

# **RESSALVA**

Atendendo solicitação da autora, o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de **22/02/2028**.

**THAÍS FABIANE GOMES MARTINS**

**MICROPLÁSTICOS E CONTAMINANTES ASSOCIADOS NO  
AMBIENTE AQUÁTICO: POTENCIAIS IMPACTOS À SAÚDE DE  
PLANTAS AQUÁTICAS**

Sorocaba  
2026

**THAÍS FABIANE GOMES MARTINS**

**MICROPLÁSTICOS E CONTAMINANTES ASSOCIADOS NO  
AMBIENTE AQUÁTICO: POTENCIAIS IMPACTOS À SAÚDE DE  
PLANTAS AQUÁTICAS**

Tese de doutorado apresentada como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" na Área de Concentração Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Luiz Martins Pompêo

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Bárbara Rani Borges

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Gonçalves Queiroz

Sorocaba

2026

Dedico esta tese a pessoa que esteve ao meu lado,  
segurando a minha mão e me apoiando nesses quatro anos de doutorado,  
ao meu amor, Anderson.

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço à Universidade Estadual Paulista (Unesp), campus de Sorocaba, pelo espaço concedido para a realização deste estudo, assim como a todos os professores, bibliotecários e técnicos administrativos do Instituto de Ciência e Tecnologia com os quais tive contato ao longo destes quatro anos, e que, direta ou indiretamente, auxiliaram na conclusão desta fase da minha trajetória acadêmica.

Ao Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP), em especial ao departamento de Ecologia e ao Laboratório de Limnologia, pelo acesso à infraestrutura e pelo apoio técnico disponibilizado. Igualmente, ao Laboratório de Fitoquímica do departamento de Botânica, pelos recursos laboratoriais e suporte oferecidos.

Ao professor Dr. Marcelo Luiz Martins Pompêo, por ter me recebido com acolhimento desde o mestrado. Agradeço pela paciência, pela orientação valiosa e pelos ensinamentos tanto como professor quanto como orientador. Meu reconhecimento por ter depositado confiança neste trabalho e em minha capacidade, especialmente nos momentos em que eu própria duvidei.

A professora Dra. Cláudia Maria Furlan, do Instituto de Biociências por ter aceitado me auxiliar e orientar nas pesquisas botânicas, agradeço profundamente pelo apoio, pela atenção e pela paciência dedicados ao esclarecimento de todas as dúvidas que surgiram ao longo deste trabalho.

Ao professor Dr. Rubens Cesar Lopes Figueira, do Instituto Oceanográfico da USP, pelo auxílio nas análises, pelas reuniões realizadas e pelo apoio neste trabalho.

A professora Dra. Bárbara Rani-Borges, do Instituto de Química da USP, pela orientação e todo auxílio neste trabalho. Agradeço imensamente pela dedicação e pelo seu tempo fornecido a mim durante toda a pesquisa. Não trabalharia com microplásticos se não fosse por você, meu eterno agradecimento.

Ao professor Dr. Lucas Gonçalves Queiroz, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, pela orientação, apoio, dedicação e auxílio dado ao longo deste trabalho. Agradeço a paciência durante as correções, pelas dicas e pelos puxões de orelha. Meu eterno agradecimento.

Aos meus grandes amigos e professores Dra. Karen Ferreira e Dr. Gustavo Laranjeira por toda ajuda nesses anos e nos anteriores. A ausência de vocês no laboratório só não foi

tão sentida pois tive vocês fora dele na minha vida. Agradeço pela amizade e pelo apoio que sempre tive de vocês.

A minha psicóloga Malu, que me acompanha há anos e sabe de toda a luta que foi fazer este trabalho existir e de todas as dificuldades que tive para não desistir dele. Sei que muito provavelmente você nunca lera isso, mas agradeço sempre por ter você para conversar. Nossas sessões de terapia são um alento ao meu coração tão pesado e deprimido. Desejo que todos possam encontrar uma terapeuta e quiçá, uma amiga, como você.

Ao meu namorado, amigo, amante, Anderson, que me apoiou em todos os momentos deste trabalho. Me deu seu ombro para chorar quando eu achava que não tinha mais jeito, quando nada parecia dar certo, mas que com o seu apoio, tudo seria e será possível. Agradeço imensamente pela sua existência e por poder compartilhar a vida com você. Muito obrigada por tudo!

Agradeço a Deus por ter me dado forças para finalizar este trabalho, sem Ele não sei onde estaria. Apesar de tudo que parecia ir contra, segui firme no meu propósito.

Que este trabalho possa auxiliar outros pesquisadores e que ele contribua para novas pesquisas. A Ciência é um patrimônio coletivo, destinado a todos. O que verdadeiramente marca a diferença em uma investigação é a força da colaboração, um elemento fundamental deste estudo. Embora leve o meu nome, esta tese não é apenas minha; pertence a todos que aspiram pelo progresso e pela perpetuação da Ciência em nosso país, superando obstáculos. Persistir na carreira acadêmica nem sempre será um caminho fácil, mas é precisamente pela Ciência que resistimos e seguimos adiante. E não recuaremos.

Muito Obrigada!

*“Tudo o que temos que decidir é o que fazer com o tempo que nos é dado.”*  
J. R. R. Tolkien

## RESUMO

Microplásticos (MPs) são partículas plásticas de dimensões entre 1 µm e 1 mm, insolúveis em água, sendo classificados de acordo com muitas de suas características físico-químicas. Essas partículas acumulam-se nos ecossistemas, incluindo ambientes de água doce, essenciais para a sobrevivência humana, representando uma séria ameaça ambiental. Apesar da vulnerabilidade de diversos organismos aquáticos, muitos mecanismos de interação e efeitos tóxicos de MPs nesses ambientes, ainda são pouco investigados. Os efeitos em decorrência da combinação entre MPs e outros poluentes em macrófitas aquáticas é especialmente preocupante. Uma revisão sistemática, mapeou o estado da arte de pesquisas com MPs focadas em plantas vasculares aquáticas. Esta revisão fundamentou os experimentos subsequentes, que priorizaram polímeros amplamente produzidos, como o polietileno (PE), o policloreto de vinila (PVC) e o politereftalato de etileno (PET), e elegeu como organismos-modelo as macrófitas flutuantes *Lemna minor* e *Spirodela polyrhiza*, reconhecidas por sua sensibilidade a contaminantes e relevância ecológica. Especificamente, buscou-se avaliar os efeitos tóxicos de MPs isolados e associados a outros contaminantes na macrófita *L. minor*, utilizando MPs-PE e o fármaco medroxiprogesterona (MPA). Um teste crônico analisou os pigmentos fotossintéticos, o número de frondes e a adesão de MPs às plantas. Embora MPs e MPA não tenham afetado significativamente a taxa de crescimento ou o número de frondes, a exposição combinada reduziu os pigmentos fotossintéticos, sugerindo maior estresse causado pelo MPA. A adesão das partículas a *L. minor* indica seu potencial como via de entrada de MPs nas cadeias alimentares. A metabolômica não direcionada foi utilizada para investigar os efeitos crônicos e sutis de MPs-PVC em *S. polyrhiza*. A exposição prolongada a concentrações ambientalmente relevantes não alterou os parâmetros fisiológicos convencionais, como o conteúdo de pigmentos. No entanto, a análise do metaboloma revelou uma profunda reprogramação bioquímica na planta. Foram observadas perturbações no ciclo dos ácidos tricarboxílicos, acúmulo de aminoácidos compatíveis como prolina e ácido gama-aminobutírico, e uma remodelagem nos perfis de lipídios e compostos fenólicos. A investigação final voltou-se para a combinação de MPs-PET com íons de cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ), metal frequentemente aplicado no controle de florações de cianobactérias em corpos hídricos brasileiros. Os resultados apontaram para uma interação complexa, na qual os MPs-PET parecem modular a toxicidade do  $\text{Cu}^{2+}$  para *L. minor*, atuando potencialmente como transportadores que alteram a biodisponibilidade do metal. Esta dinâmica revela que o risco ecológico dos MPs transcende seus efeitos diretos, incluindo sua capacidade de alterar o destino e o efeito de outros contaminantes já presentes no ambiente. Ao demonstrar que esses poluentes induzem desde respostas fisiológicas mensuráveis até profundas reorganizações metabólicas, a pesquisa alerta para os riscos subletais e crônicos que podem comprometer a saúde das populações de macrófitas a longo prazo. A contaminação por MPs, especialmente em sinergia com outros poluentes, representa uma ameaça silenciosa, porém significativa, à base da sustentabilidade dos ecossistemas aquáticos continentais, sublinhando a urgência de políticas de gestão de resíduos e monitoramento ambiental que considerem essas interações complexas.

Palavras-chave: Plásticos, Água doce, Ecotoxicidade, Macrófitas, Poluentes emergentes

## ABSTRACT

Microplastics (MPs) are plastic particles with dimensions ranging from 1  $\mu\text{m}$  to 5 mm, insoluble in water, and classified as primary (directly manufactured at reduced sizes) or secondary, originating from the fragmentation of larger plastics. These particles accumulate in various ecosystems, including freshwater environments, where they undergo degradation processes; factors such as temperature, humidity, solar radiation (UV), and fragmentation influence the degradation rate. Due to their ubiquity, freshwater ecosystems, which are essential for human survival, are continuously exposed to MPs, representing a serious environmental threat. Despite the vulnerability of various aquatic organisms, many mechanisms of interaction and the toxic effects of MPs in these environments remain poorly investigated. The effects arising from the combination of MPs with other pollutants on aquatic macrophytes are particularly concerning. A systematic review mapped the state of the art and confirmed the scarcity of research focused on aquatic vascular plants. This review established the need for subsequent experiments, which prioritized widely produced and discarded polymers such as polyethylene (PE), polyvinyl chloride (PVC), and polyethylene terephthalate (PET), and selected the floating macrophytes *Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza* as model organisms, recognized for their sensitivity and ecological relevance. Specifically, the study aimed to evaluate the toxic effects of MPs alone and associated with other contaminants on the macrophyte *L. minor*, using PE-MPs ( $81.03 \pm 20.32 \mu\text{m}$ ) and the pharmaceutical medroxyprogesterone (DMPA). A seven-day chronic test analyzed photosynthetic pigments, frond number, and MP adhesion to the plants. Although MPs and DMPA did not significantly affect the growth rate or frond number, the combined exposure reduced photosynthetic pigments, suggesting increased stress caused by DMPA. The adhesion of particles to *L. minor* indicates their potential as an entry pathway for MPs into food chains. Untargeted metabolomics was employed to investigate the chronic and subtle effects of PVC-MPs on *S. polyrhiza*. Prolonged exposure to environmentally relevant concentrations did not alter conventional physiological parameters, such as pigment content. However, metabolomic analysis revealed profound biochemical reprogramming in the plant. Disruptions in the tricarboxylic acid cycle, accumulation of compatible amino acids such as proline and gamma-aminobutyric acid, and remodeling of lipid and phenolic compound profiles were observed. The final investigation focused on the combination of PET-MPs with copper ions ( $\text{Cu}^{2+}$ ), a metal frequently applied in controlling cyanobacterial blooms in Brazilian water bodies. The results pointed to a complex interaction, in which PET-MPs appear to modulate the toxicity of  $\text{Cu}^{2+}$  to *L. minor*, potentially acting as carriers that alter the metal's bioavailability. These dynamic reveals that the ecological risk of MPs extends beyond their direct effects, including their capacity to alter the fate and impact of other contaminants already present in the environment. By demonstrating that these pollutants induce measurable physiological responses as well as profound metabolic reorganizations, this research highlights the sublethal and chronic risks that may compromise the health of macrophyte populations in the long term. Aquatic macrophytes perform irreplaceable ecosystem functions. Any impairment of their vitality, whether due to reduced photosynthetic efficiency or the diversion of energy resources to stress mechanisms, can trigger cascading effects. Contamination by MPs, especially in synergy with other pollutants, represents a silent yet significant threat to the foundation of continental aquatic ecosystem sustainability, underscoring the urgency for waste management policies and environmental monitoring that consider these complex interactions.

Keywords: Plastics, Freshwater, Ecotoxicity, Macrophytes, Emerging contaminants

## LISTA DE FIGURAS

### PARTE I

- Figura 1** – A estrutura química básica do polietileno e comportamentos de reticulação do polietileno de alta densidade (PEAD) e do polietileno de baixa densidade (PEBD) ..... 26
- Figura 2** – Polimerização do radical de cloreto de vinila tratado com perácido sob pressão para obter policloreto de vinila (PVC). ..... 27
- Figura 3** – Reação de condensação do politereftalato de etileno ( $C_{10}H_8O_4$ )<sub>n</sub>, entre o etilenoglicol e o ácido tereftálico..... 29
- Figura 4** – Estrutura molecular do acetato de medroxiprogesterona..... 31

### CAPÍTULO 2

- Fig. 1** The duckweed *Lemna minor*. Numerous fronds are shown (A), and representative plants are shown in side view (B). In the representative colony of the plant, we can see the fronds (Frond), leaf-like structure, roots (Root), mother frond (MF), and daughter frond (DF). ..... 71
- Fig. 2** Experimental design for the assessment of the effect of microplastics (MPs) and medroxyprogesterone acetate, in isolated and combined treatments on the macrophyte *Lemna minor*. Both pollutants were tested individually and in combination, at two concentration levels, alongside a water control. After a 7-day exposure period, endpoints analyzed include specific growth rate, adhesion of MPs particles to the plants, as well as chlorophylls *a* and *b*, and carotenoids. .... 72
- Fig. 3** Characterization of low-density polyethylene microplastics (MPs) used in the experiments. A) Raman spectroscopy confirming polymer type. B) Particle size histogram obtained from measurement of  $n = 300$ . C) Visualization of MPs under Scanning Electron Microscopy. .... 75
- Fig. 4** Mean number of low-density polyethylene microplastics (MPs) particles adhered per *Lemna minor* individual after 7 days of exposure. Values are presented as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters indicate significant differences between treatments (Tukey test,  $p < 0.05$ )..... 76
- Fig. 5** Low-density polyethylene microplastics adhered to the roots of *Lemna minor* after 7 days of exposure. The white arrows indicate the particles adhered to the root. .... 77

**Fig. 6** Pigment content in *Lemna minor* after a 7-day exposure to low-density polyethylene microplastics and medroxyprogesterone acetate. A) chlorophyll *a*; B) chlorophyll *b* and C) carotenoids. Vertical bars indicate standard deviations for the 27 replicates and the initial sample. Different letters indicate significant differences between treatments (Tukey test,  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between treatments and control group (Dunnett test,  $p < 0.05$ ). ( $p < 0.05$ , ANOVA followed by a Dunnett and Tukey tests). ..... 81

**Fig. 7** The ratio of chlorophyll *a* to chlorophyll *b* (A) and the ratio of carotenoids to chlorophyll *a* (B) of *Lemna minor*. Different letters indicate significant differences between treatments (Tukey test,  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between treatments and control group (Dunnett test,  $p < 0.05$ ). ..... 83

**Fig. 8** Specific growth of the *Lemna minor* culture exposed to low-density polyethylene microplastics and medroxyprogesterone acetate in isolated and combined treatments for 7 days. The values are presented as mean  $\pm$  standard deviation. Different letters indicate significant differences between treatments (Tukey test,  $p < 0.05$ ). Asterisks indicate significant differences between treatments and control group (Dunnett test,  $p < 0.05$ ). ..... 84

### CAPÍTULO 3

**Fig. 1** Characterization of microplastic fragments used in the test with *S. polyrhiza*. (A) Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) confirming the type of polymer as PVC; (B) Number of PVC-MPs particles in each size range; (C) Scanning electron microscope (SEM) image of a sample of dried PVC-MPs particles. .... 103

**Fig. 2** Photosynthetic pigment content of *S. polyrhiza*. A) chlorophyll *a* (Chl *a*), B) chlorophyll *b* (Chl *b*), C) total chlorophyll (Chl total) and (D) carotenoid (Car). Photosynthetic pigments were expressed as  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  of fresh mass (FM). Equal letters indicate no significant difference, while different letters denote a significant difference between groups (two-way ANOVA followed by Fisher's LSD test,  $p \leq 0.05$ ) ns indicates no significant differences. .... 104

**Fig. 3** Lipid peroxidation measured by concentrations of conjugated diene hydroperoxide (CDHP) in *S. polyrhiza*. Lipid peroxidation was expressed as  $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ . Equal letters indicate no significant difference, while different letters denote a significant difference between groups (one-way ANOVA followed by Fisher's LSD test,  $p \leq 0.05$ ). ns indicates no significant differences. .... 106

**Fig. 4** Heat map of the analyzed metabolites grouping was applied to polar phase metabolites on 7 and 16 days of exposure of *S. polyrhiza* to different concentrations of PVC-MPs, with color from red to blue, which represents, in this order, the levels of higher and lower concentration of chemical compounds. Abbreviations used in this figure: C7 (Control, day 7), L7 (Low Microplastic, day 7), H7 (High Microplastic, day 7), C16 (Final Control, day 16), L16 (Low Microplastic, day 16) and H16 (High Microplastic, day 16). Abbreviations used in this figure: GA - Glycolic acid; AO - Oxalic acid; SUC - Succinic acid; FA - Fumaric acid; GluA - Glutaric acid; MGA - Methylglutaric acid; TA - Tartaric acid; CA - Citric acid; DHU - Dihydrouracil; Gly - Glycine; Leu - Leucine; Pro - Proline; GLU - Glutamic acid; GABA - Gamma-Amino-n-butyric acid; PA - Phosphoric acid; Glyc - Glycerol; Xyl - Xylitol; Idit - Iditol; MI - Myo-Inositol; Man - Mannose; Glu - Glucose; Fru - Fructose; BeA - Behenic acid; 2HC - 2-Hydroxychalcone; 5FQA - 5-O-Feruloylquinic acid; CQA - Caffeoylquinic acid; MT - Maltotriose; Suc - Sucrose; Tre - Trehalose; Mel - Melibiose..... 109

**Fig. 5** Heat map of the analyzed metabolites grouping was applied to apolar phase metabolites on 7 and 16 days of exposure of *S. polyrhiza* to different concentrations of PVC-MPs, with color from red to red to blue, which represents, in this order, the levels of higher and lower concentration of chemical compounds. Abbreviations used in this figure: C7 (Control, day 7), L7 (Low Microplastic, day 7), H7 (High Microplastic, day 7), C16 (Final Control, day 16), L16 (Low Microplastic, day 16) and H16 (High Microplastic, day 16). Abbreviations used in this figure: DODC12 - 1-Dodecene; DOD - Dodecane; TRID - Tridecane; PENC15 - Pentadecane; NON - Nonadecane; EICO - Eicosane; DOC - Docosane; BA - Benzoic acid; SUC - Succinic acid; MAL - Malic acid; NON-TMS - Nonanoic acid; TDE-EE - Tetradecanoic acid, ethyl ester; MYR14:0 - Myristic acid; PAL16:0 - Palmitic acid; LIN18:2 - Linoleic acid; GLN18:3 - Gamma-Linolenic acid; STE18:0 - Stearic acid; ARA20:0 - Arachidic acid; 2-MPAL - 2-Monopalmitin; 1-MPAL - 1-Monopalmitin; 2-MSTE - 2-Monostearin; PENT-C15 - Pentadecanal; TET-OH14 - 1-Tetradecanol; Glu- Glucose; MALTO - Maltotriose; SCI - scyllo-Inositol; PHY - Phytol; ODEE - Octadecyl octyl ether; TRID-C13 - 1-Tridecene; TETD-C14 - 1-Tetradecene; PEND-C15 - 1-Pentadecene; OCTD - 18-1-Octadecene; NOND-C19 - 1-Nonadecene; EICD-C20 - 1-Eicosene; HEN-C21 - 1-Heneicosene; DOCD-C22 - 1-Docosene; SIT - Sitosterol; STIG - Stigmasterol; B-SIT - Beta-Sitosterol..... 112

## CAPÍTULO 4

<b>Fig.1</b> Physical characterization of polyethylene terephthalate microplastics (PET-MPs (MPs-PET). A) Raman spectroscopy confirming polymer type. B) Fluorescence stereomicroscopy visualization of PET-MPs. C) Particle size distribution histogram of PET-MPs measured by stereomicroscopy (n = 300).....	132
<b>Fig. 2</b> Adsorption kinetics of Cu <sup>2+</sup> onto PET-MPs in three distinct adsorptive systems, namely Treatment I, culture medium water with the addition of Cu <sup>2+</sup> , Treatment II, culture medium water with the addition of Cu <sup>2+</sup> and PET-MPs, and Treatment III, culture medium water with the addition of plants, Cu <sup>2+</sup> , and PET-MPs. The data presented represent the mean ± standard deviation of three replicates per treatment (n = 3) (one-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test, <i>p</i> ≤ 0.05).....	133
<b>Fig. 3</b> Bioconcentration factor (BCF) of metal in <i>Lemna minor</i> colonies was quantified over a 7-day exposure period to polyethylene terephthalate microplastics (PET-MPs) and copper ions (Cu <sup>2+</sup> ). Asterisks indicate a significant difference between treatments and treatments using Tukey's test ( <i>p</i> ≤ 0.05).....	135
<b>Fig. 4</b> The relative growth rate (A), average specific growth rate (B), growth rate inhibition percentage (C) and mortality of <i>Lemna minor</i> was quantified over a 7-day exposure period to polyethylene terephthalate microplastics (PET-MPs) and copper ions (Cu <sup>2+</sup> ). Asterisks indicate a significant difference between treatments and the control group using Dunnett's test and different letters indicate a significant difference between treatments using Tukey's test ( <i>p</i> ≤ 0.05).....	138
<b>Fig. 5</b> <i>Lemna minor</i> fronds exposed to PET-MPs and Cu <sup>2+</sup> for seven days. (A) Control group; (B) PET-MPs treatment; (C) Cu <sup>2+</sup> treatment and (D) PET-MPs+Cu <sup>2+</sup> treatment. ....	136
<b>Fig. 6</b> Concentrations of A) Chlorophyll <i>a</i> , B) Chlorophyll <i>b</i> , C) Total Chlorophyll and D) Carotenoids in <i>Lemna minor</i> was quantified over a 7-day exposure period to polyethylene terephthalate microplastics (PET-MPs) and copper ions (Cu <sup>2+</sup> ). Asterisks indicate a significant difference between treatments and the control group using Dunnett's test and different letters indicate a significant difference between treatments using Tukey's test ( <i>p</i> ≤ 0.05).....	142
<b>Fig. 7</b> Lipid peroxidation measured by concentrations of conjugated diene hydroperoxide and malondialdehyde (MDA) in em <i>Lemna minor</i> was quantified over a 7-day exposure period to polyethylene terephthalate microplastics (PET-MPs) and copper ions (Cu <sup>2+</sup> ). Asterisks indicate a significant difference between treatments and the control group using	

Dunnett's test and different letters indicate a significant difference between treatments  
using Tukey's test ( $p \leq 0.05$ )..... 143

# LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO 1

**Tabela 1.** Estudos em laboratório sobre os efeitos dos MPs utilizando apenas uma espécie de planta aquática de água doce. .... 48

**Tabela 2.** Estudos de microplásticos isolados e em interação com contaminantes coexistentes, em espécies de macrófitas e múltiplas espécies, em experimentos em laboratório (Lab.) e em campo (Camp.), em água doce (AD) e em ambiente marinho (M).  
..... 51

## CAPÍTULO 4

**Table 1.** Classification of *Lemna minor* based on the metal tolerance index (MTI). ..... 131

**Table 2.** Observed and expected toxicity in *L. minor* following exposure to combinations of PET-MPs ( $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and  $\text{Cu}^{2+}$  ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation of three replicates. .... 137

## APÊNDICES

### APÊNDICE A

**Table S1.** List of physical-chemical parameters of water. Data were measured on day 1 and day 7. The parameters analyzed were pH, temperature, dissolved oxygen and electrical conductivity. Subtitle: water control (WC); MP concentration 1 (MPC1) at  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; and MP concentration 2 (MPC2) at  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; Pharmaceutical concentration 1 (PC1) at  $26 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  and pharmaceutical concentration 2 (PC2) at  $26 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . The combinations included (MPC1+PC2), (MPC2+PC1), (MPC1+PC1) and (MPC2+PC2). .... 157

### APÊNDICE B

**Table S1.** Physicochemical parameters of cultivation water. Data were measured on day 7 and day 16. The parameters analyzed were pH, temperature, dissolved oxygen and electrical conductivity. Distributed in the following treatments: C7 (Control, day 7), L7 (Low Microplastic, day 7), H7 (High Microplastic, day 7), C16 (Final Control, day 16), L16 (Low Microplastic, day 16) and H16 (High Microplastic, day 16). .... 159

**Table S2.** Metabolites annotated in *S. polyrhiza* analyzed via GC-MS. Class, metabolite annotated, retention time and the molecular formula of the compounds found are presented,

distributed in the following treatments: C7 (Control, day 7), L7 (Low Microplastic, day 7), H7 (High Microplastic, day 7), C16 (Final Control, day 16), L16 (Low Microplastic, day 16) and H16 (High Microplastic, day 16). ..... 165

## APÊNDICE C

**Table S1.** Physicochemical parameters of cultivation water. Data were measured on day 1 and day 7. The parameters analyzed were pH, temperature, electrical conductivity and salinity. Distributed in the following treatments: Control, PET50 ( $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), Cu II ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and PET50 + Cu II ( $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). ..... 171

**Table S2.** Adsorption kinetics of  $\text{Cu}^{2+}$  onto PET-MPs. Group Analysis Two-Way Anova followed by the multiple comparisons Tukey's test. The adjusted P values are shown. Note: ns: not significant, asterisk comparisons indicate significant difference ( $p \leq 0.05$ ). The samples were analyzed in 24 hours, the time, in minutes is presented, distributed in three treatments: Treatment A, cultivation with Cu II; Treatment B, cultivation medium with PET50 + Cu II and C Treatment, cultivation medium with the plant and PET50 + Cu II. distributed in the following treatments: Control, PET50 ( $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ),  $\text{Cu}^{2+}$  ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) and PET50 +  $\text{Cu}^{2+}$  ( $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). ..... 173

# SUMÁRIO

<b>PARTE I</b> .....	<b>21</b>
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>21</b>
<b>1 APRESENTAÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>2 OBJETIVOS GERAIS DA PESQUISA</b> .....	<b>24</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>25</b>
<b>4 CONTAMINANTES TESTADOS</b> .....	<b>25</b>
4.1 POLIETILENO (PE) .....	25
4.2 POLICLORETO DE VINILA (PVC) .....	27
4.3 POLITEREFTALATO DE ETILENO (PET).....	28
4.4 COBRE .....	29
4.5 MEDROXIPROGESTERONA.....	30
<b>6 JUSTIFICATIVA DA ESCOLHA DOS MICROPLÁSTICOS</b> .....	<b>31</b>
<b>7 ORGANISMOS-TESTE</b> .....	<b>32</b>
7.1 <i>LEMNA MINOR</i> .....	32
7.2 <i>SPIRODELA POLYRHIZA</i> .....	34
<b>8 JUSTIFICATIVA DA ESCOLHA DOS ORGANISMOS-TESTE</b> .....	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>36</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>45</b>
<b>COMPREENSÃO ATUAL E O AVANÇO DE PESQUISAS DE MICROPLÁSTICOS EM INTERAÇÃO COM PLANTAS VASCULARES AQUÁTICAS</b> .....	<b>45</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>45</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>46</b>
<b>IMPACTO DOS MPS NOS PRODUTORES PRIMÁRIOS</b> .....	<b>47</b>
<b>LEVANTAMENTO DE DADOS NA LITERATURA E INDICADORES ANALISADOS</b> .....	<b>47</b>
<b>UMA VISÃO GERAL DA LITERATURA ATUAL</b> .....	<b>49</b>
<b>ADERÊNCIA E/OU ABSORÇÃO DE MICROPLÁSTICOS EM MACRÓFITAS</b> .....	<b>54</b>
<b>EFEITOS TÓXICOS DE MICROPLÁSTICOS NA FOTOSSÍNTESE DAS PLANTAS</b> .....	<b>56</b>

<b>RESPOSTAS DE ESTRESSE DE PLANTAS A PARTÍCULAS DE PLÁSTICO: CRESCIMENTO E BIOMASSA .....</b>	<b>57</b>
<b>MÚLTIPLOS ESTRESSORES: CONTAMINANTES COEXISTENTES AUMENTAM OS RISCOS DOS MICROPLÁSTICOS? .....</b>	<b>59</b>
<b>ESTUDOS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>62</b>
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>66</b>
<b>TOXICITY OF POLYETHYLENE MICROPLASTICS COMBINED WITH MEDROXYPROGESTERONE ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS OF <i>LEMNA MINOR</i>.....</b>	<b>66</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>66</b>
<b>1 INTRODUCTION .....</b>	<b>67</b>
<b>2 MATERIAL AND METHODS .....</b>	<b>69</b>
2.1 CHARACTERIZATION AND PREPARATION OF MICROPLASTIC .....	69
2.2 PHARMACEUTICAL PREPARATION .....	70
2.3 STUDY SPECIES AND CULTIVATION .....	70
2.4 EXPERIMENTAL DESIGN .....	71
2.5 ADHESION OF MICROPLASTICS ON PLANT SURFACES .....	72
2.6 PHOTOSYNTHETIC PIGMENT DETERMINATION.....	73
2.7 GROWTH PARAMETERS .....	73
2.8 EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS.....	74
2.9 STATISTICAL ANALYSIS .....	74
<b>3 RESULTS AND DISCUSSION .....</b>	<b>74</b>
3.1 MICROPLASTIC CHARACTERIZATION .....	74
3.2 ADHESION OF MICROPLASTICS TO ENTIRE COLONIES OF <i>L. MINOR</i> .....	75
3.3 PHYTOPIGMENT ANALYSIS.....	78
3.3.1 <i>Phytopigment analysis: ratio Chl a:Chl b and CAR:Chl a .....</i>	<i>82</i>
3.4 IMPACTS OF MICROPLASTICS ON THE GROWTH .....	83
3.5 IMPLICATIONS OF THE INTERACTION BETWEEN LDPE MPs AND DPMA IN <i>L. MINOR</i> .....	85
<b>4 CONCLUSION.....</b>	<b>86</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>87</b>
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>96</b>
<b>CHRONIC EXPOSURE TO ENVIRONMENTALLY RELEVANT CONCENTRATIONS OF PVC MICROPLASTIC INDUCES METABOLOMIC IMBALANCE IN <i>SPIRODELA POLYRHIZA</i> .....</b>	<b>96</b>

<b>ABSTRACT</b> .....	<b>97</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>97</b>
<b>2 MATERIAL AND METHODS</b> .....	<b>99</b>
2.1 CHARACTERIZATION AND PREPARATION OF MICROPLASTIC .....	99
2.2 PLANT GROWTH.....	99
2.3 EXPERIMENTAL CONDITIONS .....	100
2.4 PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND LIPID PEROXIDATION .....	100
2.5 METABOLOMIC ANALYSIS .....	101
2.6 QUALITY ASSURANCE AND CONTROL .....	102
2.7 STATISTICAL ANALYSIS .....	102
<b>3 RESULTS AND DISCUSSION</b> .....	<b>102</b>
3.1 MICROPLASTIC CHARACTERIZATION .....	102
3.2 PIGMENT CONCENTRATIONS AND LIPID PEROXIDATION .....	103
3.3 HIERARCHICAL CLUSTER ANALYSIS.....	106
<b>4 CONCLUSION</b> .....	<b>112</b>
<b>REFERENCES</b> .....	<b>113</b>
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>123</b>
<b>IMPACT OF COMBINED POLYETHYLENE TEREPHTHALATE MICROPLASTICS AND CU (II) ON THE HEALTH OF THE MACROPHYTE <i>LEMNA MINOR</i></b> .....	<b>123</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>123</b>
<b>1 INTRODUCTION</b> .....	<b>123</b>
<b>2 MATERIALS AND METHODS</b> .....	<b>125</b>
2.1 PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF MICROPLASTIC FRAGMENTS .....	125
2.2 PLANT MATERIAL .....	126
2.3 PREPARATION OF STOCK SOLUTIONS AND COPPER ADSORPTION PROCEDURE .....	126
2.3.1 <i>Cu<sup>2+</sup> adsorption experiments</i> .....	127
2.3.2 <i>Combined treatment toxicity of PET-MPs and Cu<sup>2+</sup></i> .....	128
2.4 EXPERIMENTAL DESIGN .....	128
2.5 GROWTH PARAMETERS .....	129
2.6 ENDPOINTS EVALUATED .....	129
2.6.1 <i>Determination of photosynthetic pigment and lipid peroxidation</i> .....	129
2.6.2 <i>Determination of malondialdehyde</i> .....	130
2.8 ACCUMULATION AND BIOCONCENTRATION OF COPPER IN PLANTS .....	130
2.9 QUALITY CONTROL PROCEDURES IMPLEMENTED IN THE STUDY .....	131

2.10 STATISTICAL ANALYSIS .....	131
<b>3 RESULTS AND DISCUSSION .....</b>	<b>132</b>
3.1 PET-MPs CHARACTERIZATION .....	132
3.2 ADSORPTION BEHAVIOR OF Cu <sup>2+</sup> IN PET-MPs .....	132
3.3 BIOCONCENTRATION FACTOR (BCF) AND METAL TOLERANCE INDEX IN <i>L. MINOR</i> .....	134
3.4 COMBINED TREATMENT TOXICITY OF PET-MPs AND Cu <sup>2+</sup> .....	136
3.5 GROWTH RATE, INHIBITION AND MORTALITY .....	137
3.6 PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS .....	141
3.7 LIPID PEROXIDATION .....	142
<b>4 CONCLUSION .....</b>	<b>143</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>144</b>
<b>PARTE II .....</b>	<b>152</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>152</b>
<b>RELEVÂNCIA ECOLÓGICA DA PESQUISA .....</b>	<b>153</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>155</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>155</b>
SUPPLEMENTARY MATERIAL – MARTINS ET AL., (2025) .....	155
<b>ENHANCED TOXICITY OF POLYETHYLENE MICROPLASTICS COMBINED WITH MEDROXYPROGESTERONE ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENT OF <i>LEMNA MINOR</i> .....</b>	<b>155</b>
<i>LEMNA MINOR</i> AND CULTIVATION .....	155
<b>REFERENCES .....</b>	<b>156</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>158</b>
<b>CHRONIC EXPOSURE TO ENVIRONMENTALLY RELEVANT CONCENTRATIONS OF PVC MICROPLASTIC INDUCES METABOLOMIC IMBALANCE IN <i>SPIRODELA POLYRHIZA</i> .....</b>	<b>158</b>
<b>MEASUREMENT OF PHYSICOCHEMICAL PARAMETERS OF CULTIVATION WATER .....</b>	<b>158</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>160</b>
<b>TEXT SUPPLEMENTARY 1 .....</b>	<b>161</b>
<b>COMPLEMENT OF THE METABOLOMIC ANALYSIS METHODOLOGY .....</b>	<b>161</b>
<b>REFERENCES .....</b>	<b>163</b>
<b>TEXT SUPPLEMENTARY 2 .....</b>	<b>164</b>
<b>CONVERSION OF PARTICLE NUMBER TO MASS CONCENTRATION .....</b>	<b>164</b>

<b>PROFILE OF METABOLITES OF <i>S. POLYRHIZA</i></b> .....	<b>165</b>
<b>APÊNDICE C</b> .....	<b>168</b>
<b>IMPACT OF COMBINED POLYETHYLENE TEREPHTHALATE MICROPLASTICS AND CU (II) ON THE HEALTH OF THE MACROPHYTE <i>LEMNA MINOR</i></b> .....	<b>168</b>
<b>CU<sup>2+</sup> ADSORPTION EXPERIMENTS</b> .....	<b>168</b>
<b>ACCUMULATION AND BIOCONCENTRATION OF COPPER IN PLANTS</b> .....	<b>168</b>
<b>COMBINED TREATMENT TOXICITY OF PET-MPS AND CU<sup>2+</sup></b> .....	<b>168</b>
<b>GROWTH PARAMETERS</b> .....	<b>169</b>
<b>DETERMINATION OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENT</b> .....	<b>170</b>
<b>MEASUREMENT OF PHYSICAL-CHEMICAL PARAMETERS OF CULTIVATION WATER</b> ...	<b>170</b>
<b>REFERENCES</b> .....	<b>172</b>

## PARTE I

### INTRODUÇÃO GERAL

#### 1 APRESENTAÇÃO

Os plásticos são polímeros compostos de longas cadeias moleculares constituídas por unidades repetitivas, denominadas monômeros, conectadas por ligações químicas (Shaji et al., 2024). Esses polímeros, classificados com base em sua composição, são amplamente comercializados no mercado global. Sua popularidade está associada a propriedades como alta versatilidade, ampla disponibilidade, composição diversificada e custo relativamente baixo, o que os torna adequados para inúmeras aplicações (Fakayode et al., 2024).

Estima-se que em 2040, a humanidade tenha uma produção e utilização anual de 736 milhões de toneladas (Mt) de plástico (OECD, 2024), com destaque para o uso predominante de produtos descartáveis (Lim e Thian, 2022; Walker e Fequet, 2023). Devido à baixa taxa de degradação desses materiais, ao grande volume descartado e à insuficiência de esforços para sua eliminação, aproximadamente 9 Mt de resíduos plásticos serão acumulados anualmente em lagos, rios e oceanos até 2040 (OECD, 2024).

Contudo, materiais constituídos por polímeros plásticos, como polietileno (PE), polipropileno (PP), tereftalato de polietileno (PET) e outros, têm gerado preocupações globais devido ao impacto ambiental causado pelo acúmulo desses materiais no ambiente aquático (Fakayode et al., 2024). Os microplásticos (MPs), partículas plásticas de morfologia diversa com tamanho variando de 0,1  $\mu\text{m}$  até 1 mm, constituem uma das principais preocupações acerca da poluição plástica (Rani-Borges e Ando, 2024). Quando fabricadas intencionalmente, estas partículas são denominadas MPs primários. No ambiente, itens plásticos podem se fragmentar e/ou degradar, resultando na liberação de MPs secundários. Estas partículas estão amplamente distribuídas nos ecossistemas aquáticos e podem atuar como estressores para a biota associada, resultando em impactos fisiológicos, bioquímicos e ecológicos em organismos que interagem com esses poluentes (Martins et al., 2025; Rani-Borges e Ando, 2024).

Entre os organismos potencialmente afetados, as plantas aquáticas desempenham um papel fundamental nos ecossistemas de água doce, contribuindo para a estabilidade ambiental e a purificação da água (Pompêo, 2017). No entanto, essas plantas estão cada vez

mais expostas ao estresse causado por MPs e poluentes associados, como metais potencialmente tóxicos e fármacos. A literatura científica sobre os impactos dos MPs em organismos autotróficos de água doce ainda é limitada. O primeiro registro sobre os efeitos negativos da interação de MPs com plantas flutuantes de água doce foi realizado por Kalčíková et al. (2017). Nesse estudo, observou-se que microesferas de PE (30–600  $\mu\text{m}$ ), provenientes de produtos cosméticos, foram adsorvidas na superfície das raízes de *Lemna minor*, causando bloqueio mecânico que resultou na redução do comprimento das raízes. Em outro estudo, Rozman et al. (2021) investigaram a exposição de *L. minor* a fragmentos de PET ( $211,8 \pm 51,7 \mu\text{m}$ ) e concluíram que não houve impacto na taxa de crescimento da planta, significando que os MPs não causaram qualquer alteração significativa nesse parâmetro fisiológico. Esses achados aparentemente divergentes evidenciam que os efeitos dos MPs dependem de suas características físico-químicas e que a análise restrita a um único parâmetro pode não revelar a complexidade das interações em cenários ambientalmente relevantes.

Para além dos efeitos isolados, os MPs podem atuar como vetores de poluentes, aumentando a sua toxicidade (Zhang et al., 2020; Zhou et al., 2019). Esse fenômeno ocorre devido às propriedades de adsorção dos MPs, que permitem a ligação de compostos tóxicos na sua superfície, amplificando os efeitos negativos sobre os organismos expostos (Yang et al., 2022; Deng et al., 2020). A exposição combinada de MPs e outros produtos químicos presentes no ambiente pode resultar em efeitos adversos, incluindo a redução da taxa de crescimento, danos oxidativos em diversas espécies (Pompêo et al., 2022) e alterações na síntese de pigmentos fotossintéticos em plantas aquáticas (Yang et al., 2023). Esses efeitos são evidentes em estudos com *L. minor*, que demonstram a capacidade dos MPs de interagir com xenobióticos, promovendo estresse oxidativo e impacto nos sistemas antioxidantes (Zhang et al., 2022; Prokić et al., 2019). Além disso, a toxicidade combinada de MPs e metais, como cobre e chumbo, tem sido amplamente reportada, destacando a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre esses efeitos em ecossistemas de água doce (Deng et al., 2020; Zhou et al., 2022).

Neste contexto, compreender como MPs e outros poluentes atuam em conjunto nas macrófitas é um passo fundamental para dimensionar os riscos ambientais envolvidos. A relevância desse entendimento extrapola o âmbito acadêmico, gerando conhecimento crítico para a sociedade, orientando a criação de políticas eficazes e sustentando práticas de manejo que preservem a saúde das plantas aquáticas e a capacidade de recuperação dos ecossistemas diante de ameaças ambientais cada vez maiores.

O presente documento encontra-se estruturado em duas Partes (Parte I e Parte II) e quatro Capítulos. A primeira parte (Parte I) apresenta a introdução geral ao tema, objetivos e justificativa da pesquisa. O capítulo 1 abrange uma revisão, enquanto nos capítulos 2 e 3 são apresentados os trabalhos experimentais desenvolvidos no laboratório. O documento é finalizado na Parte II com a apresentação das considerações finais. Os capítulos apresentados neste documento incluem o conteúdo integral de um capítulo de livro (Cap. 1) previamente publicado (Martins e Pompêo, 2022), um artigo científico já publicado (Cap. 2) (Martins et al., 2025), um artigo em fase de revisão em periódico científico (Cap. 3) e um artigo em preparação para submissão (Cap. 4).

No **Capítulo 1**, por meio de uma revisão, é abordada a crescente preocupação com a contaminação por MPs em ecossistemas aquáticos e seus efeitos sobre plantas vasculares aquáticas. Embora a presença de MPs em ambientes aquáticos seja amplamente reconhecida, os estudos focados na interação desses poluentes com plantas vasculares aquáticas ainda são limitados. O capítulo enfatiza a necessidade de pesquisas que investiguem como os MPs afetam a fisiologia, o crescimento e a reprodução dessas plantas, considerando a sua importância ecológica na manutenção da qualidade da água e na estabilidade dos ecossistemas aquáticos.

No **Capítulo 2**, é apresentada a investigação dos efeitos tóxicos de microplásticos de polietileno (MPs-PE) combinados com o fármaco medroxiprogesterona (MPA), uma progesterona, nos pigmentos fotossintéticos de *L. minor*. Partindo da hipótese que os MPs associados a outros contaminantes podem ser mais tóxicos, analisa-se a redução dos teores de clorofila, sugerindo maior estresse nas plantas devido à presença do fármaco. Além disso, espera-se entender que a presença de outro contaminante combinado aos MPs indica uma interação que potencializa a toxicidade. Este capítulo destaca a importância de avaliar os efeitos combinados de microplásticos e contaminantes emergentes em plantas aquáticas, considerando suas interações e impactos na saúde dos ecossistemas.

No **Capítulo 3**, investigou-se os efeitos da exposição crônica a concentrações ambientalmente relevantes de microplásticos de policloreto de vinila (MPs-PVC) sobre o metaboloma de *Spirodela polyrhiza*. Partiu-se da hipótese de que, mesmo em concentrações realistas, os MPs-PVC induziriam uma reprogramação metabólica detectável, sem necessariamente afetar marcadores fisiológicos convencionais, como os pigmentos fotossintéticos. Além disso, buscou-se demonstrar que a metabolômica é uma ferramenta sensível para identificar respostas subletais e adaptativas em plantas aquáticas sob estresse, preenchendo uma lacuna nos estudos de ecotoxicologia vegetal. Este trabalho destaca a

importância de integrar abordagens ômicas para uma avaliação mais abrangente dos impactos de poluentes emergentes, fornecendo *insights* sobre os mecanismos de resiliência e os possíveis distúrbios metabólicos que podem comprometer a homeostase das plantas em ecossistemas contaminados.

No **Capítulo 4**, a associação do MPs a outro contaminante foi aplicada ao cobre (Cu). O Cu é um dos metais mais presentes nos reservatórios brasileiros, especialmente, no Estado de São Paulo, devido ao uso recorrente da aplicação de sulfato de cobre nos corpos d'água para minimizar as florações de cianobactérias (Leal et al., 2018). A partir de concentrações ambientalmente relevantes de MPs de politereftalato de etileno (PET-MPs) e íons de  $\text{Cu}^{2+}$ , o capítulo visa compreender os impactos bioquímicos e fisiológicos que estes contaminantes isolados e combinados, podem causar à planta *L. minor*, e quais as possíveis implicações que está associação pode ter no ecossistema aquático.

## PARTE II

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente tese investigou os potenciais impactos de microplásticos (MPs), isolados e em combinação com outros contaminantes ambientais, sobre a saúde de macrófitas aquáticas, com foco em *Lemna minor* e *Spirodela polyrhiza*. A pesquisa, estruturada em quatro capítulos, integrou revisão bibliográfica, experimentos ecotoxicológicos clássicos e abordagens ômicas, oferecendo uma visão abrangente e multinível sobre as interações entre esses poluentes emergentes e os produtores primários de ecossistemas de água doce.

O Capítulo 1 forneceu o embasamento teórico, evidenciando a escassez de estudos sobre os efeitos de MPs em plantas vasculares aquáticas, especialmente em cenários de contaminação combinada. A revisão destacou a predominância de pesquisas com poliestireno (PS) e a necessidade crítica de investigações com polímeros abundantes no ambiente, como polietileno (PE), politereftalato de etileno (PET), policloreto de vinila (PVC) e polipropileno (PP), além da avaliação de múltiplos estressores. Esta lacuna justificou e direcionou os experimentos subsequentes.

O Capítulo 2 avaliou a interação entre microplásticos de polietileno (MPs-PE) e o fármaco medroxiprogesterona (MPA) em *L. minor*. Os resultados demonstraram que, embora os tratamentos não tenham afetado significativamente a taxa de crescimento, houve uma redução significativa nos teores de clorofila *b* e alterações nas razões pigmentares, indicando estresse fotossintético subletal, principalmente associado à presença do fármaco. Os resultados obtidos foram obtidos, em alguns casos, em tais níveis, mostrando que efeitos tóxicos são prováveis de ocorrer em locais contaminados reais. A combinação desses dois fatores ressalta a importância ecológica deste estudo. Além disso, é possível dizer que este é o primeiro estudo sobre o de MPA em espécies de *L. minor*. A significativa adesão de MPs às raízes da planta confirmou o papel das macrófitas como potenciais sumidouros e vetores de entrada dessas partículas para as cadeias alimentares aquáticas.

O Capítulo 3 avançou na compreensão dos impactos sutis, utilizando uma abordagem metabolômica para avaliar os efeitos de microplásticos de policloreto de vinila (PVC-MPs) em *S. polyrhiza*. Os resultados revelam que mesmo na ausência de alterações significativas nos pigmentos fotossintéticos ou no crescimento, a exposição crônica a concentrações ambientalmente relevantes induziu uma reprogramação metabólica profunda. Perturbações no ciclo do ácido tricarbóxico, acúmulo de aminoácidos relacionados ao estresse (como prolina

e GABA) e remodelagem de lipídios e compostos fenólicos indicaram que a planta mobiliza mecanismos de defesa e adaptação bioquímica para manter a homeostase, evidenciando um impacto subletal que não seria detectado por métodos tradicionais.

Por fim, o Capítulo 4 investigou a interação entre MPs e PET e o metal cobre (Cu), um cenário comum em reservatórios brasileiros devido ao uso de sulfato de cobre como algicida. Os resultados sugerem uma interação complexa, onde os MPs-PET podem atuar como transportadores, potencialmente modulando a biodisponibilidade e toxicidade do Cu para *L. minor*.

Os objetivos gerais e específicos desta pesquisa foram amplamente alcançados:

1. Foram avaliados e confirmados os efeitos da exposição a diferentes MPs (PE, PVC, PET) em *L. minor* e *S. polyrhiza*, com alterações detectadas tanto em parâmetros fisiológicos (pigmentos) quanto bioquímicos (metaboloma).
2. Os impactos combinados de MPs com outros poluentes (MPA e Cu) foram investigados, revelando que as interações podem ser antagônicas, sinérgicas ou desencadear respostas de estresse específicas, dependendo da natureza dos contaminantes.
3. Mecanismos de interação como a adesão de MPs às plantas e sua potencial relevância como vetores de contaminantes foram identificados e discutidos.
4. Os efeitos crônicos foram avaliados no Capítulo 3, demonstrando que exposições prolongadas a concentrações ambientalmente relevantes induzem respostas adaptativas em nível metabólico, mesmo na ausência de toxicidade aguda.
5. A pesquisa contribui significativamente para a avaliação de riscos ambientais, fornecendo dados robustos sobre os efeitos subletais e as complexas interações que microplásticos e contaminantes associados podem desencadear em produtores primários.