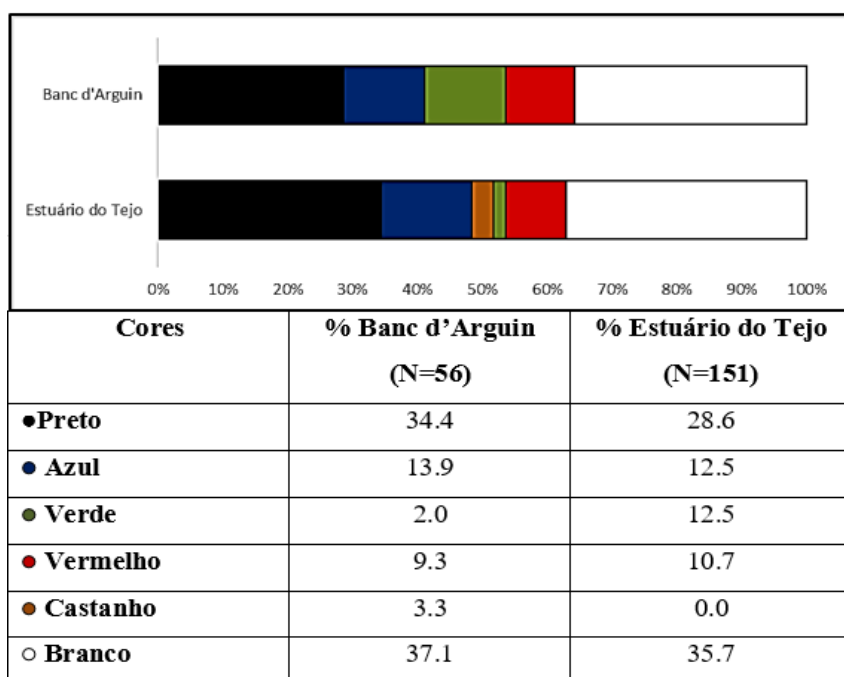


Figura 2.4 – Relação entre a dimensão dos animais (mm) e (a) o número de microfibras presentes nos bivalves e (b) o número de microfibras presente nos poliquetas.

As microfibras mais abundantes nos invertebrados tanto do estuário do Tejo como do Banc d'Arguin, foram as de cor preta ou branca, sendo mais uma vez as microfibras verdes ou castanhas as menos abundantes (Figura 2.5).



Legenda 2.5 – Proporção das cores das microfibras presentes nas amostras de invertebrados (poliquetas e bivalves) nos 2 locais de amostragem. Dados apresentados em percentagem.

Estômagos das aves

As microfibras foram detetadas em todos os indivíduos analisados, sendo que nas moelas foram encontradas em 100% das amostras, enquanto nos intestinos foram encontradas em 83.3% das amostras analisadas, ou seja, em 5 das 6 amostras (Tabela 2.8).

Tabela 2.8 - Ocorrência de microfibras .cm⁻² nas amostras de órgãos das aves no estuário do Tejo.

Órgãos	N	Média±Desvio Padrão	Min-Máx
Moela	11	10.30±9.14	0.09-30
Intestino	6	0.27±0.24	0-0.68

Foram detetadas diferenças significativas na densidade de microfibras, entre os dois órgãos ($W=108.0$, $N_{moela}=11$, $N_{intestino}=6$, $p<0.05$), sendo as microfibras mais abundantes na moela do que no intestino.

As cores predominantes nos tubos digestivos são o branco (50.5%) seguido do preto (28.1%). O castanho e o azul aparecem com as mesmas percentagens de 6.7%, o verde com 4.3% e por último o vermelho com 3.7% (Figura 2.6).

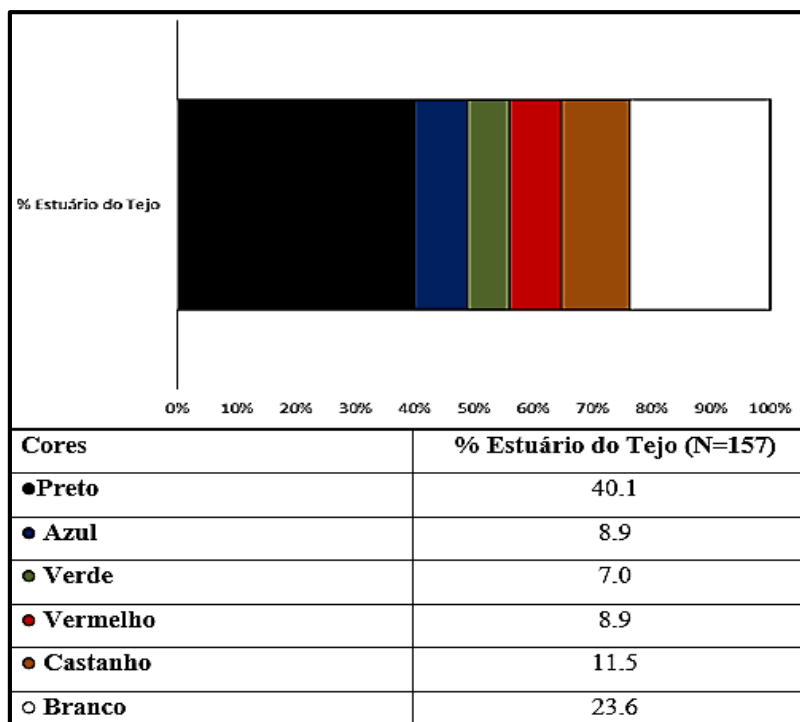


Figura 2.6 - Proporção das cores das microfibras presentes nas amostras de órgãos das aves amostradas no estuário do Tejo. Dados apresentados em percentagem.

Dejetos de aves

Os dejetos recolhidos no estuário do Tejo apresentaram uma maior concentração média de microfibras e ocorreram microfibras em 74.6% das amostras. A menor concentração de microfibras ocorreu nas amostras recolhidas nos Bijagós, onde apenas ocorreram microfibras em apenas 39.0% das amostras. No Banc d'Arguin observaram-se valores intermédios, tendo ocorrido microfibras em 58.7% das 230 amostras (Tabela 2.6). As percentagens de ocorrência de microfibras em cada uma das espécies de aves e para cada local de amostragem está descriminada no ANEXO II – Tabela 8.

Tabela 2.6 - Ocorrência de microfibras .ml⁻¹ nas amostras de dejetos das aves nos 3 locais de amostragem.

Variáveis	N	Min-Máx	Média ± Desvio Padrão
Estuário do Tejo	226	0-82.1	6.6±10.4
Banc d'Arguin	230	0-60	5.9±8.1
Bijagós	141	0-13.3	1.6±2.7

Foram detetadas diferenças significativas na concentração de microfibras entre as 8 diferentes espécies amostradas no estuário do Tejo (KW $H_7=24.6$, $p<0.001$). *Calidris alpina* (T) e *Calidris alba* (M) foram as espécies que mais se destacaram pela maior concentração de microfibras nos seus dejetos (Figura 2.7, ANEXO II - Tabela 2). Contudo, não se observaram diferenças significativas entre grupos de espécies com diferentes estratégias alimentares (KW $H_2=3.3$, $N_M=119$, $N_T=45$, $N_V=62$, $p=0.19$) (Figura 2.8).

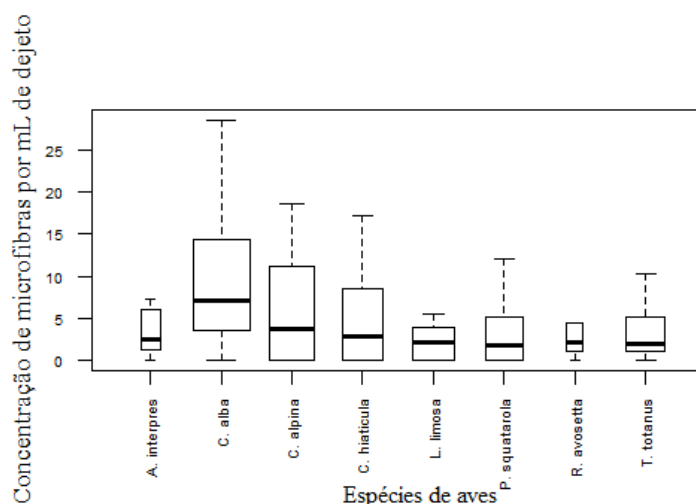


Figura 2.7 - Concentração de microfibras por ml^{-1} de dejetos nas 8 espécies de aves amostradas no estuário do Tejo. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa).

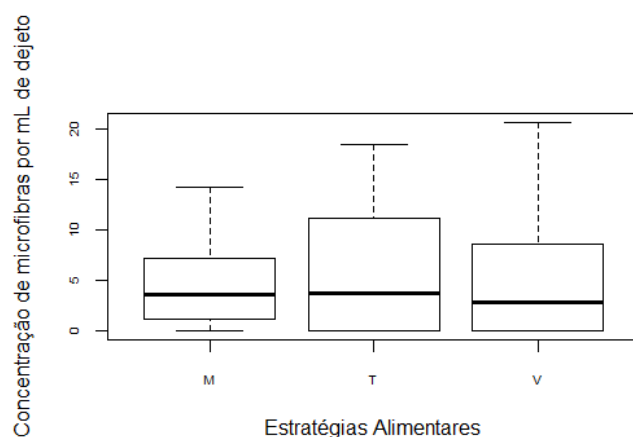


Figura 2.8 - Concentração de microfibras por ml^{-1} de dejetos consoante as diferentes estratégias alimentares no estuário do Tejo. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa). M (Estratégia Mista), T (Estratégia Tátil), V (Estratégia Visual).

A concentração de microfibras também variou significativamente entre as 7 espécies amostradas nos Bijagós (KW $H_6=17.6$, $p<0.01$) (Figura 2.9, ANEXO II – Tabela 3). *C. ferruginea* (M) destacou-se como a espécie com maior concentração de microfibras nos dejetos. Neste caso observaram-se diferenças significativas entre espécies com diferentes estratégias alimentares ($W=4510$, $N_M=81$, $N_V=60$, $p<0.01$), com as espécies de estratégia mista a exibirem concentração de microfibras mais elevadas que as espécies de estratégia visual (Figura 2.10), não tendo sido amostradas quaisquer espécies de estratégia exclusivamente táctil.

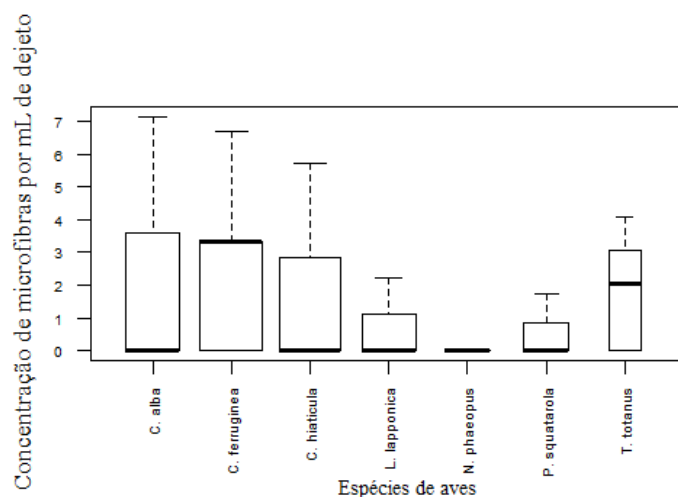


Figura 2.9 - Concentração de microfibras por ml^{-1} de dejetos nas 7 espécies de aves amostradas nos Bijagós. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa).

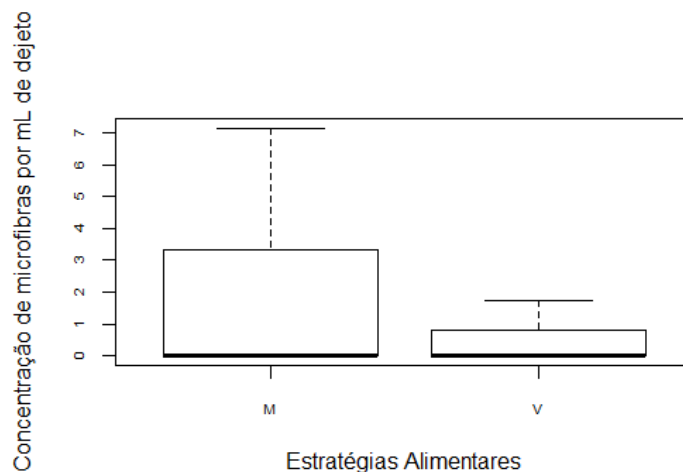


Figura 2.10 - Concentração de microfibras por mL^{-1} de dejecto consoante as diferentes estratégias alimentares nos Bijagós. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1º e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa). M (Estratégia Mista), T (Estratégia Tátil), V (Estratégia Visual).

Por último, no Banc d'Arguin detetaram-se diferenças significativas entre as diversas espécies amostradas (KW $H_4=9.9$, $p<0.05$) (Figura 2.11). *C. alpina* (T) foi a espécie que apresentou a maior concentração de microfibras nos seus dejetos, contrastando com *Charadrius hiaticula* (V) que foi a espécie com menor concentração de microfibras (Anexo II - Tabela 4). Observaram-se também diferenças significativas entre estratégias alimentares (KW $H_2=8.5$, $N_M=47$, $N_T=142$, $N_V=41$, $p<0.05$), tendo as espécies de alimentação visual uma concentração de fibras significativamente inferior às restantes (Figura 2.12, ANEXO II – Tabela 5)

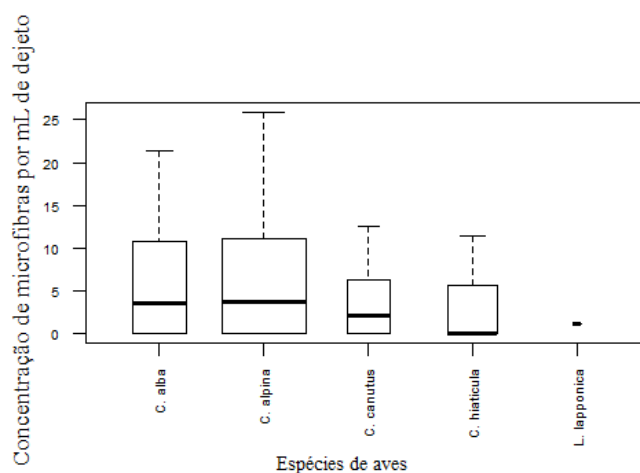


Figura 2.11 - Concentração de microfibras por mL^{-1} de dejetos nas 5 espécies de aves amostradas no Banc d'Arguin. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa).

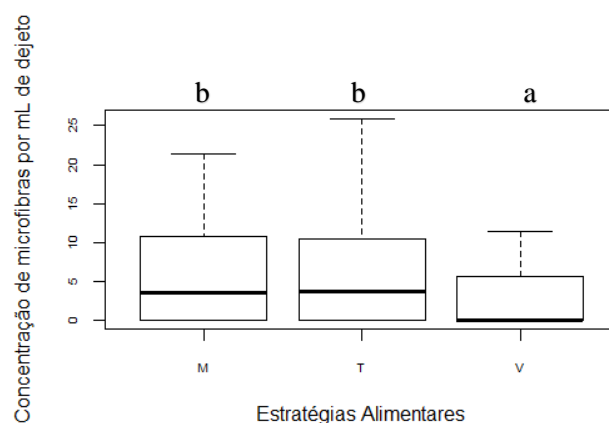


Figura 2.12 - Concentração de microfibras por mL^{-1} de dejetos consoante as diferentes estratégias alimentares no Banc d'Arguin. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa). M (Estratégia Mista), T (Estratégia Tátil), V (Estratégia Visual). As estratégias com letras diferentes (topo dos gráficos) apresentam diferenças estatisticamente significativas.

C. alba e *C. hiaticula* foram as únicas espécies amostradas comuns aos três locais tendo-se observado diferenças significativas na concentração de microfibras tanto em *C. alba* (KW $H_2=14.3$, $p<0.001$) como em *C. hiaticula* (KW $H_2=11.8$, $p<0.01$). Em ambos os casos, a concentração de microfibras foi significativamente superior no estuário do Tejo (Figura 2.13 (a) e (b), ANEXO II – Tabela 6, 7). Também no caso de *P. squatarola* ($W = 419.0$, $N_{ET}=26$, $N_B=16$, $p<0.01$) a concentração de microfibras nos dejetos foi

significativamente superior no Tejo do que nos Bijagós (Figura 2.13 (c)). *T. Totanus* não apresentou diferenças significativas concentração de microfibras nos dejetos entre locais de amostragem para a (W=510, N_{ET}=28, N_B=8, p=0.34) (Figura 2.13 (d)), passando-se o mesmo para *C. alpina* (W=10203, N_{BA}=113, N_{ET}=39, p=0.65) (Figura 2.13 (e)).

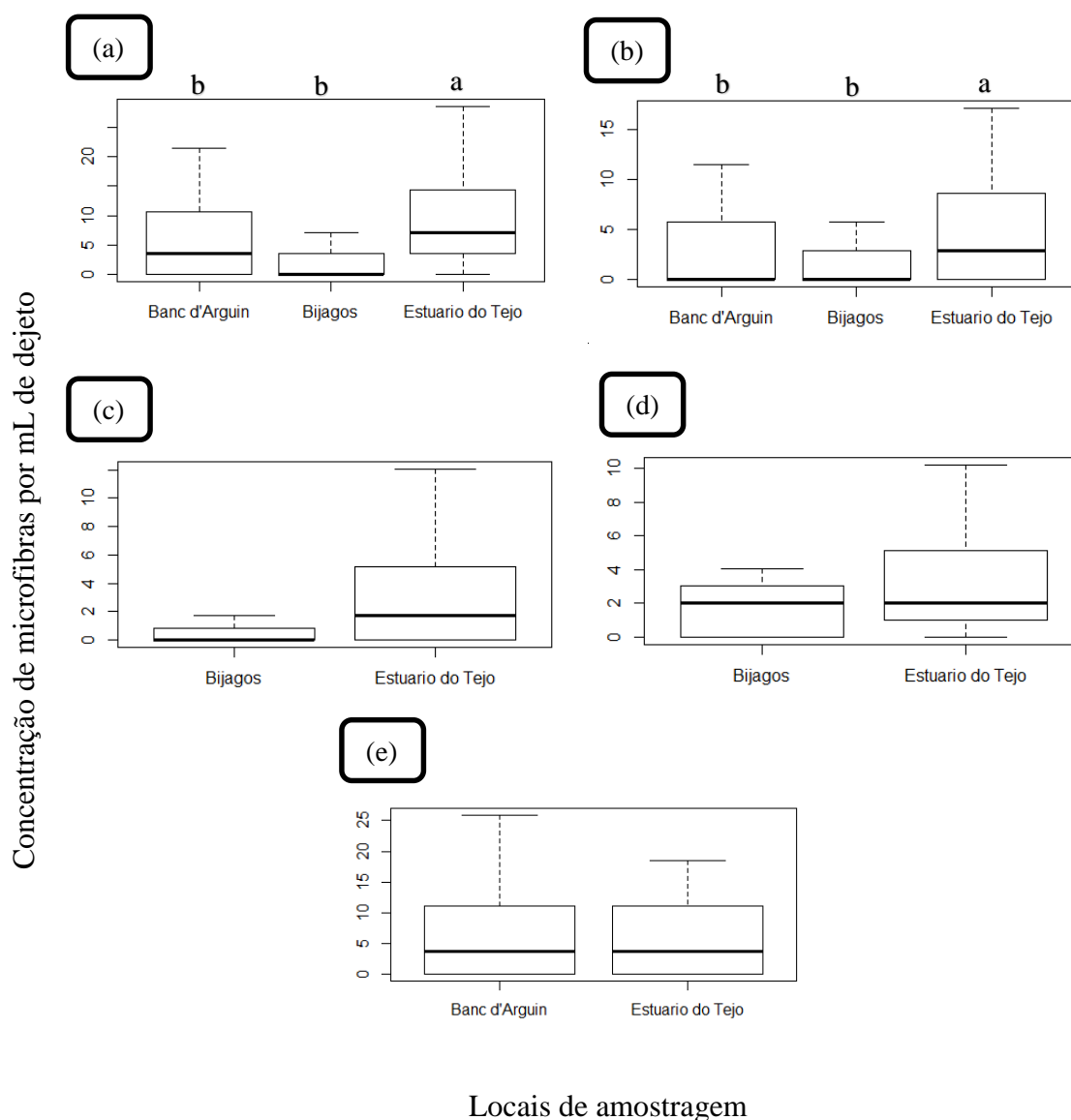


Figura 2.13 – Concentração de microfibras por ml-1 dejecto de (a) *C. alba*, (b) *C. hiaticula*, (c) *P. squatarola*, (d) *T. totanus*, (e) *C. alpina*, nos diferentes locais de amostragem. As caixas de bigodes aparentam graficamente o valor mínimo e máximo (os bigodes), 1ª e 3º quantil (contornos da caixa) e a mediana (linha preta dentro da caixa). Os locais com letras diferentes (topo dos gráficos) apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Verificou-se que as microfibras de cor preta (37.9-46.3%) são predominantes nos dejetos das aves em todos os locais. As restantes cores variam de percentagem consoante o local, nomeadamente o branco (8.1-19.1%), vermelho (12.6-20.0%) e azul (18.8-31.0%), que ocorrem sempre em percentagens intermédias. O castanho (0-4.9%) e o verde (2.2-10.3%) são sempre as cores menos comuns (Figura 2.14).

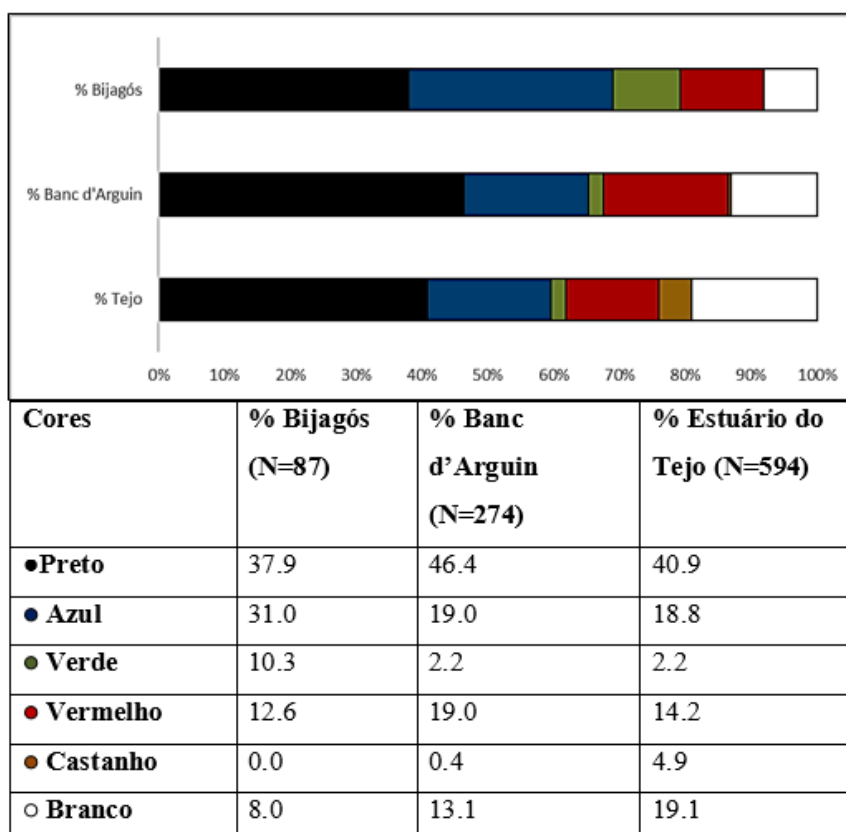


Figura 2.14 - Proporção das cores das microfibras presentes nas amostras de dejetos dos diferentes locais de amostragem. Dados apresentados em percentagem.

Identificação dos polímeros constituintes dos microplásticos

Os resultados aqui discriminados resultam de uma análise preliminar de 94 microfibras. A identificação definitiva destes polímeros vai requerer ainda algum trabalho complementar para comparar de forma mais exaustiva os espectros obtidos com a coleção de referência. Assim estes resultados devem ser interpretados com algum cuidado. Na análise efectuada observou-se que apenas 19.1% das microfibras poderão não ser compostas por polímeros

sintéticos, sendo as restantes 80.9 % das microfibras analisadas possivelmente compostas por polímeros sintéticos.

Discussão

Foram observadas microfibras em todos os elos das cadeias tróficas estudadas, estando disponíveis no sedimento e presentes em todos os organismos estudados. Estes resultados evidenciam a ampla distribuição dos microplásticos em ambientes estuarinos, e a sua ubiquidade nas cadeias tróficas estuarinas estando presentes tanto nos consumidores primários (invertebrados – presas) como nos secundários (aves – predadores)

Comparando os resultados obtidos para a concentração de microfibras presentes no sedimento dos três sistemas estuarinos, verifica-se que o Banc d'Arguin é significativamente diferente dos restantes, ao apresentar menor abundância destas partículas nos sedimentos. Este resultado poderá ser explicado pela ausência de rios e pela muito reduzida presença humana no Banc d'Arguin, onde residem apenas cerca de 1500 habitantes.

Tendo em conta que 80% do lixo marinho que chega aos oceanos provém do meio terrestre, através do transporte do vento e da drenagem de esgotos e das correntes dos rios (Andrady 2011) e que a principal fonte de origem das microfibras de plástico parecem ser os esgotos urbanos (Browne et al. 2011; Cole et al. 2011), era de esperar que o local com menos presença humana fosse o local com menor abundância de microfibras. Já no que toca aos Bijagós e ao estuário do Tejo os resultados não indicaram diferenças na concentração de microfibras no sedimento entre ambos os locais.

Os Bijagós recebem a influência da população por se localizarem próximo do litoral, e as amostras foram colhidas na ilha de Bubaque, uma das mais influentes ilhas dos Bijagós, constituindo um centro comercial e logístico dos Bijagós. É de referir que os Bijagós

recebem a influência dos rios Geba e Grande de Buba (Grande), cuja foz se situa próximo da ilha de Bubaque. O Rio Geba passa por países populosos como o Senegal, Guiné e Guiné-Bissau, já o Rio Grande Buba apenas passando pela Guiné-Bissau, é o maior rio do país, passando por uma das cidades mais populosas do mesmo, a cidade de Buba, sendo ainda bastante utilizado para transporte entre as várias zonas. Contudo, mesmo tendo em conta a influência destes rios e das populações ao longo das suas margens, a influência humana nos Bijagós não é comparável à do estuário do Tejo. O estuário do Tejo, situa-se numa zona bastante urbanizada, estando localizado numa das grandes áreas metropolitanas do Sul da Europa, e sofrendo ainda a influência do Rio Tejo, que nasce em Espanha, passando por diversas cidades de grande dimensão. É assim inesperado que se tenham observado concentrações de microfibras semelhantes nos Bijagós e no estuário do Tejo.

É possível que a amostragem nos Bijagós tenha sido pouco representativa, visto terem sido recolhidas apenas 6 amostras num único local.

É também de ter em conta que a gestão dos resíduos urbanos da Guiné-Bissau é bastante diferente da observada na Europa. A Guiné-Bissau não possui políticas e/ou legislações específicas para o setor dos resíduos, que se traduzem na ausência de tratamentos, provocando acumulação de lixos urbanos. Em 2012 a taxa de cobertura dos serviços de recolha de lixos urbanos em Bissau era de apenas 55% (INEGB 2015), sendo diariamente produzidos 154 toneladas de lixo com uma taxa de geração *per capita* de 0,5 kg/dia (Duarte 2012). Uma vez que estes resíduos urbanos não sofrem qualquer tratamento, ao contrário do que acontece em Portugal onde a maior parte do lixo e esgotos são tratados, pode também refletir-se na quantidade de plástico que chega ao meio ambiente.

Foi observado que os invertebrados amostrados do Tejo, tanto poliquetas como bivalves, contêm um maior número de microfibras por indivíduo do que os invertebrados

analisados do Banc d'Arguin. Este resultado está de acordo com o observado nas amostras de sedimento, confirmando que na zona com menor influência humana a incidência de microplásticos é menor. Confirma-se assim também que as microfibras estão presentes nas presas disponíveis no habitat para as aves limícolas.

Quando se avaliou a ocorrência de microfibras nos predadores, confirmou-se também a presença de plásticos nos seus tubos digestivos e a sua expulsão através dos dejetos. Até à data não existem outros estudos que tenham evidenciado a ingestão de microplásticos em aves estuarinas, mas parece evidente, com base nos presentes dados, que este fenómeno deve ser muito comum visto ter sido observado em todas as espécies estudadas e em todas as áreas de estudo.

No que respeita às microfibras detetadas nos dejetos, observaram-se geralmente concentrações mais elevadas nos dejetos recolhidos no estuário do Tejo. Esta tendência foi observada em três das cinco espécies para as quais se recolheram dejetos em várias áreas de estudo, *C. alba*, *C. hiaticula* e *P. squatarola*. Contudo, em *T. totanus* e *C. alpina* não se observaram diferenças significativas entre áreas de estudo na concentração de microfibras nos dejetos. Na comparação entre o Tejo e o Banc d'Arguin estes resultados parecem corroborar os dados referentes à concentração de microfibras no sedimento e nos macroinvertebrados, que também são superiores no Tejo, sendo que essas são as vias prováveis de entrada das microfibras nas aves limícolas. No que respeita aos dejetos recolhidos nos Bijagós, o facto de tenderem a apresentar concentrações inferiores às do Tejo e semelhantes às do Banc d'Arguin vem mais uma vez pôr em questão a representatividade das altas concentrações de microfibras observadas nas amostras de sedimento recolhidas nos Bijagós. Seria de esperar que as altas concentrações observadas no sedimento dos Bijagós se refletissem nos dejetos das aves, o que não se observou.

Os dados referentes à concentração de microfibras nos dejetos das aves evidenciaram também diferenças significativas entre estratégias alimentares, onde as aves com estratégia alimentar visual tendem a apresentar concentrações menores de microfibras, contrastando com as de estratégia tátil que apresentam concentrações mais elevadas de microfibras. Uma vez que as aves de estratégia visual capturam o alimento através de bicadas superficiais em que quase não é ingerido sedimento, enquanto as espécies de limícolas com estratégia tátil obtêm o alimento através de bicadas profundas que implicam a ingestão de algum sedimento, ou podem mesmo, no caso do alfaiate, ingerir ativamente sedimento para depois filtrarem as presas (Barbosa 1995; Moreira 1995; van de Kam et al. 2004), esta diferença sugere que a ingestão de sedimento aumenta a quantidade de microfibras ingeridas pelas aves. Contudo, estas diferenças foram apenas visíveis nos dejetos amostrados no Banc d'Arguin e nos Bijagós, sendo que no estuário do Tejo não se verificaram diferenças significativas entre as diferentes estratégias alimentares.

Relativamente aos dejetos das diferentes espécies de aves limícolas analisadas, *C. alpina* (uma espécie de estratégia tátil) apresentou as mais altas concentrações de microfibras tanto no Tejo como no Banc d'Arguin, embora no Tejo *C. alba* que tem estratégia alimentar mista apresentou concentrações semelhantes. É de referir que, embora considerada aqui uma espécie de estratégia mista nas zonas vasosas do estuário do Tejo *C. alba* utiliza uma estratégia tátil durante cerca de 50% do tempo (Lourenço et al. 2015a) pelo que é provável que também ingira quantidades consideráveis de sedimento. Já no arquipélago dos Bijagós a espécie com concentração mais elevada de microfibras foi *C. ferruginea*, uma ave de estratégia alimentar mista. Contudo nessa área de estudo não foi amostrada qualquer espécie de estratégia alimentar exclusivamente tátil. Estes resultados demonstram que quando se avalia isoladamente cada espécie, foram as espécies de estratégia mista e de estratégia tátil as que evidenciaram maiores concentrações de

microfibras em todas as áreas de estudo, o que sugere que a estratégia alimentar influencia a quantidade de microfibras nos dejetos e logo possivelmente a quantidade de microfibras ingeridas.

A análise de moelas e intestinos de aves do estuário do Tejo confirmou a presença de microfibras no trato digestivo destas aves e evidenciou que ocorrem muito mais microfibras na moela do que no intestino. Embora o número de tubos digestivos amostrados tenha sido reduzido, esta diferença clara entre moela e intestino sugere que existe alguma retenção significativa destas partículas na moela das aves. O facto de ter sido medido a área dos órgãos, ao invés do volume, causa alguma limitação na interpretação dos resultados. Podemos apenas afirmar que existe um maior número de microfibras.cm⁻² na moela, o que sugere que é na moela que existe maior quantidade de alimento e por isso de microfibras, sugerindo algum nível de acumulação ao nível da por poder ter um maior tempo de retenção dos alimentos.

Embora os dados aqui apresentados descrevam uma alta incidência de microfibras de plástico nas cadeias tróficas estuarinas, mesmo em zonas com pouca influência humana, alguns dos padrões deixam algumas dúvidas que requerem estudos futuros para os confirmar. Por exemplo, nos Bijagós observaram-se as mais altas concentrações de microfibras nos sedimentos o que não parece estar de acordo nem com o nível de influência humana, visto ser uma região muito menos humanizada que o estuário do Tejo, nem com os dados recolhidos sobre a concentração de microfibras nos dejetos das aves. Infelizmente não foram recolhidos macroinvertebrados nos Bijagós, o que poderia ajudar a compreender se são os dados do sedimento ou dos dejetos de aves que fogem ao padrão local. Como foi referido acima, a amostragem de sedimento nos Bijagós foi pequena e limitada a uma única área. Uma vez que existe variação dentro de uma zona estuarina, nomeadamente relacionada com as características do sedimento (Capítulo 1), é possível

que tenha sido amostrada um local pouco representativo da concentração geral de microfibras nos sedimentos dos bijagós. De facto, as frequências de ocorrência das microfibras nos dejetos das aves diferiram bastante entre espécie e entre locais, mas enquanto no Tejo foi superior a 65% em todas as espécies e no Banc d'Arguin foi superior a 39% em todas as espécies, nos Bijagós variou entre 0% e 62%. Uma vez que os dejetos não foram recolhidos apenas na área onde foi recolhido sedimento, esta grande variação na frequência de ocorrência de microfibras e o número elevado de dejetos sem microfibras nos Bijagós (n=89) pode indicar que existe também uma grande variação na distribuição de microfibras nesta área de estudo. Só a amostragem de mais áreas nos Bijagós poderá solucionar esta questão.

Considerações Finais

O presente estudo demonstrou a ocorrência de elevadas concentrações de microfibras de plástico, bem como as variáveis que estão a influenciar a distribuição deste tipo de poluição no estuário do Tejo.

Assim, esta caracterização serve como referência para estudos futuros de monitorização deste tipo de poluição. Duas variáveis influenciaram a concentração de microfibras nos sedimentos intermareais do estuário do Tejo: a *percentagem de sedimentos finos* que está diretamente associada ao hidrodinamismo, e a *população do concelho* que está associada ao nível de urbanização. Estudos futuros devem ter em conta que a granulometria e a população são provavelmente fatores importantes a ter em conta no desenho de programas de monitorização dirigidos ao problema da poluição por microplásticos nestes locais.

Este estudo representa ainda a primeira quantificação de microfibras no sedimento e em diversos compartimentos da cadeia alimentar (consumidores primários e secundários), tendo sido o primeiro a detetar a presença de microplásticos em aves limícolas, com diferentes estratégias alimentares (tácteis, mistas e visuais). Os resultados obtidos sugerem que as aves limícolas ingerem microfibras de plásticos tanto diretamente através do que está disponível no sedimento, como indiretamente através da ingestão das microfibras presentes nas presas. É ainda de observar uma possível propagação ao longo da mesma cadeia, sendo que as microfibras estão presentes em organismos de diferentes estratégias alimentares, podendo o homem também estar suscetível, ao ser um predador de topo da cadeia.

Apesar de se conhecerem alguns dos efeitos que a ingestão de microplásticos provoca em diversos organismos, estes apenas foram detetados em condições laboratoriais. Os potenciais impactos que estas substâncias possam causar nos seres vivos, em condições naturais são ainda desconhecidos. Torna-se assim de extrema importância para a

conservação a percepção dos impactos que estas partículas, conjuntamente com os aditivos que os constituem e/ou com os poluentes químicos que adsorvem do seu meio envolvente, causam no ambiente.

Seria de maior importância quantificar as concentrações mínimas de compostos (componentes aditivos e químicos adsorvidos) presentes nos microplásticos bem como o tempo mínimo necessário para causar impactos nos seres vivos, (Andrady & Neal 2009; Oehlmann et al. 2009b). Seria de extrema importância compreender a potencialidade de propagação não apenas das microfibras, mas também dos compostos químicos a estas associados, nas cadeias tróficas.

Confirma-se ainda a abrangência da problemática dos microplásticos, ao ser demonstrada a sua presença em três sistemas intermareais localizados ao longo da costa oriental do Oceano Atlântico. Mesmo em zonas menos urbanizadas como o arquipélago dos Bijagós, na República da Guiné-Bissau, e até em zonas com pouca presença humana como o Banc d'Arguin, na Mauritânia exibem altas concentrações de microplásticos, evidenciando a extensão que esta problemática tem a nível global.

Referências

- Acha, E. M., H. W. Mianzan, O. Iribarne, D. A. Gagliardini, C. Lasta & P. Daleo. 2003. The role of the Río de la Plata bottom salinity front in accumulating debris. *Marine Pollution Bulletin* 46:197–202.
- Ahmad, I., J. P. Coelho, I. Mohmood, M. Pacheco, M. A. Santos, A. C. Duarte, & E. Pereira. 2011. Immunosuppression in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* environmentally exposed to mercury and association with its accumulation. *Chemosphere* 82:1541–1546.
- Akberali, H. B. & J. Davenport. 1981. The responses of the bivalve *Scrobicularia plana* (da Costa) to gradual salinity changes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 53:251–259.
- Amat, J. A. & A. J. Green. 2010. Waterbirds as Bioindicators of Environmental Conditions. *Biological Monitoring in Freshwater Habitats*. C. Hurford et al. (eds.) *Conservation Monitoring in Freshwater habitats*: 45–52.
- Andrady, A. L. 2011. Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 62:1596–1605.
- Andrady, A. L. & M. A. Neal. 2009. Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:1977–1984.
- ARH tejo. 2015, Administração Da Região Hidrográfica Do Tejo. <http://www.arhtejo.pt/>. Consultado em outubro 2015.
- Austin, G. E., & M. M. Rehfisch. 2003. The likely impact of sea level rise on waders (Charadrii) wintering on estuaries. *Journal for Nature Conservation* 11:43–58.
- Bakir, A., S. J. Rowland, & R. C. Thompson. 2014a. Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution* 185:16–23.
- Bakir, A., S. J. Rowland, & R. C. Thompson. 2014b. Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 140:14–21.
- Barbosa, A. 1995. Foraging Strategies and Their Influence on Scanning and Flocking Behaviour of Waders. *Journal of Avian Biology* 26:182–186.
- Barnes, D. K. a, F. Galgani, R. C. Thompson, & M. Barlaz. 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 364:1985–98.
- Barnes, D. K. A. 2005. Remote Islands Reveal Rapid Rise of Southern Hemisphere Sea Debris. *The Scientific World Journal* 5:915–921.
- Baulch, S., & C. Perry. 2014. Evaluating the impacts of marine debris on cetaceans. *Marine Pollution Bulletin* 80:210–221.
- Besseling, E. et al. 2015. Microplastic in a macro filter feeder: Humpback whale *Megaptera novaeangliae*. *Marine Pollution Bulletin* 95:248–252.
- Besseling, E., A. Wegner, E. M. Foekema, M. J. van den Heuvel-Greve, & A. A. Koelmans. 2013. Effects of Microplastic on Fitness and PCB Bioaccumulation by the Lugworm *Arenicola marina* (L.). *Environmental Science & Technology* 47:593–600.
- Besseling, E., B. Wang, M. Lüring, & A. A. Koelmans. 2014. Nanoplastic Affects Growth of *S. obliquus* and Reproduction of *D. magna*. *Environmental Science & Technology* 48:12336–12343.
- Blight, L. K., & A. E. Burger. 1997. Occurrence of plastic particles in sea-birds from the Eastern North Pacific. *Marine Pollution Bulletin* 34:323–325.
- Bocher, P., T. Piersma, A. Dekinga, C. Kraan, M. G. Yates, T. Guyot, E. O. Folmer, & G. Radenac. 2007. Site- and species-specific distribution patterns of molluscs at five intertidal soft-sediment areas in northwest Europe during a single winter. *Marine Biology* 151:577–594.
- Boerger, C. M., G. L. Lattin, S. L. Moore, & C. J. Moore. 2010. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin* 60:2275–2278.

- Brogueira, M., and G. Cabeçadas. 2006. Identification of similar environmental areas in Tagus estuary by using multivariate analysis. *Ecological Indicators* 6:508–515.
- Browne, M. a, A. Dissanayake, T. S. Galloway, D. M. Lowe, & R. C. Thompson. 2008. Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science & Technology* 42:5026–5031.
- Browne, M. a, T. S. Galloway, & R. C. Thompson. 2010. Spatial Patterns of Plastic Debris along Estuarine Shorelines. *Environmental Science & Technology* 44:3404–3409.
- Browne, M. A., A. J. Underwood, M. G. Chapman, R. Williams, R. C. Thompson, & J. A. van Franeker. 2015. Linking effects of anthropogenic debris to ecological impacts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282:20142929–20142929.
- Browne, M. A., P. Crump, S. J. Niven, E. Teuten, A. Tonkin, T. Galloway, & R. Thompson. 2011. Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science & Technology* 45:9175–9179.
- Browne, M. A., S. J. Niven, T. S. Galloway, S. J. Rowland, & R. C. Thompson. 2013. Microplastic Moves Pollutants and Additives to Worms, Reducing Functions Linked to Health and Biodiversity. *Current Biology* 23:2388–2392.
- Browne, M. A., T. Galloway, & R. Thompson. 2007. Microplastic-an emerging contaminant of potential concern? *Integrated Environmental Assessment and Management* 3:559–561.
- Bryan, G. W. & Uysal, H. (1978). Heavy metals in the burrowing bivalve *Scrobicularia plana* from the Tamar estuary in relation to environmental levels. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 58: 89-108.
- Bryan, G. W., & W. J. Langston. 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution* 76:89–131.
- Cabral, H. N., M. J. Costa, & J. P. Salgado. 2001. Does the Tagus estuary fish community reflect environmental changes? *Climate Research* 18:119–126.
- Cabral, H., & M. J. Costa. 1999. Differential use of nursery areas within the Tagus estuary by sympatric soles, *Solea solea* and *Solea senegalensis*. *Environmental Biology of Fishes* 56:389–397.
- Caill-Milly, N., N. Bru, K. Mahé, C. Borie, & F. D'Amico. 2012. Shell Shape Analysis and Spatial Allometry Patterns of Manila Clam (*Ruditapes philippinarum*) in a Mesotidal Coastal Lagoon. *Journal of Marine Biology* 2012:1–11.
- Carson, H. S. 2013. The incidence of plastic ingestion by fishes: From the prey's perspective. *Marine Pollution Bulletin* 74:170–174.
- Carvalho, S., A. Moura, M. B. Gaspar, P. Pereira, L. Cancela da Fonseca, M. Falcão, T. Drago, F. Leitão, & J. Regala. 2005. Spatial and inter-annual variability of the macrobenthic communities within a coastal lagoon (Óbidos lagoon) and its relationship with environmental parameters. *Acta Oecologica* 27:143–159.
- Catry, T., P. M. Lourenço, R. J. Lopes, C. Carneiro, J. a. Alves, J. Costa, H. Rguibi-Idrissi, S. Bearhop, T. Piersma, & J. P. Granadeiro. 2015. Structure and functioning of intertidal food webs along an avian flyway: a comparative approach using stable isotopes. *Functional Ecology*. DOI: 10.1111/1365-2435.12506
- Choy, C., & J. Drazen. 2013. Plastic for dinner? Observations of frequent debris ingestion by pelagic predatory fishes from the central North Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 485:155–163.
- Coelho, J. P., A. C. Duarte, M. a. Pardal, & M. E. Pereira. 2014. *Scrobicularia plana* (Mollusca, Bivalvia) as a biomonitor for mercury contamination in Portuguese estuaries. *Ecological Indicators* 46:447–453.
- Cole, M., P. Lindeque, C. Halsband, & T. S. Galloway. 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* 62:2588–2597.

- Cole, M., P. Lindeque, E. Fileman, C. Halsband, & T. S. Galloway. 2015. The Impact of Polystyrene Microplastics on Feeding, Function and Fecundity in the Marine Copepod *Calanus helgolandicus*. *Environmental Science & Technology* 49:1130–1137.
- Costa, J. S. S. 2013. Caracterização das cadeias tróficas de zonas húmidas costeiras na rota migratória de aves limícolas: uma análise isotópica. Caracterização das cadeias tróficas de zonas húmidas costeiras na rota migratória de aves limícolas: uma análise isotópica. Faculdade de Ciências - Universidade de Lisboa. (Dissertação de Mestrado)
- Costa, M. F., J. S. ; Silva-Cavalcanti, C. C. Barbosa, J. L. Portugal, & M. Barletta. 2011. Plastics buried in the inter-tidal plain of a tropical estuarine ecosystem. *Journal of Coastal Research* 64:339–343.
- Dameron, O. J., M. Parke, M. A. Albins, & R. Brainard. 2007. Marine debris accumulation in the Northwestern Hawaiian Islands: An examination of rates and processes. *Marine Pollution Bulletin* 54:423–433.
- de Carvalho, R. H., P. D. Lacerda, S. da Silva Mendes, B. C. Barbosa, M. Paschoalini, F. Prezoto, & B. M. de Sousa. 2015. Marine debris ingestion by sea turtles (Testudines) on the Brazilian coast: an underestimated threat? *Marine Pollution Bulletin*. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.10.002
- Derraik, J. G. B. 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin* 44:842–52.
- Duarte, E.A.H.J.D., 2012. Contribuição para a organização e planeamento do sistema de gestão dos resíduos sólidos no município de bissau, guiné-bissau. Curso de Graduação em Engenharia Sanitária e Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Florianópolis. (Dissertação de Mestrado)
- Engelmoer M, Piersma T, Altenburd W, & Mes R (1984) The Banc d'Arguin (Mauritania). In Goss-Custard J, Evans PR, Hale WG (eds) Coastal waders and wildfowl in winter. Cambridge University Press, Cambridge
- Eriksen, M., L. C. M. Lebreton, H. S. Carson, M. Thiel, C. J. Moore, J. C. Borerro, F. Galgani, P. G. Ryan, & J. Reisser. 2014. Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE* 9: e111913.
- Eriksen, M., N. Maximenko, M. Thiel, A. Cummins, G. Lattin, S. Wilson, J. Hafner, A. Zellers, & S. Rifman. 2013. Plastic pollution in the South Pacific subtropical gyre. *Marine Pollution Bulletin* 68:71–76.
- Evans, K. L., A. S. L. Rodrigues, S. L. Chown, & K. J. Gaston. 2006. Protected areas and regional avian species richness in South Africa. *Biology letters* 2:184–8.
- Fendall, L. S., & M. a Sewell. 2009. Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin* 58:1225–1228.
- Folk, Robert L. 1954. The Distinction Between Grain Size and Mineral Composition in Sedimentary-rock Nomenclature. *The Journal of Geology - University of Chicago Press* 62: 344–59.
- Frias, J.P.G.L., Sobral, P. & Ferreira, A. M. 2014. Organic pollutants in microplastics from two beaches of the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin* 60: 1988–1992.
- Galgani, F. 2015. Marine litter, future prospects for research. *Frontiers in Marine Science* 2:1–5.
- Gallagher, A., A. Rees, R. Rowe, J. Stevens, & P. Wright. 2015. Microplastics in the Solent estuarine complex, UK: An initial assessment. *Marine Pollution Bulletin*.
- Goss-Custard, J. D., and M. G. Yates. 1992. Towards Predicting the Effect of Salt-Marsh Reclamation on Feeding Bird Numbers on the Wash. *The Journal of Applied Ecology* 29:330.
- Graham, E. R., & J. T. Thompson. 2009. Deposit- and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 368:22–29.
- Granadeiro, J. P., C. D. Santos, M. P. Dias, & J. M. Palmeirim. 2007. Environmental factors drive habitat partitioning in birds feeding in intertidal flats: implications for conservation. *Hydrobiologia* 587:291–302.

- Gregory, M. R. 2009. Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:2013–2025.
- Hess, N. A., C. A. Ribic, & I. Vining. 1999. Benthic marine debris, with an emphasis on fishery-related items, surrounding Kodiak Island, Alaska, 1994-1996. *Marine Pollution Bulletin* 38:885–890.
- Honkoop, P. J. C., E. M. Berghuis, S. Holthuijsen, M. S. S. Lavaleye, & T. Piersma. 2008. Molluscan assemblages of seagrass-covered and bare intertidal flats on the Banc d'Arguin, Mauritania, in relation to characteristics of sediment and organic matter. *Journal of Sea Research* 60:255–263.
- Hu, G.-X., Q.-Q. Lian, R.-S. Ge, D. O. Hardy, & X.-K. Li. 2009. Phthalate-induced testicular dysgenesis syndrome: Leydig cell influence. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 20:139–145.
- ICNF, 2015. Reserva Natural do Estuário do Tejo. Instituto de Conservação da Natureza e Florestas. <http://www.icnf.pt/portal/ap/r-nat/rnet>. Consultado em setembro 2015.
- INE, 2015 – Instituto Nacional de Estatística. <https://www.ine.pt/> . Consultado em novembro 2015
- INEGB, 2016. Instituto Nacional de Estatística Guiné Bissau. <http://www.stat-guinebissau.com/>. Consultado em janeiro 2016
- Iribarne, O. O., & M. M. Martinez. 1999. Predation on the Southwestern Atlantic Fiddler Crab (*Uca uruguayensis*) by Migratory Shorebirds (*Pluvialis dominica*, *P. squatarola*, *Arenaria interpres*, and *Numenius phaeopus*). *Estuaries* 22:47.
- Ivar do Sul, J. a, & M. F. Costa. 2014. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental pollution* 185:352–64.
- Jambeck, J. R., R. Geyer, C. Wilcox, T. R. Siegler, M. Perryman, A. Andrady, R. Narayan, & K. L. Law. 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347:768–771.
- Langston, W., G. Burt, & B. Chesman. 2007. Feminisation of male clams *Scrobicularia plana* from estuaries in Southwest UK and its induction by endocrine-disrupting chemicals. *Marine Ecology Progress Series* 333:173–184.
- Law, K. L., S. Moret-Ferguson, N. A. Maximenko, G. Proskurowski, E. E. Peacock, J. Hafner, & C. M. Reddy. 2010. Plastic Accumulation in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Science* 329:1185–1188.
- Lee, K.-W., W. J. Shim, O. Y. Kwon, & J.-H. Kang. 2013. Size-Dependent Effects of Micro Polystyrene Particles in the Marine Copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental Science & Technology* 47:11278–11283.
- Lee, S. Y., R. J. K. Dunn, R. A. Young, R. M. Connolly, P. E. R. Dale, R. Dehayr, C. J. Lemckert, S. Mckinnon, B. Powell, P. R. Teasdale & D. T. Welsh 2006. Impact of urbanization on coastal wetland structure and function. *Austral Ecology* 31:149–163.
- Lourenço, P. M., A. Silva, C. D. Santos, A. C. Miranda, J. P. Granadeiro, & J. M. Palmeirim. 2008. The energetic importance of night foraging for waders wintering in a temperate estuary. *Acta Oecologica* 34:122–129.
- Lourenço, P. M., J. A. Alves, T. Catry, & J. P. Granadeiro. 2015a. Foraging ecology of sanderlings *Calidris alba* wintering in estuarine and non-estuarine intertidal areas. *Journal of Sea Research* 104:33–40.
- Lourenço, P. M., T. Catry, T. Piersma, & J. P. Granadeiro. 2015b. Comparative Feeding Ecology of Shorebirds Wintering at Banc d'Arguin, Mauritania. *Estuaries and Coasts*. *Estuaries and Coasts*.
- Luoma, S. N., Y. B. Ho, & G. W. Bryan. 1995. Fate, bioavailability and toxicity of silver in estuarine environments. *Marine Pollution Bulletin* 31:44–54.
- Lusher, A. L., M. McHugh, & R. C. Thompson. 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine Pollution Bulletin* 67:94–99.
- Mitsch, W. J., & J. G. Gosselink. 2000. The values of wetlands: landscapes and institutional perspectives - the value of wetlands : importance of scale and landscape setting. *Ecological Economics* 35:25–33.
- Moore, C. J. 2008. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research* 108:131–139.

- Moore, C., S. Moore, S. Weisberg, G. Lattin, & A. Zellers. 2002. A comparison of neustonic plastic and zooplankton abundance in southern California's coastal waters. *Marine Pollution Bulletin* 44:1035–1038.
- Moore, S. E., & J. T. Clarke. 2002. Potential impact of offshore human activities on gray whales (*Eschrichtius robustus*). *Fisheries Science* 4:19–25.
- Moreira, F. 1995. The winter feeding ecology of Avocets *Recurvirostra avosetta* on intertidal areas. II. Diet and feeding mechanisms. *Ibis* 137:99–108.
- Moreira, F. 1997. The Importance of Shorebirds to Energy Fluxes in a Food Web of a South European Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 44:67–78.
- Moreira, F. 1999. On the use by birds of intertidal areas of the Tagus estuary: Implications for management. *Aquatic Ecology* 33:301–309.
- Moreira, S., M. C. Freitas, J. M. Munhá, C. C. Tassinari, C. Andrade, & H. Cabral. 2011. Geochemical patterns of *Scrobicularia plana* and host sediment from the Tagus estuary (Portugal) 64:1545–1549.
- Murray, F., & P. R. Cowie. 2011. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Marine pollution bulletin* 62:1207–17.
- Myers, J. P., S. L. Williams, & F. A. Pitelka. 1980. An experimental analysis of prey availability for sanderlings (Aves: Scolopacidae) feeding on sandy beach crustaceans. *Canadian Journal of Zoology* 58:1564–1574.
- Naidoo, T., D. Glassom, & A. J. Smit. 2015. Plastic pollution in five urban estuaries of KwaZulu-Natal, South Africa. *Marine Pollution Bulletin* 101:473–480.
- Nelms, S. E., E. M. Duncan, A. C. Broderick, T. S. Galloway, M. H. Godfrey, M. Hamann, P. K. Lindeque, & B. J. Godley. 2015. Plastic and marine turtles: a review and call for research. *ICES Journal of Marine Science*. DOI: 10.1093/icesjms/fsv165
- Oehlmann, J., U. Schulte-Oehlmann, W. Kloas, O. Jagnytsch, I. Lutz, K. O. Kusk, L. Wollenberger, E. M. Santos, G. C. Paull, K. J. W. V. Look & C. R. Tyler 2009. A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 364:2047–62.
- Piersma, T., & A. Lindström. 2004. Migrating shorebirds as integrative sentinels of global environmental change. *Ibis* 146:61–69.
- Piersma, T., R. Van Aelst, K. Kurk, H. Berkhoudt, & L. R. M. Maas. 1998. A new pressure sensory mechanism for prey detection in birds: the use of principles of seabed dynamics? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 265:1377–1383.
- PlasticsEurope, 2013. *Plastics - the Facts 2013: An analysis of European latest plastics production, demand and waste data*. <http://www.plasticseurope.org/Document/plastics-the-facts-2013.aspx>
- Quammen, M. L. 1982. Influence of subtle substrate differences on feeding by shorebirds on intertidal mudflats. *Marine Biology* 71:339–343.
- Quintino, V., Rodrigues, A. M. & Gentil, F. 1989. Assessment of macrozoobenthic communities in the lagoon of Obidos, western coast of Portugal. *Topics in Marine Biology* 53:645–654
- Reddy, M. S., Shaik Basha, S. Adimurthy, & G. Ramachandraiah. 2006. Description of the small plastics fragments in marine sediments along the Alang-Sosiya ship-breaking yard, India. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 68:656–660.
- Rios, L. M., C. Moore, & P. R. Jones. 2007. Persistent organic pollutants carried by synthetic polymers in the ocean environment. *Marine Pollution Bulletin* 54:1230–1237.
- Robards, M. D., J. F. Piatt, & K. D. Wohl. 1995. Increasing frequency of plastic particles ingested by seabirds in the subarctic North Pacific. *Marine Pollution Bulletin* 30:151–157.
- Rochman, C. M., T. Kurobe, I. Flores, & S. J. Teh. 2014. Early warning signs of endocrine disruption in adult fish from the ingestion of polyethylene with and without sorbed chemical pollutants from the marine environment. *Science of The Total Environment* 493:656–661.

- Rodrigues, A. M., S. Meireles, T. Pereira, A. Gama, & V. Quintino. 2006. Spatial Patterns of Benthic Macroinvertebrates in Intertidal Areas of a Southern European Estuary: The Tagus, Portugal. *Hydrobiologia* 555:99–113.
- Ryan, P. G., C. J. Moore, J. van Franeker, & C. L. Moloney. 2009. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:1999–2012.
- R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. <http://www.R-project.org/>
- Sadri, S. S., & R. C. Thompson. 2014. On the quantity and composition of floating plastic debris entering and leaving the Tamar Estuary, Southwest England. *Marine Pollution Bulletin* 81:55–60.
- Salgado, J. P., H. N. Cabral, & M. J. Costa. 2007. Spatial and temporal distribution patterns of the macrozoobenthos assemblage in the salt marshes of Tejo estuary (Portugal). *Hydrobiologia* 587:225–239.
- Santos, I. R., A. C. Friedrich, & F. P. Barretto. 2005. Overseas garbage pollution on beaches of northeast Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 50:783–786.
- Santos, S., P. C. Luttikhuisen, J. Campos, C. H. R. Heip, & H. W. van der Veer. 2011. Spatial distribution patterns of the peppery furrow shell *Scrobicularia plana* (da Costa, 1778) along the European coast: A review. *Journal of Sea Research* 66:238–247.
- Sola, J. C. 1997. Reproduction, population dynamics, growth and production of *Scrobicularia plana* da costa (pelecypoda) in the Bidasoa estuary, Spain. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology* 30:283–296.
- Stefatos, A., M. Charalampakis, G. Papatheodorou & G. Ferentinos. 1999. Marine debris on the seafloor of the Mediterranean Sea: Examples from two enclosed gulfs in western Greece. *Marine Pollution Bulletin* 38:389–393.
- Stroud, D.A., Chambers, D., Cook, S., Buxton, N., Fraser, B., Clemet, P., Lewis, P., McLean, I., Baker, H. & Whitehead, S. 2001. The UK SPA network: its scope and contents. Volume 1: Rationale for the selection of sites.
- Sussarellu, R., M. Suqueta, Y. Thomasa, C. Lamberta, C. Fabiouxa, M. E. J. Pernet, N. L. Goïca, V. Quilliena, C. Minganta, Y. Epelboina, C. Corporeau, J. Guyomarchb, J. Robbensc, I. Paul-Ponta, P. Soudanta & A. Huveta 2016. Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. DOI: 10.1073/pnas.1519019113
- Sutherland, W. J., J. A. Alves, T. Amano, C. H. Chang, N. C. Davidson, C. M. Finlayson, J. A. Gill, R. E. Gill Jr, P. M. González, T. G. Gunnarsson, D. K., C. J. Spray, T. Székely & D. B. A. Thompson 2012. A horizon scanning assessment of current and potential future threats to migratory shorebirds. *Ibis* 154:663–679.
- Teuten, E. L., J. M. Saquing, D. R. U. Knappe, M. A. Barlaz, S. Jonsson, A. Björn, S. J. Rowland, R. C. Thompson, T. S. Galloway, R. Yamashita, D. Ochi, Y. Watanuki, C. Moore, P. H. Viet, T. S. Tana, M. Prudente, R. Boonyatumanond, M. P. Zakaria, K. Akkavong, Y. Ogata, H. Hirai, S. Iwasa, K. Mizukawa, Y. Hagino, A. Imamura, M. Saha, H. Takada 2009. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:2027–2045.
- Teuten, E. L., S. J. Rowland, T. S. Galloway, & R. C. Thompson. 2007. Potential for Plastics to Transport Hydrophobic Contaminants. *Environmental Science & Technology* 41:7759–7764.
- Thompson, R. C. 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304:838–838.
- Thompson, R. C., C. J. Moore, F. S. vom Saal, & S. H. Swan. 2009a. Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:2153–2166.
- Thompson, R. C., S. H. Swan, C. J. Moore, & F. S. vom Saal. 2009b. Our plastic age. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:1973–1976.
- Van Cauwenberghe, L., & C. R. Janssen. 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193:65–70.

- Van Cauwenberghe, L., M. Claessens, M. B. Vandegehuchte, & C. R. Janssen. 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution* 199:10–17.
- van de Kam, J., B. J. Ens, T. Piersma, & L. Zwarts. 2004. *Shorebirds: An Illustrated Behavioural Ecology*. KNNV Uitgeverij.
- Vinagre, C., J. Salgado, M. J. Costa, & H. N. Cabral. 2008. Nursery fidelity, food web interactions and primary sources of nutrition of the juveniles of *Solea solea* and *S. senegalensis* in the Tagus estuary (Portugal): A stable isotope approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 76:255–264.
- von Moos, N., P. Burkhardt-Holm, & A. Koehler. 2012. Uptake and Effects of Microplastics on Cells and Tissue of the Blue Mussel *Mytilus edulis* L. after an Experimental Exposure. *Environmental science & technology* 46:327–335.
- Watts, A. J. R., C. Lewis, R. M. Goodhead, S. J. Beckett, J. Moger, C. R. Tyler, & T. S. Galloway. 2014. Uptake and Retention of Microplastics by the Shore Crab *Carcinus maenas*. *Environmental Science & Technology* 48:8823–8830.
- Watts, A. J. R., M. A. Urbina, S. Corr, C. Lewis, & T. S. Galloway. 2015. Ingestion of Plastic Microfibers by the Crab *Carcinus maenas* and Its Effect on Food Consumption and Energy Balance. *Environmental Science & Technology* 49:14597–14604.
- Wegner, A., E. Besseling, E. M. Foekema, P. Kamermans, & A. A. Koelmans. 2012. Effects of nanopolystyrene on the feeding behavior of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 31:2490–2497.
- Williams, A. T., & S. L. Simmons. 1996. The degradation of plastic litter in rivers: Implications for beaches. *Journal of Coastal Conservation* 2:63–72.
- Wilson, J. G. 1994. The Role of Bioindicators in Estuarine Management. *Estuaries* 17:94.
- Wolff W.J. & Smit C.R. (1990) The Banc d'Arguin, Mauritania, as an environment for coastal birds. *Ardea* 78:17-38
- Wolff W.J., Van der Land J., Nienhuis P.H., & De Wilde P.A.W.J. (1993). The functioning of the ecosystem of the Banc d'Arguin, Mauritania: a review. *Hydrobiologia* 258:211-222
- Woodall, L. C., A. Sanchez-Vidal, M. Canals, G. L. J. Paterson, R. Coppock, V. Sleight, A. Calafat, A. D. Rogers, B. E. Narayanaswamy & R. C. Thompson. 2014. The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Society Open Science* 1:140317–140317
- Wootton, J. T. 1997. Estimates and tests of per capita interaction strength: diet, abundance, and impact of intertidally foraging birds. *Ecological Monographs* 67:45–64.
- Wright, S. L., D. Rowe, R. C. Thompson, & T. S. Galloway. 2013a. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology* 23:R1031–R1033.
- Wright, S. L., R. C. Thompson, & T. S. Galloway. 2013b. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environmental Pollution* 178:483–492.
- Yamashita, R., & A. Tanimura. 2007. Floating plastic in the Kuroshio Current area, western North Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin* 54:485–488.
- Yates, M. G. et al. 1993. Sediment Characteristics, Invertebrate Densities and Shorebird Densities on the Inner Banks of the Wash. *The Journal of Applied Ecology* 30:599.
- Yonkos, L. T., E. A. Friedel, A. C. Perez-Reyes, S. Ghosal, & C. D. Arthur. 2014. Microplastics in Four Estuarine Rivers in the Chesapeake Bay, U.S.A. *Environmental Science & Technology* 48:14195–14202.
- Zhang, W. W., & J. Z. Ma. 2011. Waterbirds as bioindicators of wetland heavy metal pollution. *Procedia Environmental Sciences* 10:2769–2774.
- Zhao, S., L. Zhu, & D. Li. 2015. Microplastic in three urban estuaries, China. *Environmental Pollution* 206:597–604.

- Zhao, S., L. Zhu, T. Wang, & D. Li. 2014. Suspended microplastics in the surface water of the Yangtze Estuary System, China: First observations on occurrence, distribution. *Marine Pollution Bulletin* 86:562–568.
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, N. J. Walker, A. A. Saveliev, & G. M. Smith. 2009. Mixed Effects Modelling for Nested Data. Pages 101–142.
- Zwarts, L., Blomert A.M., Ens B.J., Hupkes R., & Van Spanje T.M. (1990) Why do waders reach highfeeding densities on the intertidal flats of the Banc d'Arguin, Mauritania? *Ardea* 78:39-52

ANEXO I

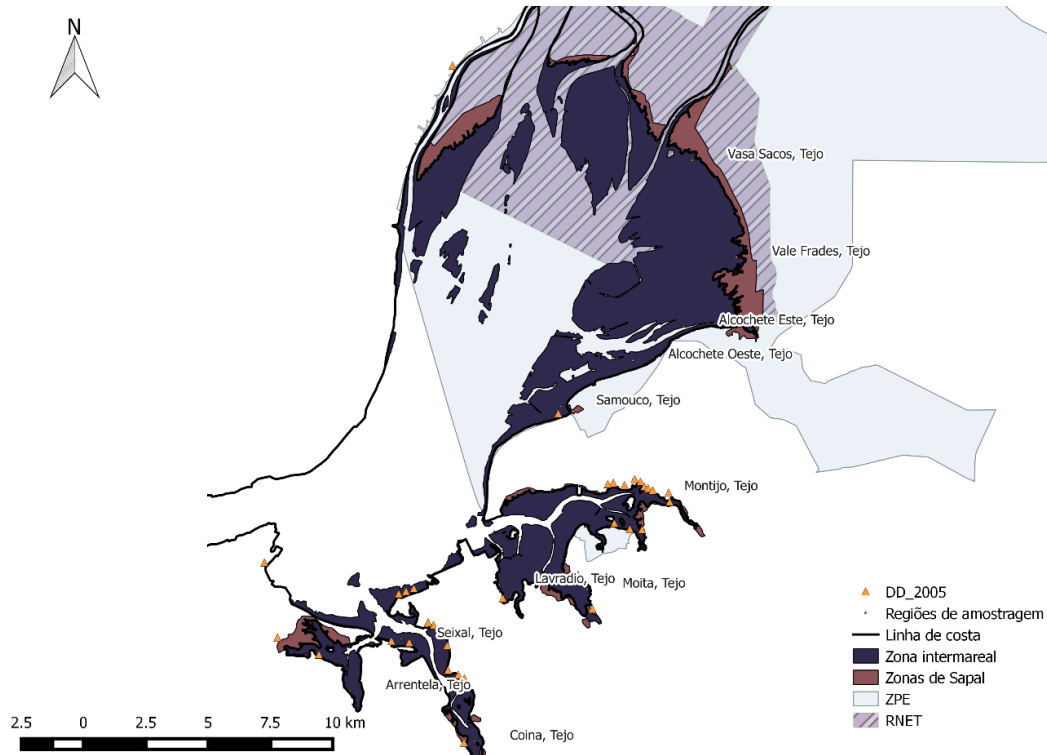


Figura 1 – Mapa do estuário do Tejo com a localização de cada área de estudo ao longo da margem sul do estuário, bem como dos pontos de descargas diretas (DD_2005) obtidos. Os limites das áreas sujeitas a proteção legal (ZPE e RNET) estão também indicadas.

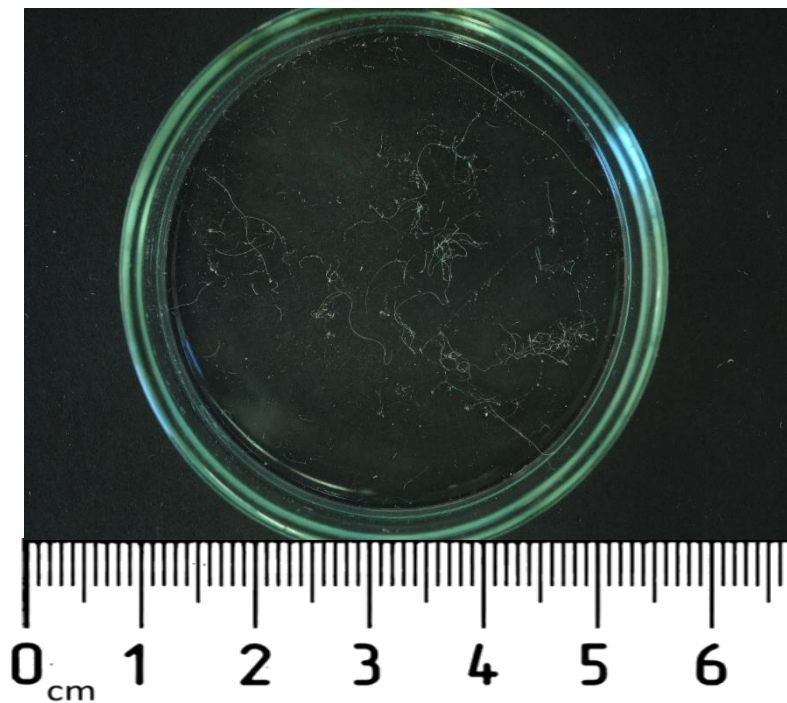


Figura 2 – Imagem representativa das microfibras analisadas numa amostra de sedimento.

Tabela 1 – Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras no sedimento entre as 11 áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre locais, o valor de teste (em cima - Z)seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	A Este	A Oeste	Arrentel a	Coina	Lavradio	Moita	Montij o	Samouco	Seixal	Vale Frades
A Oeste	1.133									
	0.129									
Arrentel	3.041	2.565								
	0.001	0.005								
Coina	1.752	0.988	-1.123							
	0.04	0.162	0.131							
Lavradio	2.318	1.702	-0.273	0.696						
	0.01	0.044	0.393	0.243						
Moita	2.34	1.676	-0.657	0.488	-0.28					
	0.01	0.047	0.256	0.313	0.39					
Montijo	3.048	2.574	0.008	1.13	0.279	0.664				
	0.001	0.005	0.497	0.129	0.39	0.253				
Samouco	0.26	-0.981	-3.117	-1.665	-2.272	-2.315	-3.13			
	0.4	0.163	0.001	0.048	0.012	0.01	0.001			
Seixal	1.714	0.876	-1.485	-0.205	-0.939	-0.759	-1.49	1.632		
	0.043	0.191	0.069	0.419	0.174	0.224	0.068	0.051		
V Frades	1.754	1.041	-0.882	0.132	-0.528	-0.31	-0.89	1.663	0.33	
	0.04	0.149	0.189	0.447	0.299	0.378	0.187	0.048	0.371	
V sacos	1.336	0.295	-2.272	-0.758	-1.489	-1.416	-2.28	1.213	-0.612	-0.834
	0.091	0.384	0.012	0.224	0.068	0.078	0.011	0.113	0.27	0.202

Tabela 2 – Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras na *S. plana* entre as 11 áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre locais, o valor de teste (em cima - Z)seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	A Este	A Oeste	Arrentela	Coina	Lavradio	Moita	Montijo	Samouco	Seixal	Vale Frades
A Oeste	1.017									
	0.155									
Arrentel	2.282	1.875								
	0.011	0.030								
Coina	1.590	0.945	-0.619							
	0.056	0.172	0.268							
Lavradio	2.237	1.787	0.300	0.801						
	0.013	0.037	0.382	0.212						
Moita	1.517	0.826	-0.836	-0.159	-0.984					
	0.065	0.205	0.202	0.437	0.163					
Montijo	0.928	-0.011	-1.658	-0.864	-1.654	-0.745				
	0.177	0.495	0.049	0.194	0.049	0.228				
Samouco	1.005	0.095	-1.564	-0.780	-1.577	-0.655	0.094			
	0.157	0.462	0.059	0.218	0.057	0.256	0.463			
Seixal	-0.165	-1.350	-2.695	-1.895	-2.556	-1.839	-1.212	-1.296		
	0.435	0.089	0.004	0.029	0.005	0.033	0.113	0.098		
V Frades	0.957	0.275	-0.907	-0.393	-1.043	-0.280	0.266	0.199	1.154	
	0.169	0.392	0.182	0.347	0.148	0.390	0.395	0.421	0.124	
V sacos	-0.197	-1.712	-3.235	-2.200	-2.894	-2.176	-1.462	-1.563	-0.012	-1.274
	0.422	0.043	0.001	0.014	0.002	0.015	0.072	0.059	0.495	0.101

Tabela 3 – Resultados do teste de Dunn: Comparação do comprimento das microfibras presentes na *S. Plana* entre as 11 áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre locais, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	A Este	A Oeste	Arrentel a	Coina	Lavra dio	Moita	Monti jo	Samouc o	Seixal	Vale Frades
A Oeste	0.711									
	0.239									
Arrentel	0.405	-0.348								
	0.343	0.364								
Coina	2.152	2.022	2.103							
	0.016	0.022	0.018							
Lavradio	0.423	-0.180	0.084	-1.699						
	0.336	0.428	0.467	0.045						
Moita	1.208	0.778	0.985	-1.134	0.735					
	0.114	0.218	0.162	0.128	0.231					
Montijo	2.415	2.452	2.462	0.099	1.926	1.363				
	0.008	0.007	0.007	0.460	0.027	0.087				
Samouco	1.982	1.849	1.932	-0.375	1.494	0.857	-0.530			
	0.024	0.032	0.027	0.354	0.068	0.196	0.298			
Seixal	1.338	0.957	1.139	-0.879	0.885	0.207	-1.063	-0.589		
	0.091	0.169	0.127	0.190	0.188	0.418	0.144	0.278		
V Frades	0.016	-0.583	-0.332	-1.881	-0.362	-1.037	-2.073	-1.698	-1.163	
	0.494	0.280	0.370	0.030	0.359	0.150	0.019	0.045	0.123	
V sacos	-0.388	-1.562	-1.017	-3.113	-0.898	-2.009	-3.648	-3.082	-2.097	-0.351
	0.349	0.059	0.155	0.001	0.185	0.022	0.000	0.001	0.018	0.363

ANEXO II

Tabela 1 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes no sedimento entre as áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre locais, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	Banc d'Argui	Bijagós
Bijagós	3.66	
	0.0001	
Estuário do Tejo	3.10	-1.44
	0.001	0.08

Tabela 2 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes nos dejetos das diferentes limícolas amostradas no estuário do Tejo. A tabela apresenta para cada comparação entre espécies, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	A. <i>interpres</i>	<i>C. alba</i>	<i>C. alpina</i>	<i>C.</i> <i>hiaticula</i>	<i>L. limosa</i>	<i>P.</i> <i>squatarol</i> <i>a</i>	<i>R.</i> <i>avosetta</i>
<i>C. alba</i>	1.224						
	0.110						
<i>C. alpina</i>	0.771	-0.838					
	0.220	0.201					
<i>C. hiaticula</i>	0.117	-1.963	-1.100				
	0.453	0.025	0.136				
<i>L. limosa</i>	-1.060	-4.245	-3.181	-1.934			
	0.145	0.000	0.000	0.026			
<i>P. squatarola</i>	-0.574	-3.117	-2.214	-1.095	0.751		
	0.283	0.000	0.013	0.137	0.226		
<i>R. avosetta</i>	-0.013	-1.067	-0.682	-0.118	0.904	0.484	
	0.495	0.143	0.248	0.453	0.183	0.314	
<i>T. totanus</i>	-0.225	-2.592	-1.703	-0.589	1.302	0.509	-0.202
	0.401	0.005	0.044	0.278	0.097	0.305	0.420

Tabela 3 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes nos dejetos das diferentes limícolas amostradas nos Bijagós. A tabela apresenta para cada comparação entre espécies, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	<i>C. alba</i>	<i>C.</i> <i>ferruginea</i>	<i>C.</i> <i>hiaticula</i>	<i>L.</i> <i>lapponica</i>	<i>N.phaeop</i> <i>us</i>	<i>P.</i> <i>squatarol</i> <i>a</i>
<i>C. ferruginea</i>	0.736					
	0.231					
<i>C. hiaticula</i>	-1.523	-2.481				
	0.063	0.006				
<i>C. lapponica</i>	-1.546	-2.427	-0.124			
	0.061	0.007	0.451			
<i>N. phaeopus</i>	-2.309	-3.132	-1.082	-0.923		
	0.011	0.000	0.139	0.178		
<i>P. squatarola</i>	-1.872	-2.684	-0.593	-0.456	0.444	
	0.031	0.001	0.277	0.324	0.329	
<i>T. totanus</i>	0.411	-0.097	1.521	1.556	2.174	1.829
	0.340	0.461	0.064	0.059	0.015	0.034

Tabela 4 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes nos dejetos das diferentes limícolas amostradas no Banc d'Arguin. A tabela apresenta para cada comparação entre espécies, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	<i>C. alba</i>	<i>C. alpina</i>	<i>C. canutus</i>	<i>C. hiaticula</i>
<i>C. alpina</i>	1.381 0.084			
<i>C. canutus</i>	-0.000 0.474	-1.266 0.122		
<i>C. hiaticula</i>	-1.474 0.070	-3.062 0.001	-1.301 0.097	
<i>L. lapponica</i>	-0.241 0.405	-0.483 0.315	-0.238 0.406	0.073 0.471

Tabela 5 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes nos dejetos aves entre as espécies de limícolas de estratégias alimentares diferentes (T, V, M) nas três áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre espécies, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	Mista	Tátil
Tátil	1.172 0.121	
Visual	-1.458 0.073	-2.869 0.000

Tabela 6 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes nos dejetos de *Calidris alba* nas três áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre espécies, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	Banc d'Arguin	Bijagós
Bijagós	-1.498 0.067	
Estuário do Tejo	2.526 0.006	3.509 0.000

Tabela 7 - Resultados do teste de Dunn: Comparação da concentração de microfibras presentes nos dejetos de *Calidris hiaticula* nas três áreas de amostragem. A tabela apresenta para cada comparação entre espécies, o valor de teste (em cima - Z) seguido do valor de significância (em baixo - p). A vermelho estão indicados os valores de p significativos.

col mean - row mean	Banc d'Arguin	Bijagós
Bijagós	-1.305 0.096	
Estuário do Tejo	2.339 0.009	3.374 0.000

Tabela 8 – Tabela resumo dos resultados obtidos para os invertebrados e para os dejetos de aves. É apresentado o N e a média±desvio padrão; no caso das espécies de aves limícolas os dados são apresentados em concentração de microfibras.ml⁻¹ de dejetos, e no caso das espécies de invertebrados os dados são apresentados em número de microfibras por indivíduo. É ainda apresentada a percentagem de ocorrência de microfibras em cada espécie para cada local de amostragem. Letras diferentes entre locais apresentam diferenças estatisticamente significativas.

Amostr as	Espécies	Estuário do Tejo	Banc d'Arguin	Bijagós	Testes Estatísticos
INVERTEBRADOS	Poliquetas				
	<i>Hediste diversicolor</i>	0.03±0.02 N=10; 100%	-	-	-
	<i>Diopatra neapolitana</i>	-	1.00±0.82 N=4; 75%	-	-
	<i>Glycera alba</i>	-	3.00 N=1; 100%	-	-
	<i>Neanthes caudata</i>	-	0.54±0.97 N=13; 30.8%	-	-
	<i>Scolelepis squamata</i>	-	0.63±0.74 N=8; 50%	-	-
	Bivalves				
	<i>Cerastoderma edule</i>	0.04±0.05 N=10; 90%	-	-	-
	<i>Scrobicularia plana</i>	0.03±0.02 N=10; 100%	-	-	-
	<i>Anadara Senilis</i>	-	1.00±2.55 N=20; 25%	-	-
<i>Dosinia lupinus</i>	-	1.50±1.96 N=20; 60%	-	-	
DEJETOS DE AVES	Táteis				
	<i>Calidris alpina</i>	7.79±9.86 N=39; 71.8%	6.65±7.36 N=113; 64.6%		W = 10203.00: p = 0.65
	<i>Calidris canutus</i>	-	4.60±6.01 N=29; 69.0%		-
	<i>Recurvirostra avosetta</i>	17.78±35.44 N=5; 80.0%	-	-	-
	Visuais				
<i>Arenaria interpres</i>	5.57±7.68 N=7; 71.4%	-	-	-	

<i>Numenius phaeopus</i>	-	-	0.16±0.33 N=15; 20.0%	-
<i>Charadrius hiaticula</i>	4.86±4.57 ^a N=30; 70.0%	4.95±11.36 ^b N=41; 39.0%	1.18±1.95 ^b N=29; 31.0%	H ₂ = 11.80; p < 0.01
<i>Pluvialis squatarola</i>	4.31±6.19 ^a N=26; 73.1%	-	0.54±1.04 ^b N=16; 25.0%	W = 419.00; p < 0.01
Mistas				
<i>Limosa lapponica</i>	-	1.11 N=1; 100.0%	0.66±1.07 N=22; 36.4%	-
<i>Limosa limosa</i>	2.29±2.51 N=32; 65.6%	-	-	-
<i>Calidris ferruginea</i>	-	-	3.11±3.60 N=30; 56.7%	-
<i>Tringa totanus</i>	4.08±4.94 N=28; 75.0%	-	2.81±4.07 N=8; 62.5%	W = 510.00; p = 0.34
<i>Calidris alba</i>	10.47±13.38 ^a N=59; 83.1%	5.90±7.72 ^b N=46; 54.3%	2.55±3.41 ^b N=21; 42.9%	H ₂ =14.33; p < 0.001