

Eixo Temático ET-09-019 - Biologia Aplicada

MICROBIOTA DE *Anomalocardia flexuosa* LINNAEUS, 1767 (BILVALVIA: VENERIDAE) COMO BIOINDICADORA DA QUALIDADE AMBIENTAL

Carlos Henrique de Vasconcelos Nascimento, Rafael Pereira da Silva,
Ivo Raposo Gonçalves Cidreira Neto, Tulíbia Laurindo Silva,
Norma Buarque Gusmão, Gilberto Gonçalves Rodrigues

Laboratório de Avaliação, Recuperação e Restauração de Ecossistemas Aquáticos- ARRE
Água, Centro de Biociências – Universidade Federal de Pernambuco, *Campus Recife*

RESUMO

Os ecossistemas de manguezais são um dos mais diversos entre os ecossistemas marinhos, estuários são berçários naturais de diversas espécies e são caracterizados como ecossistema de transição. Por sua riqueza e proximidade a comunidade ribeirinhas apresenta diversos usos, desde recursos vegetais como animais. No geral peixes, moluscos e crustáceos são os táxons mais explorados nestes ambientes. Com a degradação ambiental e o uso não sustentável destes recursos, além da poluição por efluentes domésticos e de suma importância a investigação de possíveis impactos nesta fauna, buscando evitar doenças ocasionadas por organismos impróprios para consumo. Assim a utilização de bioindicadores se apresenta como método de rápida reposta ideal para investigação da microbiota destes indivíduos. *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767; família Veneridae) comumente chamado de marisco, é um molusco filtrador altamente explorado em estuários da região Nordeste, pela sua ampla distribuição, fácil coleta e sensibilidade a variações ambientais são sensores biológicos ideais para estudos de curto prazo. Assim o objetivo do presente estudo é investigar a presença de microrganismos (fungos e bactérias) em mariscos do Estuário do Rio Paraíba do Norte, e seu potencial bioindicador da qualidade ambiental. Os indivíduos foram coletados no Estuário do Rio Paraíba do Norte, município de Bayeux – Paraíba, dividido em pequenos e grandes segundo a orientação dos populares. Passaram por um método de higienização para evitar contaminação e seus pedaços foram semeados em placas de Petri com meios de cultura. Foram encontrados 5 morfoespecies de bactérias e 13 morfoespecies de fungos. O presente estudo mostra inovação na utilização de molusco para identificação de possíveis microrganismos patogênicos. Se faz necessários mais estudos que busquem a identificação em nível específico destes indivíduos para avaliar a sua influência na saúde ambiental.

Palavras-chave: Marisco, Bayeux, fungos, bactérias, saúde ambiental

INTRODUÇÃO

O manguezal é caracterizado como um ecossistema costeiro e de transição entre o ambiente marinho e de água doce, encontrados em regiões tropicais e subtropicais, sofrendo forte influência da variação da maré e contendo alta diversidade de organismos (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995). Estes ecossistemas apresentam alta complexidade, devido aos processos de adaptação dos organismos, e elevada diversidade biológica. Devido à presença e abundância de recursos faunísticos, os manguezais são explorados a décadas como importante fonte econômica, principalmente para comunidades tradicionais e ribeirinhas (MENDONÇA; KATSURAGAWA, 2001), e quando a exploração é realizada de forma artesanal pode ser considerada uma atividade sustentável. Peixes, moluscos e crustáceos são os principais recursos explorados nos manguezais por pescadores artesanais.

As populações que vivem próximo aos manguezais dependem dos seus recursos para finalidade econômica, e apresentam amplo conhecimento acerca dos recursos bióticos e abióticos do local (ALVES; NISHIDA, 2002; NISHIDA et al., 2004). Os pescadores passam o

dia no manguezal agregando um conhecimento empírico como em relação a variação da maré, locais com maior abundância dos recursos utilizado-se ecologia e biologia das espécies.

Um dos problemas que envolve os manguezais é a degradação ambiental, principalmente pela poluição através do lançamento de esgotos domésticos e efluentes industriais, prejudicando a qualidade do produto pescado na localidade. Identificar os microrganismos presentes nos moluscos refletem na segurança alimentar, inviabilizando a venda se encontrado algum índice de infecção (NETO et al., 2016). Os moluscos em contato dejetos domésticos podem ser veiculadores de doenças e parasitas, como no caso da Salmonella (AMAGLIANI et al., 2011).

O marisco *Anomalocardia flexuosa* (Linnaeus, 1767; família Veneridae) apresenta ampla distribuição na costa da América do Sul, Mar do Caribe e Golfo do México, além de registro na Jamaica segundo o Catalogue of Life (2017), tendo diversos sinônimos (e. g. *A. brasiliana* (Gmelin, 1791); *A. rugosa* Schumacher, 1817; *Cytherea flexuosa* Lamarck, 1818; *C. lunularis* Lamarck, 1818; *Venus brasiliana* Gmelin, 1791; *V. flexuosa* Linnaeus, 1767; *V. punctifera* G. B. Sowerby II, 1853). *A. flexuosa* apresenta grande potencial bioindicador, por se tratar de um indivíduo de ampla distribuição, fácil coleta e identificação e por seu hábito filtrador, que permite o reconhecimento de possíveis patógenos presentes nos ecossistemas estuarinos.

Bioindicadores, são indicadores ambientais sensíveis as alterações ambientais. São utilizados principalmente em monitoramentos ambientais, as principais técnicas utilizadas são protocolos de avaliação, índices biológicos e multimétricos, tendo como base a utilização de organismos para avaliação da saúde ambiental. Exemplos de organismos bons bioindicadores são organismo com alta diversidade e distribuição, de fácil coleta, identificação, sensíveis a variações ambientais.

A microbiota exerce um papel muito importante na defesa e manutenção da maioria dos seres vivos, está intimamente relacionada com a defesa contra invasores, contra infecções e auxilia na digestão de inúmeros recursos (SILVA, 2012). O dinâmico equilíbrio simbiótico pode deslocar-se na direção do estado mórbido parasítico/patogênico se as defesas do hospedeiro estão comprometidas com um simultâneo aumento da suscetibilidade do hospedeiro ao estabelecimento da infecção (BURTON; ENGELKIRK, 1998). Assim o objetivo do presente estudo é investigar a presença de microrganismos (fungos e bactérias) em mariscos do Estuário do Rio Paraíba do Norte, e seu potencial bioindicador da qualidade ambiental.

METODOLOGIA

Caracterização da área

O Município de Bayeux (Figura 1) está localizado no litoral do Estado da Paraíba, Nordeste do Brasil, apresentando uma área total de 32km² e aproximadamente 100 mil habitantes (IBGE, 2010). Devido a sua proximidade com a capital João Pessoa, o município é conhecido como “cidade-dormitório”, visto que parte de sua população realiza migração pendular para trabalhar. Atualmente existem 15 bairros, sendo eles: Alto da Boa Vista, Baralho, Brasília, Centro, Comercial Norte, Imaculada, Manguinhos, Jardim Aeroporto, Jardim São Severino, Jardim São Vicente, Mário Andreazza, Rio do Meio, São Bento, Sesi, Tambay.

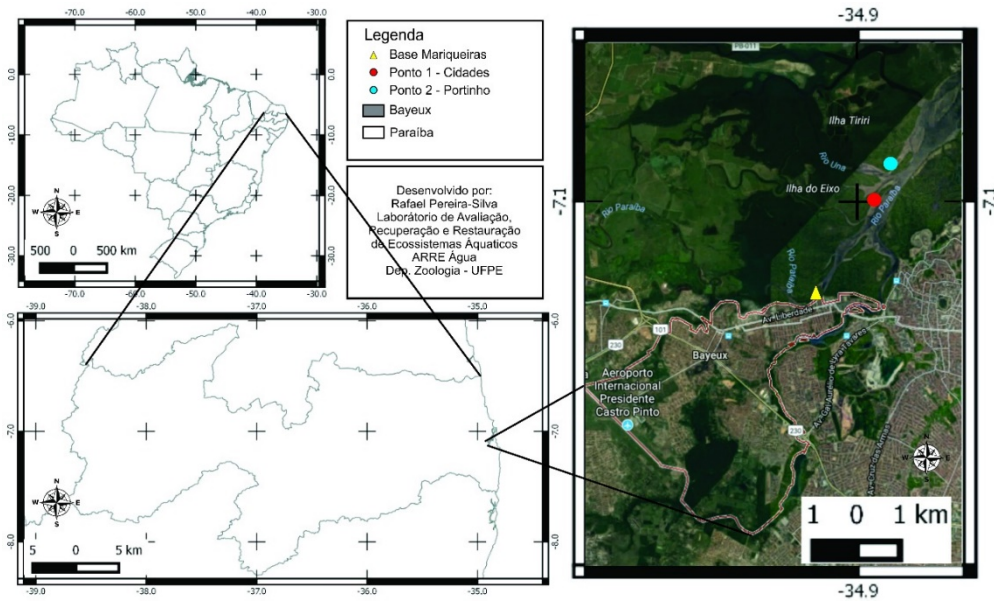


Figura 1. Localização e uso do solo no município de Bayeux, Paraíba. Fonte: SILVA et al. (2012).

A pesca artesanal é uma atividade presente em Bayeux, principalmente pela proximidade com os rios Sanhauá e Paraíba do Norte, que configuram o segundo maior estuário da Paraíba. A vegetação presente no estuário apresenta diversos estágios de degradação, principalmente nas proximidades das cidades, devido a poluição ocasionada pelo esgoto doméstico que é lançado no rio. Os principais recursos faunísticos explorados são as ostras (*Crassostrearhizophorae*, GUILDING, 1828), caranguejos (*Ucidescordatus*, LINNAEUS, 1763), mariscos (*Anomalocardia flexuosa*, LINNAEUS, 1767), unha de velho (*Tagelusplebeius*, LIGHTFOOT, 1786) e sururu (*Mytella guyanensis guyanensis*, LAMARCK, 1819), utilizando tanto as áreas de mangue quanto as croas (banco areno-lodoso) encontrados no estuário (MARCELINO et al., 2005).

Coleta e análise de dados

Foram coletados indivíduos em duas croas do estuário do Rio Paraíba, a primeira denominada (P1- Cidades), foi relatada pelos populares como área amplamente utilizada para a atividade extrativista de marisco, a segunda denominada (P2 – Portinho) apresenta menor atividade segundo as marisqueiras. A coleta de mariscos (*A. flexuosa*) foi realizada com auxílio das marisqueiras residentes em Bayeux, os indivíduos foram coletados através de coleta manual e/ou com auxílio de gadanho e puçá (Figura 2) e separados em duas classes de tamanho pequeno e grande, de acordo com orientação dos populares (Figura 3). O gadanho e puçá são instrumentos comumente utilizados nesta atividade. Além dos mariscos, foram coletados através de escavação e coleta manual indivíduos sururu (*M. guyanensis*), apenas da segunda área (P2) devido a disponibilidade do material. Após a coleta, os indivíduos foram separados lavados, alocados em sacos plásticos e levados a laboratório.



Figura 2. Instrumentos utilizados na coleta do marisco. A. Gadanhô. B. Puçá. **Fonte:** Autores, 2017.

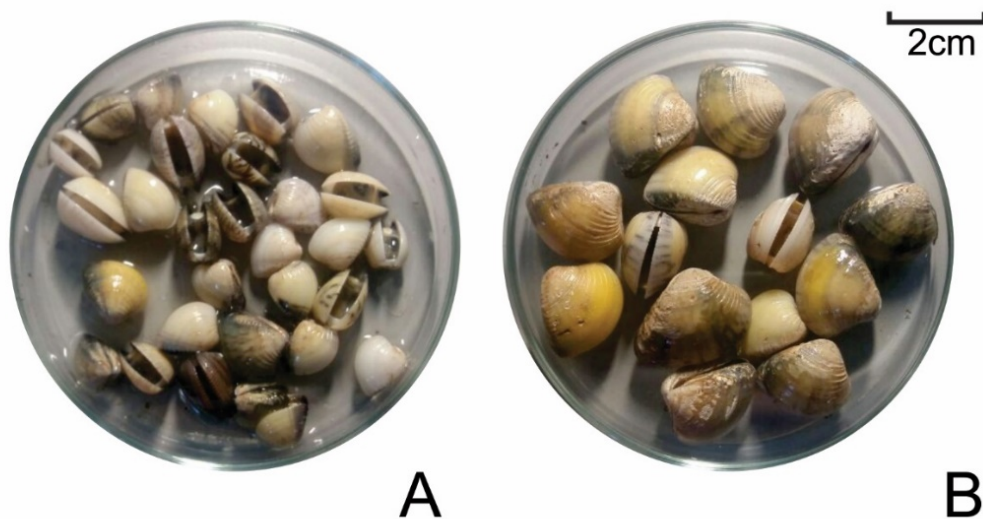


Figura 3. Marisco *A. flexuosa*. A. Grandes. B. Pequenos.

No Laboratório Microbiologia, sob responsabilidade da Prof. Dr. Norma Gusmão, foi realizada a preparação de dois tipos de meio de cultura para análise fúngica e bacteriana, para o crescimento dos fungos foi utilizado o meio Ágar Sabouraud (SAB) composto por 40g destrose (glicose), 10g peptona, 20g ágar, 1L de água destilada. Para crescimento de bactérias foi utilizado o meio Ágar Müeller-Hinton, em sua formula industrial. Os dois meios de cultura foram tamponados e levados até a autoclave para esterilização, e em seguida acomodação em placas de Petri.

Após a preparação do meio, foi realizada a abertura da “concha” dos indivíduos com auxílio de peças e bisturi, evitando o corte do tecido mole, os indivíduos foram imergidos em solução hipoclorito de sódio em uma concentração de 3% por um minuto, procurando eliminar quaisquer contaminante da amostra, em seguida os indivíduos foram lavados com uma solução de água destilada esterilizada, afim de se retirar os resíduos do hipoclorito de sódio em três séries de um minuto (Figura 4).



Figura 4. Esquema do procedimento metodológico.

RESULTADOS

Para questão controle a teceria água destilada utilizada no processo de higienização foi utilizada para certificar que todos os fungos e bactérias que colonizassem o meio eram provenientes da microbiota, em todas as placas semeadas com água não houve crescimento de nenhum microorganismo eliminando a possibilidade de contaminação (Figura 5).



Figura 5. Placas com meio Müller-Hinton e Saboroud controle.

Bactérias

Foram identificados cinco morfoespécies (ME) de bactérias, sendo três presentes nos mariscos de P1, quatro presentes nos mariscos de P2, e apenas uma nos sururus de P1. Foram encontrados para os mariscos pequenos as ME 1, 2, 4 e 5, sendo 4 e 5 exclusivas dos mariscos pequenos P2. Para mariscos grandes foram encontradas três ME (1,2 e 3) sendo ME3 exclusiva desta amostra. Para os sururus foram identificadas apenas uma MF (1) sendo está a mais abundante, presente em todos os dois pontos de coleta e em ambas as espécies de bivalves (Tabela 1; Figura 6).

Tabela 1. Morfoespécies identificadas de bactérias presentes na microbiota de bivalves do Estuário do Rio Paraíba do Norte cultivadas em meio de cultura Müller-Hinton. ME - Morfoespécie.

	<i>Morfoespécie</i>				
	ME - 1	ME - 2	ME - 3	ME - 4	ME - 5
<i>Marisco pequeno – P1</i>					
Placa 1	X	-	-	-	-
Placa 2	X	-	-	-	-
Placa 3	X	-	-	-	-
<i>Marisco pequeno – P2</i>					
Placa 1	X	X	-	-	-
Placa 2	-	X	-	X	X
Placa 3	X	-	-	X	-
<i>Marisco grande – P1</i>					
Placa 1	X	X	-	-	-
Placa 2	X	X	-	-	-
Placa 3	-	X	X	-	-
<i>Sururu – P1</i>					
Placa 1	X	-	-	-	-
Placa 2	X	-	-	-	-
Placa 3	X	-	-	-	-

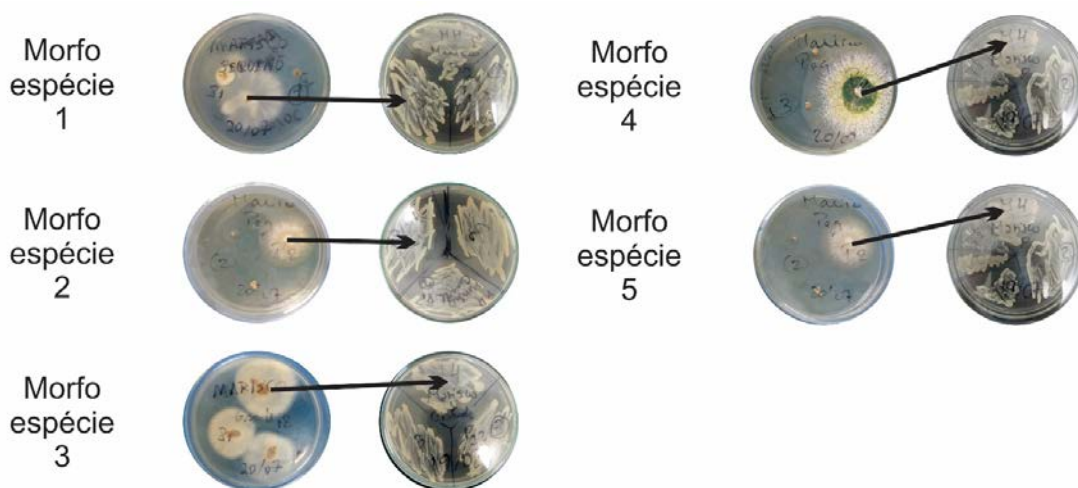


Figura 6. Morfoespécies de bactérias

Fungos

Foram identificados treze morfoespécies (ME) de fungos, sendo sete presentes nos mariscos de P1, três presentes nos mariscos de P2, e sete nos sururus de P1. Foram encontrados para os mariscos pequenos as ME 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 12, sendo 6 e 12 exclusivas dos mariscos pequenos P1, 5 exclusiva dos mariscos pequenos P2. Para mariscos grandes foram encontradas quatro ME (2, 3, 4 e 13). Para os sururus foram identificadas o maior número de MF (7), sendo elas ME 1, 2, 4 e 8, 9, 10, 11, as últimas exclusivas desses indivíduos (Tabela 2; Figura 6).

Tabela 2. Morfoespécies identificadas de fungos presentes na microbiota de bivalves do Estuário do Rio Paraíba do Norte cultivadas em meio de cultura Saboroud. ME - Morfoespécie.

	Morfoespécie												
	ME 1	ME 2	ME 3	ME 4	ME 5	ME 6	ME 7	ME 8	ME 9	ME 10	ME 11	ME 12	ME 13
<i>Marisco pequeno – P1</i>													
Placa 1	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-
Placa 2	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-
Placa 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Marisco pequeno – P2</i>													
Placa 1	-	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
Placa 2	-	-	X	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-
Placa 3	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Marisco grande – P1</i>													
Placa 1	-	-	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Placa 2	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X
Placa 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sururu – P1</i>													
Placa 1	X	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Placa 2	X	-	-	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-
Placa 3	X	X	-	X	-	-	-	X	X	-	X	-	-



Figura 7. Morfoespécies de fungos.

DISCUSSÃO

Como previsto as placas controle com água não foram colonizadas, demonstrando que não houve contaminação, nem pelo manuseio nem pela microbiota presente na parte externa do organismo.

Bactérias

A ME1 por estar presente em todos os tratamentos, em ambas as espécies de bivalves e em ~80% das réplicas, possivelmente é uma espécie comum da microbiota de moluscos, que pode apresentar baixo, ou nenhum risco a saúde ambiental. A ME3 espécie exclusiva de mariscos grandes, e deve ser absorvida com a alimentação e maturação dos jovens para adultos, porém das três réplicas, está presente em apenas uma. Como citado anteriormente o P2 – Portinho apresenta maior grau de interferência antrópica (por estar mais próxima da comunidade) e por isso os organismos daquela croa apresentam duas morfoespécies exclusivas, que devem ser identificadas a menor nível taxonômico e investigadas para se avaliar a sua influência na saúde ambiental desta localidade.

Fungos

As ME 1, 2, 3 e 4 por estar presente na maioria dos tratamentos, em ambas as espécies de bivalves, possivelmente é uma espécie comum da microbiota de moluscos, que pode apresentar baixo, ou nenhum risco a saúde ambiental. As ME 6 e 12 exclusivas dos mariscos pequenos P1, ME 5 exclusiva dos mariscos pequenos P2, possivelmente são espécies mais raras e a sua identificação em nível específico deve ser feita para se avaliar sua influência na saúde ambiental. As ME 8, 9, 10, 11, possivelmente são espécies exclusivas da microbiota de sururu e do mesmo modo a sua identificação em nível específico deve ser feita para se avaliar sua influência na saúde ambiental. Como citado anteriormente o P2 – Portinho apresenta maior grau de interferência antrópica (por estar mais próxima da comunidade) e por isso os organismos daquela croa apresentam menor diversidade de ME.

CONCLUSÕES

- As culturas com os meios Saboround e Müller-Hinton são efetivos para detecção da microbiota endógena de moluscos bivalves.
- O trabalho é inovador nesta área, pois não existem registros de estudos da microbiota de *A. flexuosa* e *M. guyanensis*, assim a continuidade do estudo e incentivada para se avaliar a microbiota e a saúde ambiental, pois como estes organismos são consumidos, as identificações de possíveis patógenos devem ser efetuadas e as medidas tomadas para se evitar possíveis infecções.
- A identificação em nível específico não foi possível dado a ausência de especialista, porém esta deve ser feita para um melhor discussão sobre a natureza deste indivíduos e de sua microbiota.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. R. N.; NISHIDA, A. K. A ecdise do caranguejo-uçá, *Ucidescordatus* (Crustacea, Decapoda, Brachyura) na visão dos caranguejeiros. **Interciência**, v. 27, n. 3, p. 110-117, 2002.

AMAGLIANI, G.; BRANDI, G., SCHIAVANO, G. F. Incidence and role of *Salmonella* in seafood safety. **Food Research International**, v. 45, p. 780-788, 2012.

BARBOSA, T. C. P. Análise quantitativa de bactérias heterotróficas: estudo preliminar em bivalves (*Brachidontes darwinianus*) e na água da Lagoa da Conceição, Florianópolis-SC - Brasil. **Biotemas**, v. 4, n. 1, p.75-82, 1991.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo populacional 2010**. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

MARCELINO, R. L.; SASSI, R.; CORDEIRO, T. A.; COSTA, C. F. Uma abordagem sócio-econômica e sócio-ambiental dos pescadores artesanais e outros usuários ribeirinhos do estuário do rio Paraíba do Norte, Estado da Paraíba, Brasil. **Tropical Oceanography**, v. 33, n. 2, p. 183-197, 2005.

MENDONÇA, J. T.; KATSURAGAWA, M. Caracterização da pesca artesanal no Complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia-Iguape, Estado de São Paulo, Brasil (1995-1996). **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 535-547, 2001.

NETO, J. P. S.; MIRANDA, C. E. P.; COMARELLA, L. Análise do risco sanitário de alimentos: qualidade microbiológica do molusco sururu (*mytella* sp.). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 10, n. 5, 2016.

NISHIDA, A. K.; NORDI, N.; ALVES, R. R. N. Abordagem etnoecológica da coleta de moluscos no litoral paraibano. **Tropical Oceanography**, v. 32, n. 1, p. 53-68, 2004.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. **Caribbean Ecological Research**, 1995.

SILVA, R. M.; PINTO, H. R. F.; COSTA, S. G. F.; PINTO, K. R. F. Análise espacial da epidemia hansênica no Município de Bayeux (PB) mediante técnicas de SIG. **Soci. & Natu.**, n. 2, p. 345-358, 2012.