

RESISTÊNCIA DO MEXILHÃO *Perna perna* A ALTAS TEMPERATURAS E SUA RELAÇÃO COM A CONTAMINAÇÃO BACTERIOLÓGICA¹

Resistance of brown mussel *Perna perna* to high temperatures and its relationship with bacteriological contamination

Marcelo Barbosa Henriques², Orlando Martins Pereira², Helcio Luis de Almeida Marques³

RESUMO

O mexilhão *Perna perna* é uma espécie comum na costa brasileira, sendo muito abundante entre o Rio de Janeiro e Santa Catarina. A temperatura é o fator ambiental abiótico que mais varia no mar, constituindo uma importante barreira para a distribuição das espécies, por apresentar envolvimento direto nos processos fisiológicos básicos dos animais marinhos. O objetivo desse trabalho foi determinar a resistência do mexilhão *P. perna* a altas temperaturas e sua possível relação com a contaminação bacteriológica. O estudo foi desenvolvido no costão da Ilha de Urubuqueçaba, município de Santos - SP, local mais abrigado e sob influência de contaminação bacteriológica, e no costão da Praia do Guaraú, município de Peruíbe - SP, local mais exposto à ação das ondas e isento de contaminação. Para a determinação da resistência a altas temperaturas, foram realizados experimentos em duplicata nos meses de janeiro e julho de 2001, utilizando quatro tratamentos (29,5°C, 31,0°C, 32,5°C e 34,0°C) com quatro repetições cada. Determinou-se o tempo para que ocorresse a morte de 50% dos animais (TM 50) e também o número de animais mortos em cada parcela após um tempo fixo de exposição. Os resultados indicaram que mexilhões provenientes de Urubuqueçaba apresentaram menor resistência a altas temperaturas que os de Guaraú. Isto pode ser um indicativo de que a contaminação bacteriológica afeta a resistência dos moluscos, mesmo considerando as diferentes condições oceanográficas de abrigo dos costões rochosos nos dois locais estudados.

Palavras-chaves: moluscos bivalves, mexilhão *Perna perna*, TM (50), temperatura.

ABSTRACT

Brown mussel *Perna perna* is a common species in Brazilian seacoast, very abundant between Rio de Janeiro and Santa Catarina states. Temperature is one of the most important environmental factors, bounding the species distribution. It has a direct influence on basic physiological processes. This study aimed at determining the mussel resilience to high temperatures. The animals were collected from two rocky coasts, the first is located at Urubuqueçaba Island, (Santos - SP), a sheltered site subjected to bacteriological contamination. The other station is Guaraú Beach, (Peruíbe - SP), an open sea site free of contamination. The experiments were conducted in January and July 2001. The temperatures tested were 29.5, 31.0, 32.5 and 34.0°C, each one with four replications. The time elapsed to occur 50% of mortality (TM 50) and the number of dead animals in each parcel after a defined exposition time were recorded. The results showed that mussels from Urubuqueçaba were less resilient to high temperatures than those from Guaraú. This may point out that mussels' resilience is affected by the high bacteriological contamination even considering different sheltering conditions at both studied sites.

Key words: bivalve mollusks, *Perna perna* mussel, TM (50), temperature.

¹ Projeto financiado pela Fapesp – Processo - 1999/09541-5

² Pesquisador Científico, CAPTA Pescado Marinho, Instituto de Pesca, Av. Bartolomeu de Gusmão, 192, Santos, SP, CEP 11045 - 401. E-mail: henriquesmb@pesca.sp.gov.br

³ Pesquisador Científico, Instituto de Pesca, Av. Francisco Matarazzo, 455, São Paulo, SP, CEP 05031-000

INTRODUÇÃO

O mexilhão *Perna perna* é uma espécie comum na costa brasileira, ocorrendo desde a Venezuela até o Uruguai, sendo muito abundante entre o Rio de Janeiro e Santa Catarina (Klappenbach, 1965). Esta distribuição pode ser explicada zoogeograficamente, em especial pela barreira da temperatura.

Toda a área de distribuição zoogeográfica de espécies é delimitada por barreiras. Essas barreiras podem ser físicas, como grandes distâncias e grandes profundidades, ou ecológicas, quando são considerados fatores bióticos e abióticos. Dentre os fatores bióticos, pode-se destacar: alimentação, predadores, competidores, parasitas, todos interagindo ao mesmo tempo.

A temperatura é o fator ambiental abiótico que mais varia no mar, sendo inversamente proporcional à profundidade e à latitude. Também é o fator mais importante como barreira para a distribuição das espécies, por apresentar envolvimento direto nos processos fisiológicos básicos dos animais marinhos, principalmente na reprodução. Dentro dos limites de sua tolerância térmica, uma espécie só será encontrada, desde que as outras exigências como salinidade, substrato, etc., atendam as mínimas condições de sua sobrevivência (Hutchins, 1947).

Poucos trabalhos sobre a resistência do mexilhão *Perna perna* a variações de temperatura foram

publicados, destacando o de Zuim & Mendes (1977) no Brasil e os de Chung & Acuna (1981) e Vélez & Epifanio (1981) na Venezuela.

O objetivo desse trabalho foi obter dados para determinar a resistência do mexilhão *Perna perna* quando submetido a altas temperaturas e uma possível relação dessa resistência com a contaminação bacteriológica, com o intuito de contribuir para o aumento do conhecimento sobre a biologia dessa espécie e levantar subsídios que auxiliem na definição de práticas de manejo e ordenamento nos bancos naturais.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em duas estações de coleta: (1) o costão da Ilha de Urubuqueçaba ($23^{\circ}58'S - 46^{\circ}21'W$), situada dentro da Baía de Santos, próxima ao emissário submarino, na divisa entre os municípios de Santos e São Vicente, local abrigado da ação das ondas e um dos pontos do litoral paulista mais sujeitos a contaminação bacteriológica; (2) o costão da praia do Guarauá ($24^{\circ}22'S - 47^{\circ}01'W$), localizado no município de Peruíbe (SP), 90 km ao sul de Santos, início da estação ecológica Juréia-Itatins, constituindo banco mais exposto à ação das ondas, local este onde não foi verificada a existência de contaminação (Henriques *et al.*, 2000) - ver Figura 1.

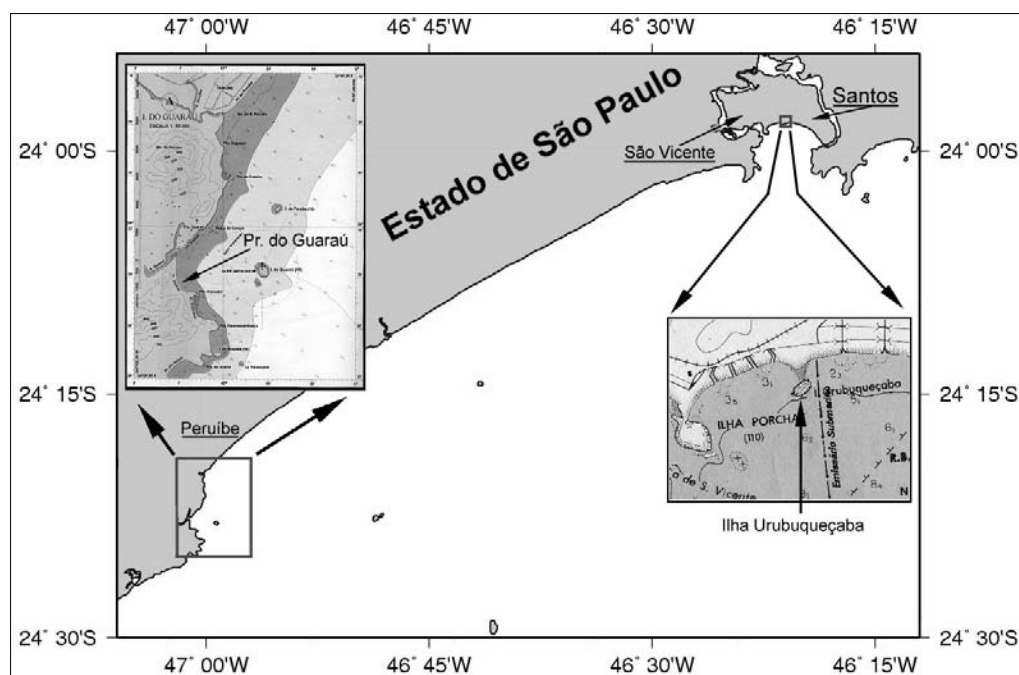


Figura 1 - Mapa da Região da Baixada Santista apresentando as duas estações de estudo. Detalhes extraídos das cartas náuticas DHN-1700 (Guaraú) e DHN-1711 (Urubuqueçaba).

Para a confirmação da existência de contaminação bacteriológica, nos locais estudados, mensalmente, foram coletados 50 mexilhões adultos (> 40 mm) por amostra, totalizando 24 amostragens realizadas no período de outubro de 2000 a setembro de 2001. Os animais foram lavados com água do mar do seu local de origem, acondicionados em caixas isotérmicas e, a seguir, transportados para o laboratório, onde foram abertos e analisados seguindo a metodologia do Food and Drug Administration (F.D.A.,1992), quanto à presença de bactérias do grupo coliforme de origem fecal e de *Salmonella* spp., no seu tecido mole.

Os dados obtidos nas análises microbiológicas foram analisados para testar uma diferença estatística ($P < 0,05$) através do teste t para amostras independentes, nos coliformes totais e fecais, entre Urubueçaba e Guaraú.

Para o teste de resistência a altas temperaturas os animais foram colocados dentro de recipientes contendo água do mar do próprio local de coleta e levados ao laboratório, onde foram separados individualmente e limpos de todos os organismos incrustantes nas valvas. A seguir, foram aclimatados por 24 horas em um recipiente com água do próprio local de origem e sob aeração constante, na temperatura e salinidade registradas no local de coleta e na densidade máxima de 2,5 animais/litro (A.P.H.A. et al., 1998). Foram utilizados 500 animais jovens para cada estação de estudo (máximo de 20 mm de comprimento) para evitar a emissão de gametas durante o experimento, segundo recomendações da A.P.H.A. et al. (1998).

Os experimentos foram conduzidos em aquários de 10 litros. Esses aquários eram constantemente aerados e apresentavam renovação diária de água. Para tal, foi utilizada água proveniente das próprias estações de coleta, captada por uma bomba de 3,5 HP, previamente estocada em recipientes continuamente aerados e mantidos nas temperaturas testadas.

O delineamento experimental foi feito em quatro tratamentos de temperatura (29,5; 31,0; 32,5 e 34,0 °C) com quatro repetições cada, totalizando dezesseis parcelas experimentais, constituídas pelo grupo de 25 animais existentes em cada aquário. As temperaturas (tratamentos) foram ajustadas por termostatos e termômetros digitais com sensor de alerta.

A seguir, determinou-se o tempo em que 50% dos animais morreram (TM 50), através do método de Trimmed Sperm-Karber (Hamilton et al., 1977) e também o número de animais mortos em cada parcela após um tempo fixo de exposição. A morte foi constatada pela falta de resposta do animal ao leve

toque de um estilete na região do manto. A resistência dos animais provenientes de locais contaminados e não contaminados foi comparada através de ANOVA. Esses experimentos foram realizados em duplicata, sob duas temperaturas-ambiente, mantidas constante no laboratório onde se desenvolveu o experimento, nos meses de janeiro de 2001 (T = 28°C) e julho de 2001 (T= 19 °C), visando garantir uma maior confiabilidade nos resultados.

Por ocasião das coletas foram registrados os dados de temperatura do ar e da água da superfície, nos dois pontos de estudo, utilizando-se um termômetro digital.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Zuim & Mendes (1977) e Fernandes & Seed (1982), a temperatura superficial da água, confortável para a espécie *P. perna* situa-se na faixa de 13 - 27°C. Nesse estudo, embora os dados obtidos sejam pontuais, por terem sido registrados no momento das coletas de mexilhões, todos os valores se situaram dentro desse intervalo de tolerância da espécie *P. perna* (Tabela I).

Tabela I - Dados de temperatura da água do mar e do ar máximas e mínimas por local estudado, Ilha de Urubueçaba (SP) e na Praia do Guaraú (SP) no período out./2000 – set./2001.

Valores	Temperatura do ar (°C)	Temperatura da água (°C)	
		Urubueçaba	Guaraú
Máximo	35,0	27,0	27,0
Mínimo	19,0	22,5	23,0
Média	27,1 ± 1,2	25,9 ± 1,6	26,0 ± 1,5

Em todas as amostragens realizadas, as análises microbiológicas no tecido mole apresentaram níveis de coliformes fecais e totais abaixo do máximo permitido para consumo, segundo o que determina o Ministério da Saúde, que é de 100 coliformes de origem fecal por grama de tecido mole. Da mesma forma, em nenhum mês foi constatada a presença de *Salmonella* spp. (ausência em 25 g de tecido mole), o que torna os mexilhões, provenientes de ambas as estações estudadas próprios para o consumo humano, quanto aos aspectos microbiológicos (BRASIL, 1987).

Embora próprios para o consumo, observa-se que os valores médios de contaminação por coliformes totais em Guaraú situaram-se muito abaixo de Urubueçaba com 1,79 NMP/g (I.C.±1,39) e 55,63 NMP/g (I.C.±25,58), respectivamente. Para coliformes fecais o padrão se mantém com valores de 0,17 NMP/g (I.C.±0,28) para Guaraú e 1,79 NMP/g (I.C.±1,39) para Urubueçaba. Essa grande dife-

rença entre os locais estudados pode ser um indicativo para a variação da resistência do mexilhão *P. perna* a condições abióticas adversas como, por exemplo, a temperatura (Figuras 2 e 3).

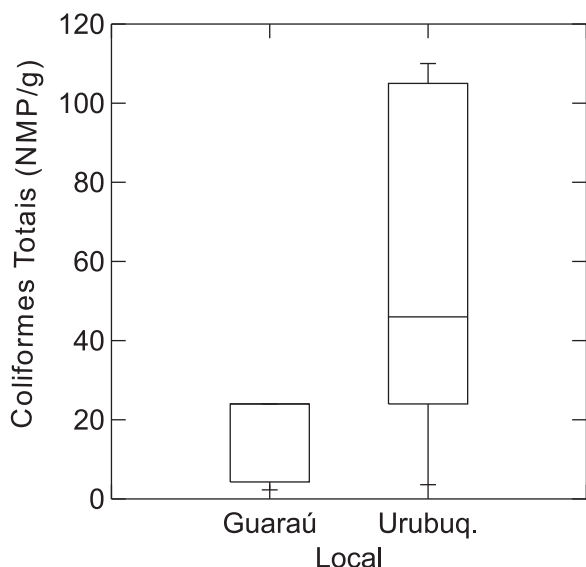


Figura 2 - Comparação pelo boxplot da contaminação por Coliformes Totais (NMP/g) de mexilhões *Perna perna* provenientes de Guarau e Urubuquecaba.

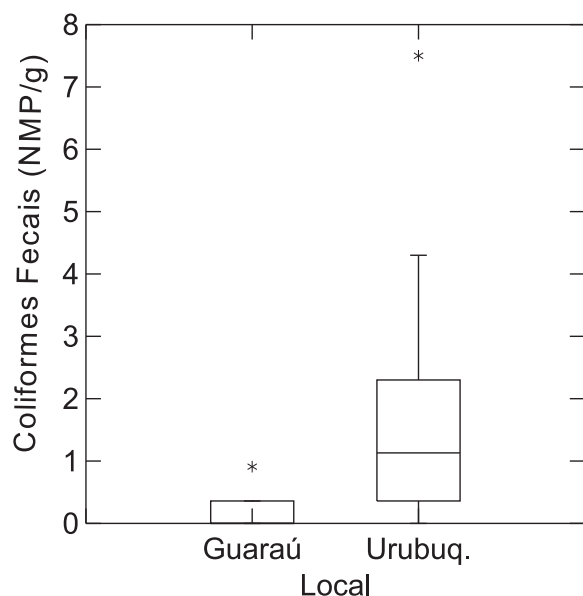


Figura 3 - Comparação pelo boxplot da contaminação por Coliformes Fecais (NMP/g) de mexilhões *Perna perna* provenientes de Guarau e Urubuquecaba.

As análises microbiológicas no tecido mole, no que diz respeito à contaminação por coliformes fecais e totais, mostraram diferença significativa entre as duas estações, ($t_{0,05(2), 22} = 2,556$; $P = 0,027$) e ($t_{0,05(2), 22} = 3,272$; $P = 0,007$), respectivamente.

Observa-se que há uma aparente maior resistência a altas temperaturas nos animais provenientes de Guarau, em relação a Urubuquecaba (Figuras 4 e 5). Em todos os testes, animais mantidos à temperatura de 34,0°C apresentaram mortalidade total após 24 horas, o que demonstra ser essa uma temperatura altamente letal à espécie. Por outro lado, animais mantidos sob temperatura de 32,5°C, somente apresentaram mortalidade total após nove dias (216 h) de exposição, sendo que os mexilhões toleraram bem temperaturas de 31,0°C ou menos.

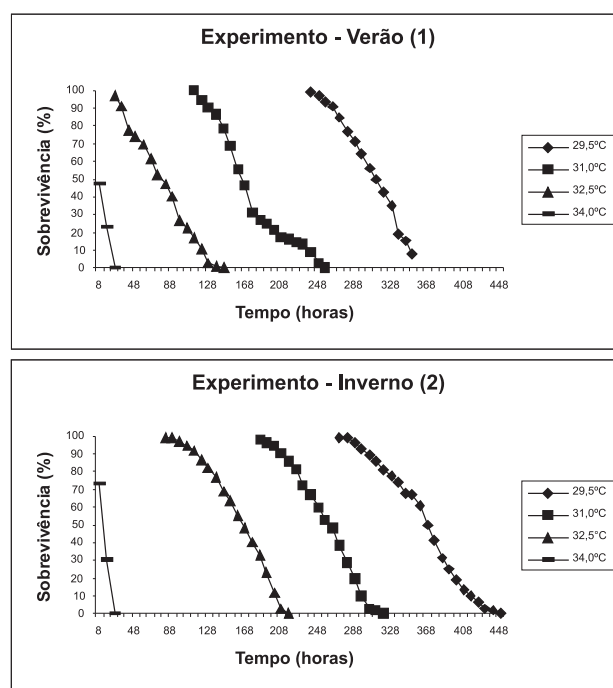


Figura 4 - Sobrevivência (%) de mexilhões *Perna perna* provenientes de Urubuquecaba e submetidos ao teste de resistência a altas temperaturas, nos experimentos de verão (1) $T = 28^{\circ}\text{C}$ e inverno (2) $T = 19^{\circ}\text{C}$.

Esses dados corroboram com os obtidos por Chung & Acuna (1981) que estudaram o limite de tolerância a altas temperaturas no mexilhão *Perna perna*, em Emerald Bay, Venezuela. Foram testadas as temperaturas de 27,0 a 42,0°C em animais de 15, 30 e 45 mm. Não houve diferença significativa para a sobrevivência entre os três comprimentos e o limite de temperatura letal para a espécie ficou em torno de 33,0°C, valor muito próximo ao obtido nesse trabalho.

Os mesmos autores ressaltam que a temperatura da água não seria uma causa significativa da morte imediata para *P. perna* em um futuro empreendimento aquícola, pois no mar caribenho a temperatura oscila apenas entre 22,0 e 29,0°C, a exemplo do que ocorre no litoral paulista onde a temperatura registrada oscilou entre 22,5 e 27°C.

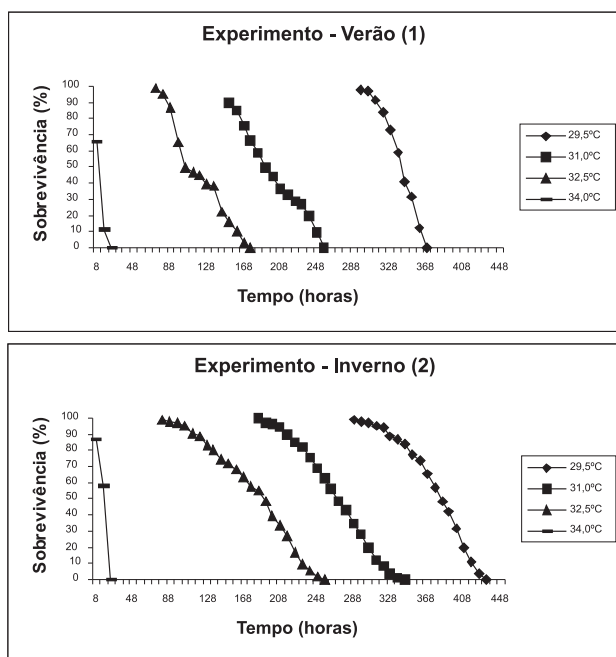


Figura 5 - Sobrevivência (%) de mexilhões *Perna perna* provenientes de Guarauá e submetidos ao teste de resistência a altas temperaturas, nos experimentos de verão (1) T= 28°C e inverno (2) T= 19°C.

Os testes estatísticos (Tabelas II e III) mostraram que, à temperatura de 32,5°C, houve diferença significativa ($p < 0.01$) entre os dois locais estudados, com os mexilhões de Guarauá apresentando maior resistência do que os provenientes de Urubuqueçaba. Para as demais temperaturas, as diferenças não foram significativas para os dois locais. Isso pode ser explicado pela alta tolerância da espécie verificada para temperaturas de 31,0°C ou menos e a alta sensibilidade registrada à temperatura de 34,0°C, que se sobrepuseram às diferenças ambientais existentes entre os dois locais de coleta.

Tabela II - Comparação estatística entre as tolerâncias médias (TM 50) de mexilhões *Perna perna* provenientes de ambos os locais de estudo (Urubuqueçaba e Guarauá), a altas temperaturas, no experimento de verão (T= 28°C).

Temperatura (°C)	Locais de estudo		P
	Urubuqueçaba	Guaraú	
29,5	310,64 ± 3,35	339,00 ± 1,87	0,049*
31,0	167,33 ± 3,46	197,98 ± 3,93	0,162 ^{ns}
32,5	66,87 ± 3,73	114,27 ± 3,21	0,013**
34,0	3,34 ± 0,75	3,83 ± 0,86	0,174 ^{ns}

Outro fator interessante observado foi a maior resistência dos animais no experimento de inverno, tanto para Urubuqueçaba como Guarauá. Isto pode ser explicado pelo maior stress fisiológico que o animal passa no verão devido a altas temperaturas. A temperatura da água nos meses de inverno se situa

numa faixa de maior conforto para a espécie *P. perna* (Henriques, 2004).

Tabela III - Comparação estatística entre as tolerâncias médias (TM 50) de mexilhões *Perna perna* provenientes de ambos os locais de estudo (Urubuqueçaba e Guarauá), a altas temperaturas, no experimento de inverno (T= 19°C).

Temperatura (°C)	Locais de estudo		P
	Urubuqueçaba	Guaraú	
29,5	361,52 ± 4,81	376,87 ± 3,59	0,321 ^{ns}
31,0	254,59 ± 3,75	265,25 ± 4,63	0,212 ^{ns}
32,5	158,97 ± 3,65	175,27 ± 5,7	0,005**
34,0	6,72 ± 4,81	11,17 ± 1,82	0,215 ^{ns}

Vélez & Epifanio (1981) pesquisaram os efeitos da temperatura sobre a gametogênese e crescimento do mexilhão *Perna perna*. Foram testadas quatro temperaturas, durante seis semanas, e constatado que o maior crescimento e desenvolvimento gonadal ocorreu nos mexilhões mantidos a 21,0°C. Houve crescimento somático rápido nos mexilhões mantidos a 28,0°C, mas o desenvolvimento gonadal foi inibido. O crescimento global foi mais lento em mexilhões testados a 21,0°C. Os autores concluíram que a gametogênese em *P. perna* geralmente é inibida pelas altas temperaturas, porém os mesmos autores, numa revisão da literatura pertinente, indicaram que estes resultados não devem ser generalizados para todos os bivalves tropicais.

Embora as temperaturas testadas pelos autores estejam abaixo das testadas no presente estudo, é interessante salientar que mesmo em temperaturas teoricamente confortáveis para a espécie há alteração de algumas funções fisiológicas, principalmente a reprodução.

De um modo geral, os resultados obtidos permitem supor a existência de relação entre a contaminação bacteriológica e a resistência do mexilhão *Perna perna* a temperaturas elevadas. Sendo assim, para confirmar e explicar as causas da queda de resistência da espécie, tornam-se necessários estudos relacionados às condições oceanográficas distintas dos dois locais de estudo, que podem, também, estar contribuindo para essa menor resistência, além de outros estudos referentes aos efeitos da contaminação sobre os processos fisiológicos dos mexilhões.

Além das condições oceanográficas, a contaminação química também poderia estar influenciando essa maior sensibilidade. Sabe-se que animais filtradores que habitam ambientes contaminados por metais-traços e poluentes orgânicos gastam energia para induzir sistemas de biotransformação e excreção de metabólitos tóxicos, o que os torna mais susceptíveis a uma maior mortalidade. Entretanto, Pereira *et al.* (2002) determinaram os teores de mercúrio, chumbo,

cádmio, cobre e zinco em mexilhões *P. perna* provenientes da Ilha de Urubuqueçaba e concluíram que no período estudado os bivalves se encontravam em condições adequadas para o consumo humano, pois, em todas as amostras analisadas, os níveis desses metais eram inferiores aos estabelecidos pela legislação brasileira e do MERCOSUL em vigor.

A menor resistência de animais provenientes de locais contaminados bacteriologicamente pode ser mais um fator de desestímulo à exploração comercial dos bancos naturais ou, mesmo, à implantação de cultivos comerciais nesses locais. Conquanto os níveis de contaminação observados neste trabalho se encontrem muito aquém do máximo permitido pela legislação para o consumo humano, os mesmos parecem ser suficientes para tornar os animais mais suscetíveis a variações ambientais abióticas, como a temperatura.

A menor resistência a altas temperaturas pode ser um indicativo da barreira zoogeográfica que delimita a distribuição da espécie. Esse fato pode também explicar a alta mortalidade dos mexilhões provenientes de Guaraú ocorrida em janeiro de 1999, provavelmente por uma rara elevação momentânea da temperatura da água acima dos níveis suportáveis para a espécie.

Lembrando alguns conceitos ecológicos, sabe-se que as barreiras de distribuição dos organismos marinhos são de difícil delimitação devido às próprias condições naturais dos oceanos. Qualquer fator pode ser letal para um determinado organismo se o mesmo exceder qualquer nível máximo ou mínimo. Estes limites têm óbvia significância zoogeográfica se coincidirem com aquelas condições ambientais que os organismos normalmente experimentam em sua vida. Os resultados desse experimento tratam dos efeitos letais da temperatura, demonstrando claramente os limites naturais desta variável no mexilhão *Perna perna*.

CONCLUSÕES

1. As análises microbiológicas mostraram a existência de uma maior ocorrência de coliformes totais e fecais em Urubuqueçaba do que em Guaraú.

2. A temperatura de 34,0°C é altamente letal à espécie, pois todos os animais apresentaram mortalidade após 24 horas de teste, enquanto que a faixa de conforto térmico para a espécie é de, no máximo, 31,0°C.

3. Mexilhões provenientes de Urubuqueçaba apresentaram menor resistência a altas temperaturas, do que os de Guaraú, o que pode estar relacionado com a maior contaminação bacteriológica exis-

tente naquele local, bem como a outros fatores, tais como diferentes condições oceanográficas nos dois locais estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Public Health Association. Toxicity test procedures using mollusks, p. 873-880, in Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E. & Trussel, R.R. (eds.), *Standard Methods for the examination of water and wastewater.*, 20th.edition, Port City Press, Baltimore, 1998.

BRASIL. Portaria 01 de 28 de janeiro de 1987. Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária.

Chung, K.S. & Acuna, A. Upper temperature tolerance limit of mussel, *Perna perna*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, v.47, n.3, p. 4-41, 1981.

Fernandes, F.C. & Seed, R. Preliminary observations on the population dynamics of the mussel *Perna perna* L. in Cabo Frio region, Brazil, p. 44, in *International Symposium on Utilization of Coastal Ecosystems: Planning, Pollution and Productivity*, Rio Grande, 1982.

F.D.A. *Bacteriological analytical manual*. A.O.A.C. International, 7th edition, 529 p., Arlington, 1992.

Hamilton, M.A.; Russo, R.C. & Thurston, R.U. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environm. Sci. Technol.*, v.11, n.7, p.714 -719, 1977.

Henriques, M.B.; Pereira, O.M.; Zamariolli, L.A. & Faustino, J.S. Contaminação bacteriológica no tecido mole do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) coletado nos bancos naturais do litoral da Baixada Santista. *Arq. Ciên. Mar*, Fortaleza, v.33, p.69-76, 2000.

Hutchins, L.W. The bases for temperature zonation. *Ecol. Monogr.* v.17, n.3, p.325-335, 1947.

Klappenbach, M.A. Lista preliminar de los Mytilidae brasileños con claves para determinación y notas sobre su distribución. *Anais Acad. Bras. Ciên.*, Rio de Janeiro, v.37, p.327-52, 1965.

Pereira, O.M.; Henriques, M.B.; Zenebon, O.; Sakuma, A. & Kira, C.S. Determinação dos teores de Hg, Pb, Cd, Cu e Zn em moluscos (*Crassostrea brasiliensis*, *Perna perna* e *Mytella falcata*). *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v.61, n.1, p.19-25, 2002.

Vélez, A.R. & Epifanio, C.E. Effects of temperature and ration on gametogenesis and growth in the tropical mussel *Perna perna* (L.). *Aquaculture*, v.22, n.1-2, p.21-26, 1981.

Zuim, S.M.F. & Mendes, E.G. Sobrevivência do bivalve *Perna perna* em diferentes temperaturas. *Anais da Reunião Anual da SBPC*, 29, São Paulo, p.672, 1977.