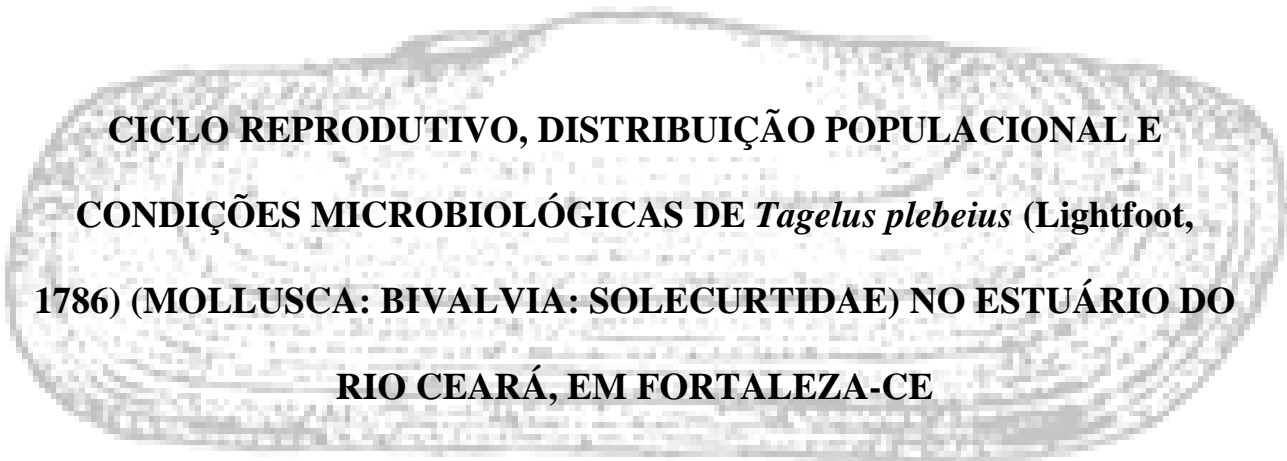




UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS



**CICLO REPRODUTIVO, DISTRIBUIÇÃO POPULACIONAL E
CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE *Tagelus plebeius* (Lightfoot,
1786) (MOLLUSCA: BIVALVIA: SOLECURTIDAE) NO ESTUÁRIO DO
RIO CEARÁ, EM FORTALEZA-CE**

Márcia Fernandes de Farias

FORTALEZA – CE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

CICLO REPRODUTIVO, DISTRIBUIÇÃO POPULACIONAL E
CONDIÇÕES MICROBIOLÓGICAS DE *Tagelus plebeius* (Lightfoot,
1786) (MOLLUSCA: BIVALVIA: SOLECURTIDAE) NO ESTUÁRIO DO
RIO CEARÁ, EM FORTALEZA-CE

Márcia Fernandes de Farias

Dissertação apresentada ao Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE.

Orientadora: Profa. Dra. Cristina de Almeida Rocha-Barreira

FORTALEZA – CE

Junho/2008

F238c Farias, Márcia Fernandes de
Ciclo reprodutivo, distribuição populacional e condições
microbiológicas de *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (Mollusca: Bivalvia:
Solecurtidae) no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE./ Márcia
Fernandes de Farias, 2008.
152f. il. color. Enc

Orientadora: Profa. Dra. Cristina de Almeida Rocha-Barreira

Área de concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e
Estuarinos

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Instituto de
Ciências do Mar, Fortaleza, 2008.

1. Bivalve – histologia 2. *Staphylococcus* coagulase positiva 3.
Salmonella I. Rocha-Barreira, Cristina de Almeida (orient.) II. Universidade
Federal do Ceará – Instituto de Ciências do Mar III. Título

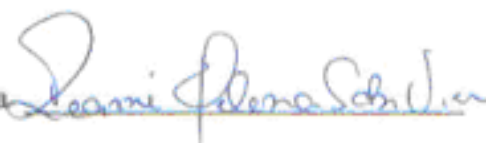
CDD 639.3

Após a finalização dos trabalhos da defesa de Dissertação de Mestrado da aluna, **MÁRCIA FERNANDES DE FARIAS**, intitulada "**Ciclo Reprodutivo, Distribuição Populacional e Condições Microbiológicas de *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza - CE**", a Banca Examinadora considerando o conteúdo do trabalho e a apresentação realizada, considera a **DISSERTAÇÃO APROVADA**.

Profa Dra. Cristina de Almeida Rocha Barreira
(orientadora)



Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira
(membro interno)



Profa. Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães
(membro externo)



Fortaleza, 23 de junho de 2008

Às pessoas mais importantes da minha vida:

Meus pais *Mundinha e Farias*

Meu esposo *José Alves (Deca)*

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Regine Helena Silva dos Fernandes Vieira, pelas valiosas sugestões e por permitir a minha entrada em seu laboratório, acreditando em um trabalho conjunto.

À Profa. Dra. Aimê Rachel Magenta Magalhães, por tão gentilmente ter aceitado compor a banca examinadora deste trabalho.

Ao estuário do Rio Ceará, que mesmo “doentinho”, afetado por seu maior patógeno (“bicho homem”), permitiu as minhas coletas, sempre resistente e deixando-se habitar por criaturinhas tão belas e interessantes: os moluscos estuarinos!

Ao Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR/UFC), lugar onde aprendi a conhecer e amar as Ciências Marinhas, particularmente ao Laboratório de Zoobentos, um espaço que considero uma casa com muitos amigos, por ter me acolhido novamente depois de alguns anos.

Às minhas sempre companheiras de mestrado e grandes amigas: Ismália Dias e Adriana Diniz, com muito carinho, por nossa união nas viagens aos Congressos, por nunca terem me negado ajuda e, sobretudo, por terem me proporcionado inúmeros momentos de alegria. Todas as palavras são poucas para agradecer...

Ao “Pessoal da Histologia”: Pedro, Flávia, Rafaela, Mariana, Jenneth e Newton, pela amizade e solidariedade em todos os momentos. Aprendi muitas coisas com todos vocês!

Às minhas amigas Elisabeth Mendonça (Beth), Luciana, Meire, Kcrishna e Karine, pelo carinho, ajuda nas coletas e pelo incentivo nas horas em que tudo parecia mais difícil.

Às amigas “reginetes” Cristiane Teles de Carvalho (Cris) e Camila Magalhães Silva, por terem me auxiliado pacientemente nas análises microbiológicas.

Ao colega Luiz “Buda” Bezerra, pela alegria, enorme ajuda na plotagem dos dados das análises referentes às amostras de sedimento e na confecção do mapa da área de estudo.

À Eliane Moura Falavina dos Reis, do LABENT - Laboratório de Enterobactérias do Depto de Bacteriologia IOC – FIOCRUZ (RJ) pela identificação das cepas de *Salmonella*.

Ao amigo Nertan Maia Dias, pelos desenhos esquemáticos de *Tagelus*.

Às colegas da turma de mestrado: Rosa, Samara, Cláudia e Lidianne.

Aos biólogos Wilson Franklin Júnior (constante presença no laboratório), Aline e Rossana.

Aos professores do Curso de Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR/UFC).

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LABOMAR/UFC) e à Francileide V. Figueiredo (Fran) pela solidariedade e ajuda.

À Profa. Dra. Teresa Cristina Vasconcelos Gesteira, do Centro de Diagnóstico de Enfermidades do Camarão Marinho – CEDECAM (LABOMAR/UFC), pelo exemplo profissional e por ser sempre tão prestativa comigo.

Ao Laboratório de Geologia Marinha da Divisão de Oceanografia Abiótica do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC).

À bióloga Aline F. L. Previtiera, pela preparação do Abstract.

Aos funcionários do Instituto de Ciências do Mar (LABOMAR/UFC), especialmente Nadsa (Biblioteca), Rosângela (Secretaria), Célia, Hanellore, Jandeylson e Leonardo.

À Prefeitura Municipal de Fortaleza, por ter concedido o meu afastamento para concluir o presente curso de pós-graduação.

À Fundação Cearense de Apoio à Pesquisa (FUNCAP), pelo auxílio financeiro correspondente ao projeto e à bolsa de mestrado.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha sempre orientadora, *Profa. Dra. Cristina de Almeida Rocha-Barreira*, uma pessoa especial e exemplo de grande pesquisadora, que busca sempre a conciliação entre o seu profissionalismo e a vida pessoal de mãe e mulher. Pelo apoio em todos os momentos, pela confiança de compartilhar mais um trabalho e, sobretudo, por possibilitar o meu amadurecimento acadêmico.

Tenho muito respeito e admiração por você. Muito obrigada por tudo!

O MAR

*“NECESSITO do mar porque me ensina:
não sei se aprendo música ou consciência:
não sei se é onda solitária ou ser profundo
ou somente ronca voz ou deslumbrante
suposição de peixes e navios.
O fato é que até quando estou dormido
de algum modo magnético circulo
na universidade das ondas”.*

Memorial da Ilha Negra

Pablo Neruda

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL.....	20
1. Regiões Estuarinas e Espécies Associadas	21
2. Características do Objeto de Estudo	22
2.1. Classificação Taxonômica	22
2.2. Biologia	24
2.3. Importância	26
CAPÍTULO I: Ciclo Reprodutivo e Distribuição Populacional de <i>Tagelus plebeius</i> (Lightfoot, 1786) (Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) no Estuário do Rio Ceará, em Fortaleza- CE	29
1. INTRODUÇÃO.....	30
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
3.1. Área de Estudo.....	33
3.2. Procedimento de Campo.....	36
3.3. Procedimento de Laboratório.....	38
3.3.1. Análise Granulométrica e do Teor de Matéria Orgânica.....	38
3.3.2. Análise da Densidade e do Grau de Dispersão dos Indivíduos.....	40
3.3.3. Análise do Ciclo Reprodutivo.....	40
4. RESULTADOS.....	44
4.1. Variáveis Ambientais na Área de Estudo.....	44
4.2. Análise Granulométrica.....	45
4.3. Análise do Teor de Matéria Orgânica.....	46
4.4. Análise da Densidade e do Grau de Dispersão dos Indivíduos.....	48

4.5. Variáveis Ambientais e Densidade dos Organismos.....	50
4.6. Análise do Ciclo Reprodutivo.....	51
4.6.1. Proporção e Diferenciação Sexual.....	51
4.6.2. Medição e Pesagem dos Exemplos.....	52
4.6.3. Caracterização da Morfologia Externa das Gônadas.....	54
4.6.4. Caracterização das Células Germinativas.....	57
4.6.4.1. Linhagem Masculina.....	57
4.6.4.2. Linhagem Feminina.....	59
4.6.5. Caracterização das Fases de Desenvolvimento Gonadal.....	61
4.6.6. Estágios de Desenvolvimento de Machos e Fêmeas.....	61
4.6.6.1. Machos.....	62
4.6.6.2. Fêmeas.....	62
4.6.7. Acompanhamento das Fases de Desenvolvimento Gonadal.....	69
4.6.8. Medição das Células Sexuais Femininas.....	73
4.6.9. Variáveis Ambientais e as Fases do Desenvolvimento Gonadal.....	75
5. DISCUSSÃO.....	77
5.1. Distribuição dos Organismos na Área de Estudo.....	77
5.2. Proporção e Diferenciação Sexual.....	79
5.3. Fases do Desenvolvimento Gonadal.....	81
5.4. Variáveis Ambientais e as Fases do Desenvolvimento Gonadal.....	85
6. CONCLUSÕES.....	89

CAPÍTULO II: Condições Microbiológicas de *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) no Estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE 90

1. INTRODUÇÃO	91
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	92
3. MATERIAL E MÉTODOS	101
3.1. Procedimento de Campo.....	101
3.1.1. Coletas das Amostras.....	101
3.1.2. Análises.....	102
3.1.3. Análise Estatística.....	103

3.2. Procedimento de Laboratório.....	103
3.2.1. Preparo das amostras.....	103
3.3. Coliformes Termotolerantes (45°C).....	104
3.3.1. Análise da Água.....	104
3.3.2. Análise de <i>Tagelus plebeius</i>	106
3.4. <i>Staphylococcus</i> spp.....	107
3.4.1. Diluição das Amostras.....	107
3.4.2. Isolamento e Identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	108
3.4.3. Prova de Coagulase.....	108
3.4.4. Cálculo das Contagens de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	109
3.5. <i>Salmonella</i> spp.....	111
3.5.1. Pré-enriquecimento.....	111
3.5.2. Meio de enriquecimento.....	111
3.5.3. Provas Bioquímicas.....	112
3.5.4. Confirmação Preliminar das Colônias de <i>Salmonella</i> spp.....	113
3.5.5. Sorologia.....	114
4. RESULTADOS	116
4.1. Coliformes Termotolerantes (45°C).....	116
4.2. <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	119
4.3. <i>Salmonella</i> spp.....	119
5. DISCUSSÃO.....	121
5.1. Coliformes Termotolerantes (45°C).....	121
5.2. <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	124
5.3. <i>Salmonella</i> spp.....	125
6. CONCLUSÕES.....	128
REFERÊNCIAS	129
APÊNDICE	142
ANEXOS	144

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL	Pág.
Figura 1-Vista externa dorsal da concha de <i>Tagelus plebeius</i> coletada no estuário do Rio Ceará.....	23
Figura 2 - Hábitat de <i>Tagelus plebeius</i> no estuário do Rio Ceará	24
Figura 3 - <i>Tagelus plebeius</i> e sua interação com o sedimento. (a) Marca da remoção de <i>Tagelus plebeius</i> deixada no sedimento do estuário do Rio Ceará; (b) Vista da seção transversal de <i>Tagelus plebeius</i> escavando e circundando o sedimento (adaptado de Holland e Dean, 1977a).....	26
 CAPÍTULO I	
Figura 1.1 - Estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE.....	35
Figura 1.2 - Imagem de satélite do estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, mostrando a área de estudo (QUICKBIRD, Zona 24 S).....	35
Figura 1.3 - Coleta dos exemplares de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Pá de bico utilizada na coleta; (b) Orifícios dos sifões no sedimento do estuário do Rio Ceará.....	36
Figura 1.4 - Amostrador utilizado para o estudo da densidade populacional de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Detalhe do quadrado de 50 x 50 cm; (b) Quadrado e potes contendo os exemplares do molusco.....	37
Figura 1.5 - Medição das variáveis ambientais em campo. (a) Temperatura do ar; (b) Temperatura da água; (c) Temperatura do sedimento.....	37
Figura 1.6 - Coleta de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Retirada do sedimento; (b) Transporte.....	38
Figura 1.7 - Amostras para análise de granulometria e matéria orgânica. (a) Detalhe do sedimento do estuário do Rio Ceará com <i>Tagelus plebeius</i> ; (b) Coleta do sedimento para análises.....	39
Figura 1.8 - Exemplares de <i>T. plebeius</i> acondicionados em aquário. (a) Visão geral do aquário com os moluscos; (b) Detalhe dos animais dentro do aquário.....	41
Figura 1.9 - Medição e pesagem dos exemplares de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Medição do comprimento ântero-posterior da concha; (b) Medição da altura da concha; (c) Pesagem da concha; (d) Pesagem da parte mole do animal.....	41

Figura 1.10 - Precipitação mensal observada (mm) no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza- CE, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.....	45
Figura 1.11 - Densidade (ind/m ²) de <i>Tagelus plebeius</i> coletados no banco areno-lamoso do estuário do rio Ceará durante o período de maio de 2006 a junho de 2007.....	49
Figura 1.12 - Proporção sexual de <i>Tagelus plebeius</i> no estuário do Rio Ceará, Fortaleza – CE, observada durante o período de abril de 2006 a junho de 2007. n= 369.....	52
Figura 1.13 - Variáveis medidas nos exemplares de <i>T. plebeius</i> no período de abril de 2006 a junho de 2007. (a) Comprimento médio da concha (mm); (b) Biomassa úmida (parte mole) (g).....	55
Figura 1.14 - Desenho esquemático das partes moles de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) vista das partes moles por transparência através do manto; (b) vista da região visceral com o manto rebatido. Legenda: aa = músculo adutor anterior; ap = músculo adutor posterior; bm = bordo do manto; br = brânquia; e = estômago; g = gônada; gd = glândula digestiva; i = intestino; m = manto; p = pé; se = sifão exalante; si = sifão inalante.....	56
Figura 1.15 - Fotomicrografia das células germinativas masculinas de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Vista do folículo masculino, mostrando a distribuição das células. Coloração HE. Escala 20 µm; (b) Detalhe das células germinativas. Coloração HE. Escala 5µm. Legenda: eg= espermatogônia; ep= espermátocitos; em= espermátide; ez= espermatozóide.....	58
Figura 1.16 - Fotomicrografia das células germinativas femininas de <i>Tagelus plebeius</i> . Coloração HE. (a) Células germinativas no interior dos folículos ovarianos. Escala 100 µm; (b) Visão geral do folículo ovariano com células em diferentes estágios de maturação. Escala 20 µm. (c) Detalhe de uma ovogônia. Escala 5 µm; (d) Detalhe de um ovócito pré-vitelogênico. Escala 5 µm; (e) Detalhe de um ovócito vitelogênico. Escala 5 µm; (f) Detalhe de um ovócito maduro. Escala 5 µm.....	60
Figura 1.17 - Desenvolvimento gonadal de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Gônada indiferenciada. Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (b) Detalhe da gônada indiferenciada. Coloração HE. Escala 20 µm; (c) Organização folicular. Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (d) Detalhe do desenvolvimento das células iniciais. Coloração HE. Escala 20 µm.....	64
Figura 1.18 - Figura 1.18 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Proliferação (P). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (b) Proliferação (P). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 µm; (c) Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (d) Maturação/Eliminação (ME). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 µm.....	65
Figura 1.19 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Eliminação Avançada (EA). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (b) Eliminação Avançada (EA). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 µm; (c)	

Atresia Celular (AC). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (d) Atresia Celular (AC). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 µm.....	66
Figura 1.20 - Fases do desenvolvimento gonadal de fêmeas de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Proliferação (P). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (b) Proliferação (P). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20 µm; (c) Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (d) Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20µm.....	67
Figura 1.21 - Fases do desenvolvimento gonadal de fêmeas de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Eliminação Avançada (EA). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (b) Eliminação Avançada (EA). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20 µm; (c) Atresia Celular (AC). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm; (d) Atresia Celular (AC). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20 µm.....	68
Figura 1.22 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos de <i>Tagelus plebeius</i> observados no período de abril de 2006 a junho de 2007, no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE. <i>n</i> = 196.....	70
Figura 1.23 - Fases do desenvolvimento gonadal de fêmeas de <i>Tagelus plebeius</i> observados no período de abril de 2006 a junho de 2007, no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE. <i>n</i> = 173.....	71
Figura 1.24 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas de <i>Tagelus plebeius</i> (incluindo os indivíduos indiferenciados), observados no período de abril de 2006 a junho de 2007, no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE.....	72
Figura 1.25 - Variações no tamanho das células sexuais femininas nas gônadas de <i>Tagelus plebeius</i> observadas no período de abril de 2006 a junho de 2007. <i>n</i> = 2356.....	73
Figura 1.26 - Diâmetro médio (µm) das células sexuais femininas de <i>Tagelus plebeius</i> observado no período de abril de 2006 a junho de 2007. <i>n</i> = 2356.....	75
Figura 1.27 - Correlações entre a salinidade e a frequência absoluta de machos e fêmeas de <i>Tagelus plebeius</i> nas fases (a) “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E) e (b) “Atresia Celular” (AC) durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.....	76

CAPÍTULO II

Figura 2.1 - Imagem de satélite do estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, mostrando a área de estudo (QUICKBIRD, Zona 24 S).....	101
Figura 2.2 - Coleta das amostras para análise microbiológica. (a) Coleta de água; (b) Coleta de <i>Tagelus plebeius</i>	102

Figura 2.3 - Amostras acondicionadas para análises microbiológicas. (a) Caixa isotérmica com gelo contendo garrafa com amostra de água; (b) Exemplos de <i>Tagelus plebeius</i> acondicionados em bolsas plásticas.....	103
Figura 2.4 - Manipulação asséptica das amostras durante as análises.....	104
Figura 2.5 - Esquema para análise de coliformes termotolerantes (45°C) em amostras de água do estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE.....	105
Figura 2.6 - Avaliação da qualidade da água. (a) Garrafa contendo água para o teste; (b) Banho-maria utilizado para o teste.....	105
Figura 2.7 - Retirada do músculo dos exemplares de <i>T. plebeius</i> para pesagem.....	106
Figura 2.8 - Esquema para análise de coliformes termotolerantes (45°C) em amostras de <i>Tagelus plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE.....	107
Figura 2.9 - Fluxograma de identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva a partir de amostras de <i>Tagelus plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza, CE. (Modificado de SILVA, 2006).....	110
Figura 2.10 - Caldo Tetracionato e Caldo Rappaport-Vassiliads incubados em banho-maria.....	111
Figura 2.11 - Colônias características de <i>Salmonella</i> spp. em placas. (a) Ágar entérico de Hektoen; (b) Ágar McConkey; (c) Ágar Verde Brilhante.....	112
Figura 2.12 - Tubos de ensaio contendo os meios Malonato, SIM, LIA e TSI antes de serem inoculados com as amostras de <i>Tagelus plebeius</i>	112
Figura 2.13 - Tubos de ensaio contendo meios seletivos-indicadores. (a) Reação positiva e negativa para o caldo Malonato; (b) Reação positiva para o meio SIM.....	113
Figura 2.14 - Tubos característicos de <i>Salmonella</i> nas amostras de <i>Tagelus plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, nos meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007. (a) Meio ágar TSI; (b) Meio ágar LIA.....	114
Figura 2.15 - Teste de soroaglutinação rápida para <i>Salmonella</i> spp. (a) Caixa de Huddleson utilizada para o teste; (b) Movimentos rotatórios com lâmina de vidro para a observação da presença de aglutinação.....	115
Figura 2.16 - Esquema para identificação de <i>Salmonella</i> spp. a partir de isolados de amostras de <i>Tagelus plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza, CE. (Modificado de SILVA, 2006).....	115
Figura 2.17 - Estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL e g em amostras de água e de <i>T. plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.....	116

Figura 2.18 - Colimetria da água (a) e de <i>Tagelus plebeius</i> (b) coletados no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.....	117
Figura 2.19 - Soroaglutinação rápida dos isolados de <i>Salmonella</i> spp. de <i>Tagelus plebeius</i> . (a) Soroaglutinação negativa; (b) Soroaglutinação positiva.....	120
Figura 2.20 - Sorovares do gênero <i>Salmonella</i> isolados das amostras de <i>Tagelus plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.....	120

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I	Pág.
Tabela 1.1 - Coletas de <i>Tagelus plebeius</i> realizadas no estuário do Rio Ceará, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007 e dados das condições ambientais observadas no local.....	44
Tabela 1.2 - Análise granulométrica das amostras de sedimento coletadas no estuário do Rio Ceará, durante o mês de abril de 2006 e de julho de 2006 a junho de 2007.....	47
Tabela 1.3 - Densidade populacional de <i>Tagelus plebeius</i> no sedimento do estuário do Rio Ceará, Fortaleza – CE, observada durante o período de maio de 2006 a junho de 2007. \bar{x} = Média; DP= Desvio padrão. ($p < 0,001$).....	48
Tabela 1.4 - Valor do índice de dispersão de Morisita (I_d) para a população de <i>Tagelus plebeius</i> no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, observada durante o período de maio de 2006 a junho de 2007. (N^2 , nº total mensal de pares de orifícios ao quadrado; N , nº total de indivíduos em cada quadrado contado; X^2 , qui-quadrado).....	50
Tabela 1.5 - Frequência e proporção sexual dos exemplares de <i>Tagelus plebeius</i> coletados no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.....	51
Tabela 1.6 - Comprimento médio da concha de indivíduos de <i>Tagelus plebeius</i> coletados no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.....	53
Tabela 1.7 - Correlações de Pearson entre as variáveis medidas em <i>Tagelus plebeius</i> durante o período de julho de 2006 a junho de 2007. (N = número total de exemplares).....	53
Tabela 1.8 - Frequência relativa e absoluta das fases de desenvolvimento gonadal de <i>Tagelus plebeius</i> no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE observadas durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.....	69

Tabela 1.9 - Diâmetros e estágios de desenvolvimento dos ovócitos de <i>Tagelus plebeius</i> durante o período de abril de 2006 a junho de 2007 (x = média do tamanho dos ovócitos; N = número de fêmeas; n = número de ovócitos medidos).....	74
---	----

Tabela 1.10 - Resultados obtidos por diferentes autores em relação ao período de emissão de gametas de <i>Tagelus plebeius</i> em diferentes áreas geográficas.....	83
---	----

CAPÍTULO II

Tabela 2.1 - Normas pertinentes quanto às áreas para o cultivo de moluscos marinhos e do produto para a comercialização <i>in natura</i> , segundo critérios microbiológicos adotados na Comunidade Econômica Européia e Estados Unidos.....	98
--	----

Tabela 2.2 - Reações típicas e atípicas de <i>Salmonella</i> spp. nos meios ágar TSI e LIA.....	114
---	-----

Tabela 2.3 - Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL e g em amostras de água e de <i>Tagelus plebeius</i> no estuário do Rio Ceará durante os meses de novembro e dezembro/2006 (estação seca) e março e abril/2007 (estação chuvosa).....	116
---	-----

Tabela 2.4 - Coletas de <i>Tagelus plebeius</i> realizadas no estuário do Rio Ceará, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007 e dados das condições ambientais observadas no local.....	118
--	-----

Tabela 2.5 - Correlação entre as variáveis ambientais e o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL ou g nas amostras de água e de <i>Tagelus plebeius</i> coletadas no estuário do Rio Ceará durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007 (*valores elevados, mas não significativos).....	118
--	-----

Tabela 2.6 - <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g) nos exemplares de <i>Tagelus plebeius</i> coletados no estuário do Rio Ceará durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.....	119
---	-----

RESUMO

Os moluscos bivalves são alimentos de grande importância nutricional, sendo usualmente consumidos nas regiões costeiras. Quando ingeridos *in natura* (crus) ou levemente cozidos, podem oferecer risco à saúde pública por serem filtradores e acumuladores de resíduos químicos e biológicos, principalmente se a qualidade sanitária da água onde forem capturados estiver comprometida. A presente pesquisa teve como objetivo estudar a espécie *Tagelus plebeius* (“unha-de-velho”), no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza - CE, considerando aspectos do seu ciclo reprodutivo, da sua biologia populacional e de suas condições microbiológicas. Para a análise do ciclo reprodutivo, os exemplares de *T. plebeius* foram coletados mensalmente no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE (03°42’09.8” S; 38°35’49.0” W), no período de abril de 2006 a junho de 2007, em marés diurnas de sizígia. A cada mês, as gônadas de 30 indivíduos foram submetidas a exame histológico. Durante a gametogênese foram reconhecidas em fêmeas, ovogônias, ovócitos pré-vitelogênicos, ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros, e em machos, espermatogônias, espermátides, espermátides e espermatozóides. A reprodução da espécie é contínua, entretanto, foram observados períodos de maior liberação de gametas no segundo semestre do ano. O ciclo reprodutivo caracterizou-se pelas seguintes fases do desenvolvimento gonadal: “Organização Folicular” (OF), “Proliferação” (P), “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E), “Eliminação Avançada” (EA) e “Atresia Celular” (AC), para ambos os sexos. Para as análises microbiológicas, as amostragens foram feitas em dois meses da estação seca (novembro e dezembro de 2006) e em dois meses da estação chuvosa (março e abril de 2007). A quantidade de coliformes termotolerantes (45°C) na água e nos tecidos do molusco foi analisada através da técnica dos Tubos Múltiplos, pela estimativa do Número Mais Provável (NMP). No músculo e líquido perivisceral do animal foi também analisada a presença de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva, além dos coliformes termotolerantes (45°C). As amostras de água apresentaram valores elevados de NMP para CT/100 mL, principalmente na estação chuvosa. Nas amostras dos animais, o NMP para CT/g também foi alto na mesma estação. Foram isoladas 22 cepas suspeitas de *Salmonella* spp., das quais 11 cepas foram confirmadas através do teste de sorologia com o antissoro polivalente O:H, sendo identificados três sorovares (*S. Bredeney*, *S. London* e *S. Muenchen*) e uma (1) cepa foi classificada até subespécie: *S. enterica* subesp. *enterica*. A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi detectada em nenhuma amostra analisada. Os indivíduos de *T. plebeius* apresentaram um padrão de distribuição predominantemente aleatório na área estudada, estando concentrados na área com sedimento fino. Dentre os fatores ambientais observados neste estudo, a precipitação pluviométrica e a salinidade foram os que apresentaram as maiores amplitudes de variação. O aumento da contaminação por coliformes termotolerantes (45°C) na estação chuvosa pode estar relacionado ao aporte de água doce no rio, com uma conseqüente diminuição da salinidade associada a uma maior contaminação bacteriológica. A correlação significativa observada entre a salinidade e as fases “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E) e “Atresia Celular” (AC) mostra também a influência desta variável ambiental no desenvolvimento gonadal da espécie, prolongando ou reduzindo as fases do seu ciclo reprodutivo.

Palavras-chave: bivalve, histologia, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella*.

ABSTRACT

Bivalve mollusks are a food source of great nutritional importance, usually consumed in coastal areas. When ingested *in natura* (uncooked) or slightly cooked, it may offer risk to public health since is characterized as a filter feeder and usually accumulates chemical and biological residues, mainly if the local sanitary quality of the water is compromised. The aim of the present research was to study the specie *Tagelus plebeius* (“stout razor clam”), in the Ceará River Estuary in Fortaleza-CE, considering aspects of its reproductive cycle, population biology and microbiological conditions. *T. plebeius* were sampled monthly for reproductive cycle analyses in Ceará River Estuary in Fortaleza – CE (03°42’09.8” S; 38°35’49.0” W), between April of 2006 and June of 2007, in diurnal spring tides. Every month, gonads from 30 individuals were submitted to histological examination. During female gametogenesis, were recognized oogonia, pre-vitellogenic oocyte, vitellogenic oocyte and mature oocyte, in males, were recognized spermatogonium, spermatocytes, spermatids and spermatozoan. This species reproduction is continuous, however, we observed periods of increased gamete release in the second semester. The reproductive cycle was characterized by the following phases of gonad development: “Follicular Organization” (FO), “Proliferation” (P), “Maturation/Initial Elimination” (M/IE), “Advanced Elimination” (AE) and “Cell Atresy” (CA), for both genders. Sampling for microbiological analysis were conducted in two months within the dry season (November and December of 2006) and in two months within the rainy season (March and April of 2007). The amount of thermotolerant coliforms (45°C) in the water and in the clam muscle was analyzed through Multiple Tube Techniques by Most Probable Number (MPN) estimate. In the muscle and perivisceral liquid were analyzed the presence of *Salmonella* spp., *Staphylococcus* coagulase-positive and thermotolerant coliforms (45°C). Water samples presented high values of MPN for TC/100 mL, mainly in the rainy season. Animal samples also presented high MPN and TC/g for that season. Twenty two possible *Salmonella* spp. strains were isolated, 11 of them were confirmed through serology test with a polyvalent O:H antiserum, being identified three serovars (*S. Bredeney*, *S. London* e *S. Muenchen*) and one (1) strain was classified to subspecies level: *S. enterica* subsp. *enterica*. The presence of *Staphylococcus* coagulase-positive was not detected in any analyzed sample. *T. plebeius* individuals presented a predominantly random pattern of distribution, being concentrated in areas of thin-sediment. Among the environmental factors observed in this study, pluviometric precipitation and water salinity presented greater amplitude of variation. Increase in contamination by thermotolerant coliforms (45°C) in the rainy season may be related to the input of fresh water in the river with a consequent reduction in salinity associated with an increased bacteriologic contamination. The significant correlation observed among the salinity and the phases “Maturation/Initial Elimination” (M/IE) and Cell Atresy (CA) demonstrates the influence of these environmental parameters in the gonad development of the species, extending and reducing the phases of its reproductive cycle.

Keywords: bivalve, histology, reproductive cycle, thermotolerant coliforms, *Staphylococcus* coagulase-positive, *Salmonella*.



INTRODUÇÃO GERAL

1. Regiões Estuarinas e Espécies Associadas

Sob o ponto de vista ambiental, as regiões estuarinas se caracterizam por apresentarem grande diversidade de ambientes potencialmente disponíveis para colonização, refúgio e criadouro de espécies economicamente importantes (SIQUEIRA et al., 2006). Suas águas são influenciadas pela dinâmica oceânica e fluvial, possibilitando o transporte de grandes quantidades de nutrientes que irão favorecer a produtividade em toda a região costeira, proporcionando a sobrevivência das populações humanas residentes próximas a essas regiões, através de atividades extrativistas específicas, como a pesca e a coleta de crustáceos e moluscos (AGUIAR, 2005).

Nessas regiões, consideradas muito férteis, vêm sendo desenvolvidos vários estudos com moluscos bivalves enfocando aspectos ecológicos, biológicos e sanitários.

Espécies como *Iphigenia brasiliana* (Lamarck, 1818) (itã), *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (bacucu), *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (unha-de-velho), *Crassostrea rhizophorae* Guilding, 1828 (ostra) e *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (berbigão), foram estudadas no estado do Ceará, por Magalhães-Neto (1999), Vaisman (2003), Araújo e Rocha-Barreira (2004a, b), Barros et al. (2005) e Barreira e Araújo (2005), por serem bivalves explorados em áreas de manguezais no Nordeste do Brasil, principalmente por populações ribeirinhas de baixa renda, os quais são utilizados como complementação alimentar e também como fonte geradora de renda.

Estes trabalhos são especialmente importantes quando se quer definir a qualidade de vida dos organismos bem como a avaliação do potencial de exploração dos recursos e de seu manejo.

A reprodução, o desenvolvimento embrionário e o ciclo de desenvolvimento gonadal são aspectos importantes para o entendimento da biologia de qualquer organismo, uma vez que sem indicações seguras sobre o ritmo e o ciclo reprodutivo, outros aspectos biológicos seriam difíceis de ser compreendidos (NARCHI, 1976). Acredita-se que a importância da aquisição de conhecimento em reprodução relaciona-se com a necessidade de um estudo adequado da história de vida das diversas espécies de moluscos e sua pertinência com manejo adequado e conservação (QUAYLE, 1943).

O Rio Ceará possui como afluentes fluviais pequenos cursos d'água, fazendo parte do conjunto de bacias da Região Metropolitana de Fortaleza. Durante seu percurso, sofre uma

série de agressões, como lançamento de dejetos a partir de fossas e esgotos, além de coleta de resíduos industriais e lixo (VIEIRA et al., 1999). Assim, tornam-se importantes estudos sobre a qualidade sanitária do ambiente aquático onde os organismos são capturados, principalmente se este estiver comprometido.

2. Características do Objeto de Estudo

2.1. Classificação Taxonômica

De acordo com dados fornecidos pelo Sistema Integrado de Informação Taxonômica (*Integrated Taxonomic Information System- ITIS*) (2007), a espécie *Tagelus plebeius* apresenta a seguinte classificação sistemática:

Filo Mollusca

Classe Bivalvia Linnaeus, 1758

Subclasse Heterodonta Neumayr, 1884

Ordem Veneroida H. Adams e A. Adams, 1856

Superfamília Tellinoidea Blainville, 1814

Família Solecurtidae Orbigny, 1846

Gênero *Tagelus* Gray, 1847

Espécie *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786)

Uma avaliação filogenética preliminar feita por Silva et al. (2007), para populações estuarinas encontradas no estado do Ceará, com amplificação e sequenciamento por PCR de uma porção do gene 16S mitocondrial deste bivalve, mostrou que a espécie está adequadamente classificada dentro da ordem Veneroida.

A família Solecurtidae, na qual o molusco *Tagelus plebeius* está inserido, possui dois gêneros: *Tagelus* e *Solecurtus*, ambos encontrados no Brasil. Este táxon tem aproximadamente 40 espécies, distribuídas mundialmente, sendo todas adaptadas a ambientes infaunais e especialmente abundantes em regiões tropicais (HARTMANN, 2006).

A espécie *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (Figura 1) é conhecida popularmente no Brasil como “canivete”, “unha-de-urubu” e “unha-de-velho” (BOFFI, 1979). No estado da

Bahia, especificamente na comunidade de Acupe (Santo Amaro) é chamado de “aribi” (MARTINS; SOUTO, 2006). Em outras localidades do mesmo Estado, como no estuário do Rio Cachoeira (Ilhéus) é chamado de “moapen” (CEUTA, 2007). Brusca e Brusca (2007) denominam popularmente a espécie de “navalha-da-praia”.



Figura 1 - Vista externa dorsal da concha de *Tagelus plebeius* coletada no estuário do Rio Ceará.

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação - FAO (2006), esse molusco é conhecido na Inglaterra como “stout tagelus”, na França como “tagal corpulent” e na Espanha como “tagelo plebeyo”. Na Argentina, é chamado de “almeja navaja” (GUTIÉRREZ; VALERO, 2001). É comumente denominado em inglês de “stout razor clam” em estudos científicos.

Para o gênero *Tagelus* (Gray, 1847) são conhecidas as seguintes espécies: *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (= *Tagelus gibbus* Spengler, 1794), *Tagelus divisus* (Spengler, 1794), *Tagelus adansonii* (Bosc, 1801), *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818), *Tagelus californianus* (Conrad, 1837), *Tagelus angulatus* (Sowerby, 1874), *Tagelus affinis* (C.B. Adams, 1852), *Tagelus irregularis* (A. A. Olsson, 1961), *Tagelus longisinuatus* (H. A. Pilsbry e Lowe, 1932), *Tagelus peruanus* (R. W. Dunker, 1861), *Tagelus politus* (P. P. Carpenter, 1855), *Tagelus subteres* (T. A. Conrad, 1837), *Tagelus violascens* (P. P. Carpenter, 1857) e *Tagelus peruvianus* (Pilsbry e Olsson, 1941), sendo somente as duas primeiras encontradas no Brasil.

2.2. Biologia

De acordo com Rios (1994), a distribuição geográfica de *Tagelus plebeius* estende-se da Carolina do Norte até a Flórida, Texas, Índias Ocidentais, Venezuela, Suriname, Brasil até o sul da Argentina, sendo considerada uma espécie eurihalina, suportando grandes variações de salinidade e vivendo em fundos arenosos próximos às desembocaduras de rios (Figura 2). É comum em estuários e manguezais e na região entremarés, ocorrendo desde a parte superior do mediolitoral até cerca de 10 metros (CHANLEY; CASTAGNA, 1971).



Figura 2 - Hábitat de *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará.

Tagelus plebeius apresenta valvas equivalves em forma de navalha, brancas e oblongas, quase retangulares (HARTMANN, 2006). Segundo Rios (op cit), a superfície da concha é lisa com crescentes linhas concêntricas. Seu umbo é pequeno e está localizado mais ou menos ao centro. Possui músculos adutores anteriores e posteriores posicionados mais ao dorso. O seio palial é mais ou menos profundo. A charneira e o ligamento são iguais ao dos bivalves pertencentes à Família Psammobiidae, não possuem dentes laterais. O perióstraco é espesso, de cor marrom-amarelada. Os bicos são situados posteriormente. Possui longos sifões. O comprimento ântero-posterior da concha pode chegar a 91 mm, valor constatado em populações estudadas na Carolina do Sul (EUA) por Holland e Dean (1977b).

A análise do conteúdo estomacal de *Tagelus plebeius* revela a presença dominante de detritos e sedimento lamo-argiloso na sua dieta, embora a presença de fitoplâncton e diatomáceas bentônicas também tenham sido descritas (HOLLAND; DEAN, 1977a; GUTIÉRREZ; VALERO, 2001). Holland e Dean (op cit) propuseram que este bivalve se alimenta através do filtrado de partículas que se encontra em suspensão na coluna d'água, através do sifão inalante.

Tagelus plebeius constrói galerias tubulares de até 80 cm de profundidade, que permitem o seu movimento vertical através do sedimento, enquanto a sua mobilidade lateral é praticamente nula (HOLLAND; DEAN, op cit; GUTIÉRREZ; VALERO, op cit). Pode mover-se rapidamente no interior da galeria e, assim, proteger-se (BRUSCA; BRUSCA, 2007). Segundo Holland e Dean (op cit), a parede da galeria é lisa, não mucosa e sem revestimento, sendo separada dos sedimentos circunvizinhos devido à sua natureza compactada (Figura 3a).

A profundidade da galeria aumenta com a maturidade e o crescimento do animal. Somente são construídos orifícios de sifão novos quando os originais são bloqueados (HOLLAND; DEAN, op cit).

Os sifões de *T. plebeius* são estruturas separadas e elásticas (Figura 3b). A entrada do sifão inalante é protegida através de lóbulos com tentáculos cegos. Os palpos labiais são pequenos quando comparados às demibrânquias (estruturas para filtração da água), que são grandes e compridas. Correntes geradas pelos cílios nas demibrânquias promovem a ordenação das partículas alimentares. Partículas aceitas são transportadas à boca enquanto as rejeitadas se acumulam na margem anterior dos palpos labiais e são descartadas como pseudofezes (HOLLAND; DEAN, op cit).

A composição do sedimento é de grande importância para a distribuição de *T. plebeius*. Segundo Holland e Dean (op cit), a pequena quantidade de silte e argila é crítica para a sobrevivência da espécie, pois aumenta a estabilidade das galerias, por preencher de maneira mais compacta os espaços entre os grãos de areia, proporcionando uma maior estabilidade aos sifões.

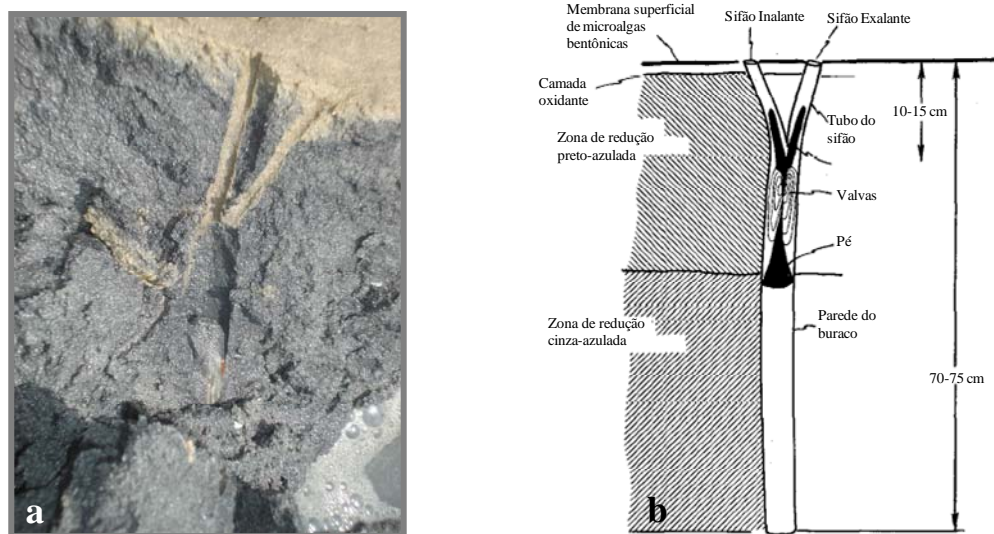


Figura 3 – *Tagelus plebeius* e sua interação com o sedimento. (a) Marca da remoção de *Tagelus plebeius* deixada no sedimento do estuário do Rio Ceará; (b) Vista da seção transversal de *Tagelus plebeius* escavando e circundando o sedimento (adaptado de Holland e Dean, 1977a).

2.3. Importância

A maioria das espécies do gênero *Tagelus*, incluindo *T. plebeius*, é economicamente importante como recurso alimentar no Chile, China, Espanha e em outros países (OSORIO-RUIZ, 2002). Como recurso pesqueiro, apresenta valores de biomassa e produção superiores a de alguns moluscos bivalves (VIÉGAS, 1982).

Na Costa Rica, *Tagelus peruvianus* (“barba de hacha”) é explorado com fins comerciais e de subsistência por pescadores artesanais no estuário de Puntarenas (ROJAS et al., 1988).

De acordo com Viégas (1981), no estado de Alagoas, a espécie não consta separadamente em nenhuma estatística de pesca, sendo comercializada em pequena escala e explorada mais ao nível de coleta familiar, visando à subsistência.

No estado da Bahia, a exploração de *Tagelus plebeius* na Coroa do Meio (Ilhéus) tem aumentado nos últimos anos, sendo o principal produto de mariscagem da região, com a sua exploração representando, para a população ribeirinha, uma alternativa de sobrevivência e fonte de renda (CEUTA, 2007).

Segundo pesquisas feitas no Chile por Díaz et al. (2001), *Tagelus dombeii* representa uma espécie adequada para monitoração biológica em estudos ambientais marinhos costeiros,

devido à capacidade de acumular metais-traço, permitindo integrar espacial e temporalmente as variações ambientais destes metais e por constituir uma população geneticamente homogênea.

A extração de *Tagelus plebeius* é uma prática freqüente em ambientes estuarinos de algumas regiões da Argentina, como Bahía Blanca e Bahía Samborombón, tendo adquirido um particular desenvolvimento na laguna costeira Mar Chiquita nos últimos anos. Sua extração é levada a efeito por comerciantes ou pescadores esportivos para a sua utilização como isca (GUTIÉRREZ; VALERO, 2001).

Espécies do gênero *Tagelus*, como *T. dombeii* e *T. divisus* já são comercializadas no Chile. Por isso, *T. plebeius*, representa um bom candidato para exploração manejada ou aqüicultura, assegurando sua inserção no mercado já existente (OSORIO RUIZ, 2002; CLEDÓN et al., 2004).

Segundo relatos de comerciantes da Feira do Mucuripe (Mercado do Peixe), um dos principais pontos de comercialização de pescado no município de Fortaleza, o molusco *Tagelus plebeius*, vendido neste local é proveniente do estuário do rio Ceará. Considerando este aspecto, tornam-se necessárias pesquisas que objetivem um maior conhecimento da população que está sendo explorada, considerando a dinâmica populacional, o ciclo de reprodução e a qualidade sanitária dos organismos coletados. Este último aspecto é fundamental, uma vez que os moluscos bivalves são organismos filtradores e, na medida em que se alimentam, concentram ativamente partículas em suspensão na água, podendo acumular inclusive toxinas, poluentes e microrganismos patogênicos. Portanto, ao serem consumidos *in natura* ou levemente cozidos, oferecem maiores riscos de acarretar problemas de sanidade pública.

Embora *Tagelus plebeius* não seja consumido cru, a contaminação pode se dá pós-cozimento, caso não sejam observadas práticas adequadas de higiene no seu manuseio e armazenamento.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo geral estudar a espécie *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza - CE, considerando seus aspectos reprodutivos, populacionais e microbiológicos, estando organizado em dois capítulos. O primeiro abrange o ciclo reprodutivo, bem como aspectos da densidade populacional deste molusco, visando relacionar as fases do desenvolvimento gonadal às variações sazonais de temperatura, salinidade e precipitação pluviométrica atuantes no local. O segundo capítulo

trata das condições microbiológicas da água e do animal, objetivando avaliar a presença de coliformes termotolerantes (45°C) na água e a presença de *Salmonella* e *Staphylococcus* coagulase positiva no músculo e líquido perivisceral do molusco, além dos coliformes termotolerantes (45°C).



*Ciclo Reprodutivo e Distribuição Populacional de Tagelus plebeius (Lightfoot, 1786)
(Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) no Estuário do Rio Ceará, em Fortaleza- CE*

1. INTRODUÇÃO

Muitas espécies de moluscos são utilizadas como fonte de alimento e, por serem comumente encontradas em áreas de fácil acesso ao homem, existe um estímulo à extração desses animais, proporcionando um consumo intenso de vários bivalves, dentre os quais a espécie *Tagelus plebeius*.

A importância de se adquirir conhecimento em reprodução relaciona-se com a necessidade de estudos adequados da história de vida das diversas espécies de moluscos e sua pertinência com o manejo adequado e conservação (QUAYLE, 1943).

Segundo Marques (2004), na classe Bivalvia podem ser encontradas desde espécies estritamente dióicas (sexos separados) até ocasionalmente hermafroditas (funcionais, ocasionais, consecutivos ou alternativos), podendo variar entre espécies pertencentes ao mesmo gênero ou também dentro de uma mesma população. O sexo nessa classe pode ser distinguido apenas pela análise das gônadas ou fazendo observações durante a liberação de gametas, exceto em raras espécies que possuem dimorfismo sexual (EVERSOLE, 1989).

Alguns fatores abióticos também podem regular ou sincronizar o ciclo reprodutivo dos moluscos e da maioria dos invertebrados marinhos. Dentre estes, estão a temperatura e a salinidade, sendo a primeira apontada como a mais importante.

Sobre a biologia do *T. plebeius*, devem ser considerados outros aspectos importantes, como a sua associação com outros organismos, especialmente os parasitos. Porém, ainda se tem pouca informação sobre este tipo de associação (CEUTA, 2007).

Apesar de existirem diversos estudos sobre o ciclo de reprodução em bivalves, ainda há carência de pesquisas sobre os aspectos biológicos básicos da maior parte das espécies encontradas no litoral brasileiro, importantes para o equilíbrio dos ecossistemas e muitas vezes cruciais na economia de comunidades litorâneas e até mesmo de regiões inteiras (GIL et al., 2007).

Devido à escassez de estudos realizados sobre a reprodução de *Tagelus plebeius* e justificando a importância deste fenômeno biológico como sendo capaz de assegurar a manutenção dos estoques naturais das populações exploradas, considerando-se também a importância de pesquisas sobre a biologia reprodutiva de moluscos bivalves comumente encontrados no litoral brasileiro, o presente capítulo tem por objetivo estudar a espécie *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza - CE, considerando seus aspectos populacionais e reprodutivos. Desta forma, foram analisados (as):

- A granulometria e o teor de matéria orgânica do sedimento na área de estudo;
- A densidade e o grau de dispersão dos indivíduos (ind/m²) na área de estudo;
- A histologia das gônadas de ambos os sexos;
- Os estágios de maturação gonadal da espécie;
- A caracterização das células germinativas;
- O diâmetro das células femininas da espécie;
- A relação das fases do desenvolvimento gonadal às variações sazonais de temperatura, salinidade e precipitação pluviométrica atuantes no local de estudo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Apesar de *Tagelus* habitar, comumente, regiões entremarés e estuários tropicais, poucos trabalhos relacionados a este gênero são encontrados na literatura. Atualmente, as pesquisas sobre este molusco vêm crescendo, por tratar-se de um importante componente da fauna bentônica, que modifica e contribui para a produtividade destes ambientes.

Dentre os trabalhos pioneiros sobre o gênero, destaca-se o de Bloomer (1907), que descreveu a anatomia de *Tagelus gibbus* e *Tagelus divisus*. Aspectos biológicos de *T. divisus* também foram analisados por Fraser (1967), na Baía de Biscayne (Flórida), mostrando o crescimento, ciclo vital e parasitismo por cercárias de trematódeos. Igualmente importantes são as pesquisas de Rojas et al. (1988), sobre o tamanho, densidade e recrutamento de *T. peruvianus* na Costa Rica e o estudo de Díaz et al. (2001), mostrando a influência das variáveis estacionais, espaciais, biológicas e ambientais na bioacumulação de mercúrio total e metilmercúrio em *Tagelus dombeii*, na Baía de San Vicente, Chile.

Sobre *Tagelus plebeius* especificamente, destacam-se os trabalhos realizados na Carolina do Sul (EUA) por Chanley e Castagna (1971), sobre o desenvolvimento da larva deste molusco e por Holland e Dean (1977a,b), que desenvolveram trabalhos sobre a biologia da espécie, incluindo: relações animal-sedimento, mecanismos de alimentação, biologia da comunidade e alguns aspectos da dinâmica de população.

Na Argentina, diversas pesquisas foram desenvolvidas, como as de Gutiérrez e Iribarne (1998, 1999), que mostraram a ocorrência de juvenis do caranguejo *Chasmagnathus granulatus* nos orifícios dos sífões de *T. plebeius* e pesquisaram o efeito da estrutura do habitat desse bivalve nas comunidades bentônicas, respectivamente. Aguirre e Farinati (1999)

estudaram os processos tafonômicos que afetaram esta espécie no quaternário ao longo do litoral de Buenos Aires; Gutiérrez e Valero (2001) estudaram a participação de *T. plebeius* em mecanismos ecológicos de comunidades intermareais através da produção de valvas.

Também na costa argentina, Gutiérrez e Iribarne (2004) pesquisaram se as depressões no sedimento geradas por *T. plebeius* afetavam os padrões espaciais de escavação do caranguejo *Chasmagnathus granulatus*; Lomovasky et al. (2005) analisaram danos nas conchas de *Tagelus plebeius* na laguna costeira do Mar Chiquita (37°32' S; 57°19' W), revelando a presença de quebras e calcificação anormal na superfície interna de suas valvas; Lomovasky et al. (2006) pesquisaram o efeito do orifício do caranguejo *Chasmagnathus granulatus* sobre a população de *T. plebeius* e Vásquez et al. (2006) descreveram parasitas e suas respectivas histopatologias neste molusco, dentre outros.

Dungan et al. (2002) analisaram a ocorrência de doenças epizoóticas em uma população de *T. plebeius*, juntamente com *Mya arenaria* na Baía de Chesapeake, Maryland, Estados Unidos.

No Brasil, alguns estudos já foram realizados sobre a dinâmica populacional de *T. plebeius*, como o de Viégas (1981), considerando sua dinâmica e produção no Canal do Calunga (9°41'30" S; 35°47'00" W), em Maceió – AL e a pesquisa de Abrahão e Amaral (1999), sobre o tamanho, densidade e distribuição desta espécie na Praia da Enseada (23°49' S; 45°26' W), em São Sebastião – SP.

Estudos sobre a reprodução de *T. plebeius* foram realizados por Matos et al. (1997), que analisaram o ciclo sexual de espécimes coletados no estado do Pará, através do estudo ultraestrutural de seu espermatozóide. Ceuta (2007) estudou a reprodução, ecologia populacional e simbiontes associados a *T. plebeius* na Coroa do Meio, estuário do Rio Cachoeira (14°46'30" S; 39°03'20" W), em Ilhéus - BA. Na Argentina, Cledón et al. (2004) estudaram o ciclo reprodutivo desta espécie na laguna costeira do Mar Chiquita (37°40' S; 57°26' W).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de Estudo

O estuário do Rio Ceará ($03^{\circ}42'09.8''$ S; $38^{\circ}35'49.0''$ W) (Figuras 1.1 e 1.2), localizado no estado do Ceará, na divisa dos municípios de Fortaleza (oeste) e Caucaia (leste) foi o local escolhido para a realização deste estudo.

De acordo com Alcântara-Filho (1978), este ambiente é considerado como temporário, com características típicas de estuário somente durante o período chuvoso, quando a precipitação e deságüe do rio são maiores do que a evaporação, e a circulação apresenta características tipicamente estuarinas. As águas estuarinas que inundam o manguezal do Rio Ceará se apresentam constantemente turvas. A salinidade varia consideravelmente em função da vazão do rio e da amplitude das marés e a temperatura é, em geral, elevada. Abrange uma área de aproximadamente 500 ha de manguezal (ARAÚJO; FREIRE, 2007).

Quanto à sua geologia e geomorfologia, este ambiente está entalhado na idade do terciário/quaternário, com sedimentos representados pelo Grupo Barreiras (com características argilo-arenosas, relevo tabular com cotas altimétricas baixas e suave inclinação para o mar), pelas dunas (constituídas por areias quartzosas, móveis ou fixas), pelos “beach-rocks” (antigas linhas de costa que, conforme a estação do ano são cobertos e descobertos de areias pela ação das ondas) e pelas planícies aluvial e fluvio-marinha (depósitos recentes do quaternário, que são inundados diariamente pelas águas fluviais e pelas marés respectivamente). Quanto ao clima, a temperatura média anual do referido estuário é de 22 a 30°C, com umidade relativa média de 80%. A pluviometria média anual é de 1.000 a 1.500 mm (SEMACE, 2006). O clima local é equatorial úmido e semi-árido, com precipitação máxima nos meses de março a julho (MIRANDA et al., 1988).

O estuário do Rio Ceará apresenta peculiaridades ambientais que o torna um ambiente com uma área de grande valor ecológico e turístico e cujos mangues representam um ecossistema de sobrevivência para um grande número de animais. Lá habitam diversas espécies da fauna e da flora que possuem adaptações fisiológicas e/ou morfológicas que as fazem resistir às variações ambientais do local (SEMACE, op cit).

O rio Ceará, com cerca de 60 km de extensão, nasce na Serra de Maranguape e desemboca no Oceano Atlântico, depois de percorrer dezenas de quilômetros. Apresenta um regime intermitente, ficando seu curso inferior muitas vezes apenas sob a influência das

marés, cujo efeito se faz sentir até aproximadamente 9 km da desembocadura do rio (MIRANDA et al., 1988). Sua foz apresenta uma dinâmica diferencial resultante da interação de diversos fatores como mudanças constantes ocorridas no litoral ao longo dos anos, provocando constante evolução devido aos fluxos interativos de sedimentação, como a desembocadura dos rios, precipitações pluviométricas, águas subterrâneas, processos eólicos e as correntes marinhas (SOUZA et al., 2000).

Segundo dados da SEMACE (2006), o manguezal do estuário do Rio Ceará é composto pelas seguintes espécies: *Rhizophora mangle* (mangue sapateiro ou vermelho), *Avicennia schaueriana* e *Avicennia germinans* (mangue canoé ou preto), *Laguncularia racemosa* (mangue rajadinho ou branco) e *Conocarpus erectus* (mangue botão ou ratinho). Na fauna, ocorre a presença de espécies de moluscos, crustáceos, peixes, aves, poliquetas e mamíferos. Dentre os moluscos comumente encontrados, destacam-se os bivalves *Tagelus plebeius* (unha-de-velho), *Lucina pectinata* (rapacoco), *Macoma constricta*, *Crassostrea rhizophorae* (ostra-do-mangue), *Anomalocardia brasiliiana* (berbigão), *Mytella falcata* (sururu), *Iphigenia brasiliiana*, *Donax striatus* e gastrópodes como *Neritina virginiae* (buzinho), *Nassarius vibex* e *Pugilina morio*. Alguns crustáceos como *Penaeus schimitti* (camarão branco), *Goniopsis cruentata* (caranguejo aratu), *Ucides cordatus* (caranguejo-uçá), *Uca* sp (cicié) e *Callinectes* sp. (siri) também estão presentes. Também ocorre a presença de aves, como o maçarico.

Por meio do Decreto nº 25.413, foi criada em 29 de março de 1999 a Área de Proteção Ambiental denominada *APA do Estuário do Rio Ceará*, localizada na divisa dos municípios de Fortaleza (oeste) e Caucaia (leste), que abrange uma área de 2.744,89 ha e está projetada na zona 24M do fuso Meridiano Central de 39° (ARAÚJO; FREIRE, 2007). Segundo dados da SEMACE (op cit), para a sua criação foram considerados alguns aspectos, tais como as peculiaridades ambientais do estuário, que tornam aquele ecossistema uma área de grande valor ecológico e turístico; a natural fragilidade do equilíbrio ecológico da região, em permanente estado de risco, face às intervenções antrópicas; a necessidade de conscientização da população regional sobre a preservação da área pela sua riqueza florística, faunística, hídrica, paisagística e de consolidação de ações para o seu desenvolvimento sustentável. O acompanhamento das atividades desenvolvidas nesta APA, bem como o controle e a fiscalização são de responsabilidade da Superintendência Estadual do Meio Ambiente - SEMACE.



Figura 1.1 - Estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE.



Figura 1.2 - Imagem de satélite do estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, mostrando a área de estudo (QUICKBIRD, Zona 24 S).

3.2. Procedimento de Campo

Os exemplares de *Tagelus plebeius* foram coletados mensalmente de abril de 2006 a junho de 2007, totalizando 15 (quinze) coletas. As amostragens foram realizadas em marés diurnas de sizígia, de acordo com as Tábuas de Marés divulgadas pelo Departamento de Hidrologia e Navegação da Marinha (DNH) para o Porto do Mucuripe nos anos de 2006 e 2007 (BRASIL, 2006; 2007).

Por se tratar de um molusco encontrado naturalmente enterrado em bancos arenolodosos em profundidades que podem variar de 30- 75 cm, os exemplares de *Tagelus plebeius* foram coletados ao acaso, utilizando-se uma pá de bico de tamanho grande (Figura 1.3a). O critério utilizado para encontrar os organismos era indicado pela observação no sedimento das aberturas pares dos orifícios dos sifões característicos deste bivalve (Figura 1.3b).

Aproximadamente 450 indivíduos foram coletados durante os 15 (quinze) meses de estudo, os quais a cada mês eram escolhidos aleatoriamente 30 exemplares para a análise histológica das gônadas.

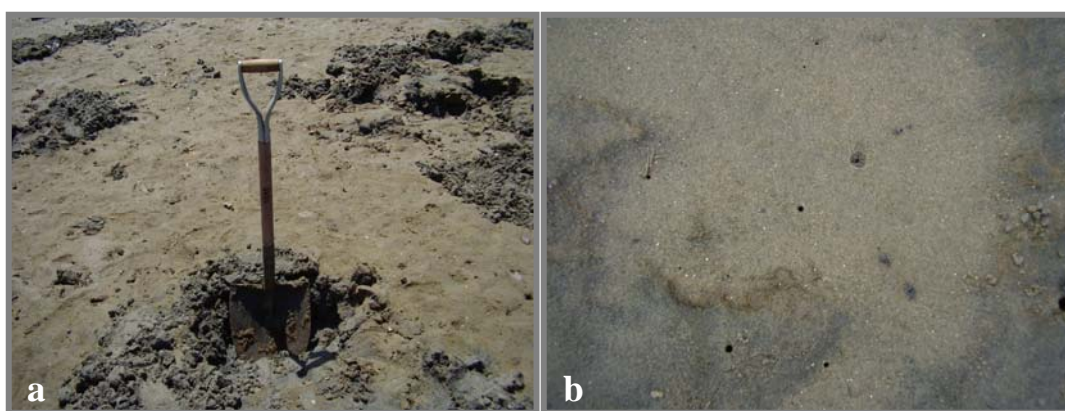


Figura 1.3 – Coleta dos exemplares de *Tagelus plebeius*. (a) Pá de bico utilizada na coleta; (b) Orifícios dos sifões no sedimento do estuário do Rio Ceará.

Para o estudo da densidade populacional de *Tagelus plebeius* foi utilizado um quadrado de 50 x 50 cm como amostrador (Figura 1.4a). Em cada coleta, o quadrado era jogado 10 (dez) vezes ao acaso na área e o número de aberturas pares anotado. Em seguida, o sedimento era retirado e os animais contados para a confirmação (Figura 1.4b).

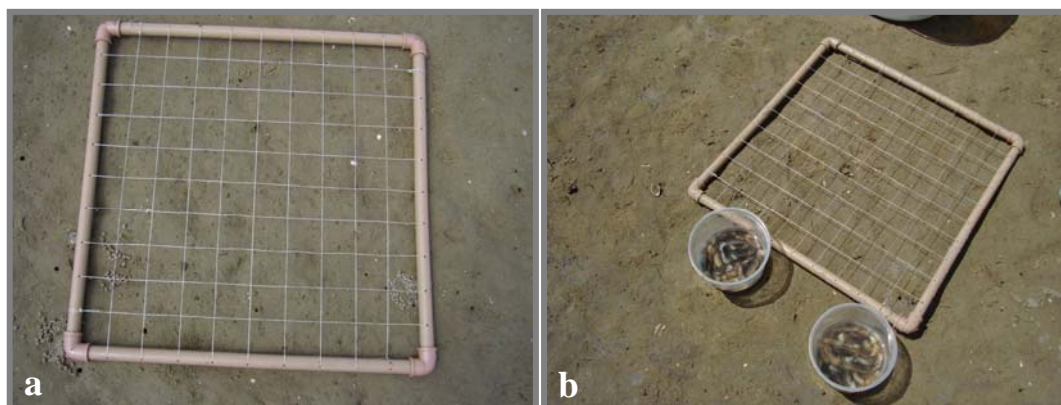


Figura 1.4 – Amostrador utilizado para o estudo da densidade populacional de *Tagelus plebeius*. (a) Detalhe do quadrado de 50 x 50 cm; (b) Quadrado e potes contendo os exemplares do molusco.

A temperatura do ar, da água e do sedimento foi medida na área onde os indivíduos foram coletados, bem como a salinidade da água. Para a observação da temperatura, foi utilizado um termômetro digital tipo espeto da marca Incoterm (Figuras 1.5a, 1.5b e 1.5c). Para as medidas de salinidade foi utilizado um refratômetro manual portátil modelo RTS – 101 ATC, da marca Instrutherm. Dados de precipitação pluviométrica para o município de Fortaleza foram obtidos através da Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME).

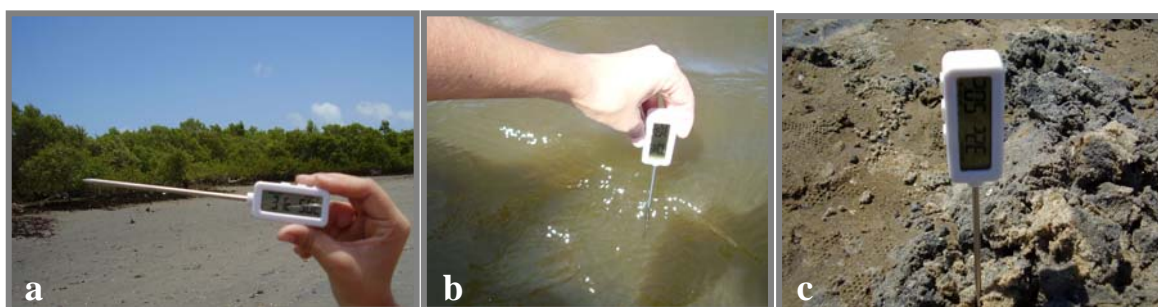


Figura 1.5 - Medição das variáveis ambientais em campo. (a) Temperatura do ar; (b) Temperatura da água; (c) Temperatura do sedimento.

As amostras do sedimento foram coletadas nos meses de abril de 2006 e de julho de 2006 a junho de 2007, para as análises granulométricas e do teor de matéria orgânica (Figura 1.6a).

Depois de coletados os animais foram acondicionados em potes plásticos para o transporte até o laboratório, onde foram feitas as análises (Figura 1.6b).

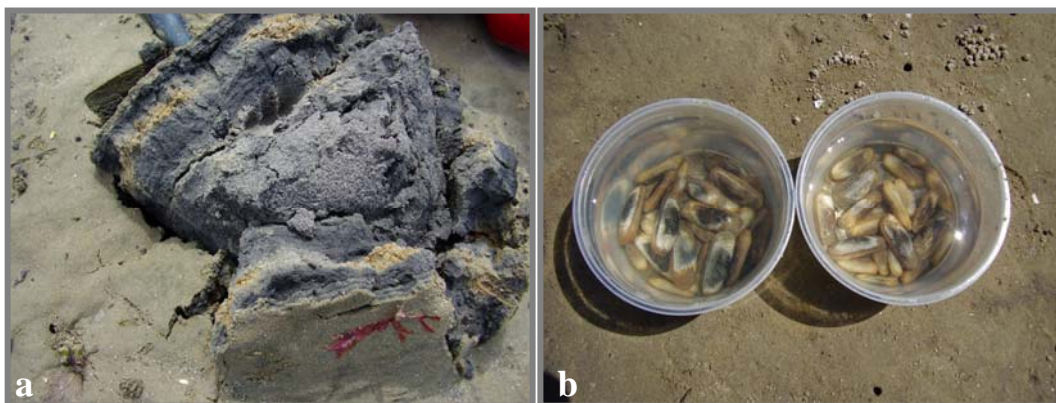


Figura 1.6 - Coleta de *Tagelus plebeius*. (a) Retirada do sedimento; (b) Transporte.

3.3. Procedimento de Laboratório

3.3.1. Análise Granulométrica e do Teor de Matéria Orgânica

As análises granulométricas e do teor de matéria orgânica do sedimento foram realizadas no Laboratório de Geologia Marinha da Divisão de Oceanografia Abiótica do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC).

As amostras de sedimento foram coletadas no mês de abril de 2006 e de julho de 2006 a junho de 2007, em 13 (treze) meses, juntamente com a coleta dos exemplares de *Tagelus plebeius* (Figuras 1.7a e 1.7b). No laboratório, as amostras foram mantidas congeladas até o processamento. Depois foram lavadas e posteriormente secas em estufa a uma temperatura de 60°C. A seguir, foram quarteadas manualmente para a obtenção de uma quantidade próxima a 100g de sedimento para a análise granulométrica. Posteriormente, foram lavadas sobre uma peneira (acoplada à pia por um suporte) de malha com abertura igual a 0,062 mm, com o objetivo de separar os sedimentos mais finos (silte e argila) de grosseiros (areia e cascalho), novamente, colocadas em estufa para a secagem.

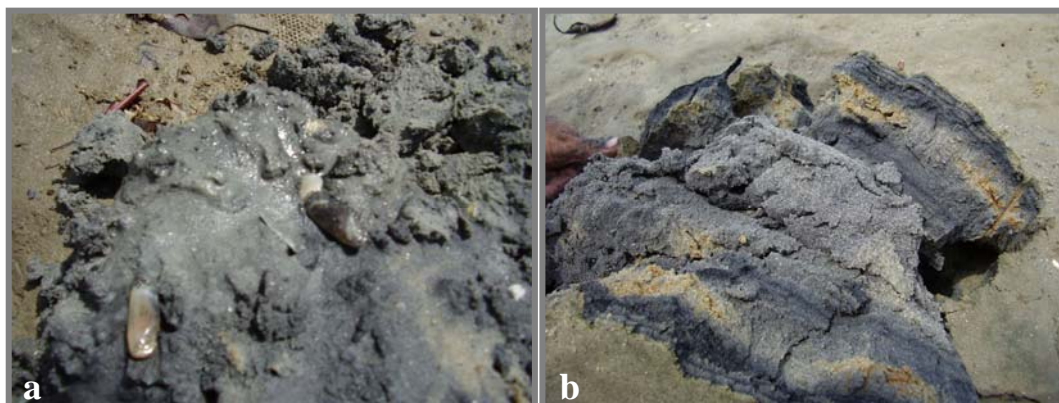


Figura 1.7 - Amostras para análise de granulometria e matéria orgânica. (a) Detalhe do sedimento do estuário do Rio Ceará com *Tagelus plebeius*; (b) Coleta do sedimento para análises.

O material grosseiro seguiu para um agitador mecânico (“rot up”), em um jogo de peneiras com aberturas de $\frac{1}{4}$ de phi, de acordo com a escala de classificação de Wentworth (1922) in Suguio (1973), variando de 2 a 4 phi (onde $\text{phi} = -\log_2 d$, sendo “d” o diâmetro em milímetros dos grãos), por 10 (dez) minutos. As frações granulométricas retidas em cada peneira foram pesadas em balança de precisão analítica. Os parâmetros estatísticos, média e mediana, assim como a seleção e a classificação textural do sedimento foram obtidos através do programa ANASED 5j (versão 5.0), desenvolvido pelo Laboratório de Geologia Marinha e Aplicada da Universidade Federal do Ceará – UFC.

Para a análise do teor de matéria orgânica, aproximadamente 3g das amostras relativas a cada mês de coleta foram pesados, colocados em cadinhos de porcelana numerados e levados para um forno mufla, onde foram mantidas a uma temperatura de 450° C, por aproximadamente 2 horas. Após esse período, foram retiradas e depois de estarem frias foram novamente pesadas, para ser calculado o teor de matéria orgânica do sedimento.

O teor de matéria orgânica total foi obtido através do método gravimétrico e a interpretação dos valores calculados para o tamanho médio do grão seguiu Suguio (1973). O tratamento estatístico dos dados granulométricos foi baseado no método de Folk e Ward (1957).

3.3.2. Análise da Densidade e do Grau de Dispersão dos Indivíduos

A densidade foi expressa em número de indivíduos/m², tendo sido registrada mensalmente durante o período da pesquisa. As densidades médias obtidas na área de coleta ao longo dos 15 (quinze) meses de estudo foram comparadas através da análise de variância não paramétrica de Kruskal-Wallis, utilizando-se o programa STATISTICA ® versão 6.0.

O grau de dispersão dos indivíduos foi medido pelo índice de Morisita (Id), proposto por Krebs (1999), baseado no número de *T. plebeius* por quadrados de 0,25 m². O *N* representou o número total de indivíduos, contidos em cada quadrado contado. A dispersão dos indivíduos seguiu o seguinte critério: agregada (Id>1), aleatória (Id=1) e uniforme (Id=0). A significância do Índice de Morisita (Id) foi identificada utilizando o teste de Qui-quadrado (X^2). O valor calculado do X^2 foi comparado com o valor crítico apropriado com (*n* – 1) graus de liberdade e um nível de significância igual a 0,05. As correlações entre as variáveis ambientais (precipitação pluviométrica, salinidade e temperatura da água, ar e sedimento) e biológicas (densidade e índice de dispersão dos organismos) foram obtidas através da análise não paramétrica de Spearman, utilizando-se o programa STATISTICA ® versão 6.0.

3.3.3. Análise do Ciclo Reprodutivo

Os procedimentos para a análise histológica dos organismos foram realizados no Laboratório de Zoobentos da Divisão de Oceanografia Biótica do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC).

O estudo do ciclo reprodutivo de *Tagelus plebeius* foi realizado com o auxílio de técnicas histológicas. Segundo Mesquita et al. (2001), a análise histológica das gônadas durante o ciclo sexual é condição básica para que se obtenha parâmetros substanciais para o entendimento até mesmo de impactos sobre as espécies. Também permite observar as mudanças e transições que ocorrem na constituição dos tecidos gonadais, as quais acompanham variações do meio exterior, podendo ser relacionadas com atributos populacionais (CHRISTIANSEN et al., 1973).

Mensalmente, os animais, trazidos ao laboratório ainda vivos, eram colocados em um aquário de 4 litros com água proveniente da área de estudo (Figuras 1.8a e 1.8b).

Aleatoriamente, eram separados 30 indivíduos, os quais eram medidos o comprimento ântero-posterior, a largura e a altura da concha, através de um paquímetro de precisão 0,05 mm (Figuras 1.9a e 1.9b). Em seguida, eram pesadas a concha e a parte mole de cada animal em uma balança eletrônica de precisão analítica, modelo FA 2104N, da marca Bioprecisa (Figuras 1.9c e 1.9d). A parte mole do animal era retirada com o auxílio de uma lâmina de bisturi estéril e de uma pinça.

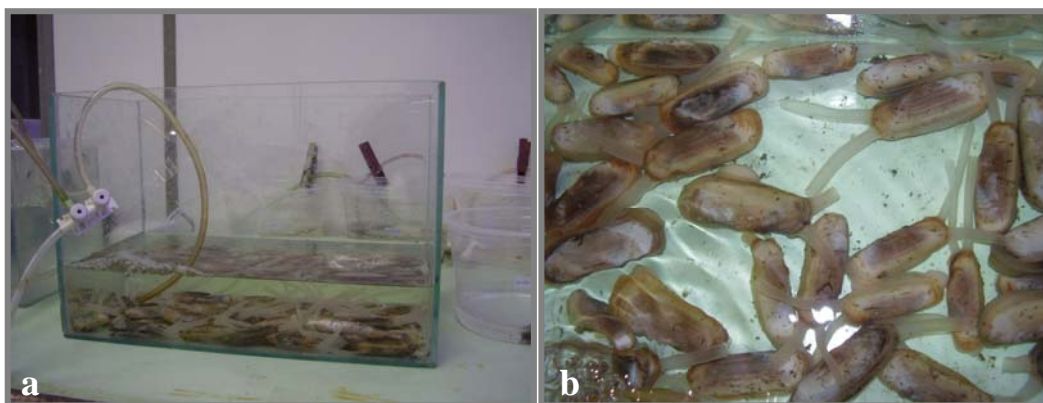


Figura 1.8 - Exemplos de *Tagelus plebeius* acondicionados em aquário. (a) Visão geral do aquário com os moluscos; (b) Detalhe dos animais dentro do aquário.

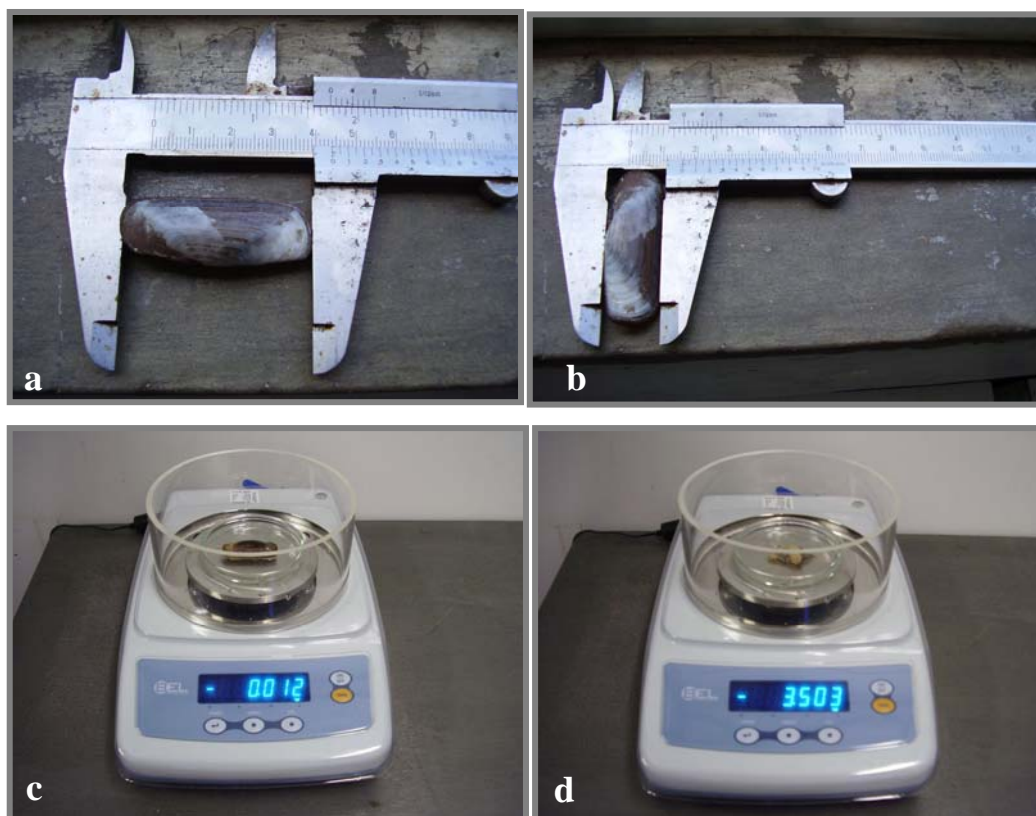


Figura 1.9 – Medição e pesagem dos exemplares de *Tagelus plebeius*. (a) Medição do comprimento ântero-posterior da concha; (b) Medição da altura da concha. (c) Pesagem da concha; (d) Pesagem da parte mole do animal.

Cada animal era numerado e a sua parte mole fixada em solução de Bouin salino por 8 horas. Após este período, eram lavados em água corrente, para a retirada do excesso do fixador e preservados em álcool etílico 70%.

O processamento histológico seguiu os procedimentos de rotina, passando por uma série de desidratação em álcool e diafanização em xilol, até a inclusão em parafina. Cortes transversais dos blocos de parafina foram realizados em micrótomo manual e navalha de aço em espessuras de 5 μm . Os cortes foram distribuídos em lâminas de vidro previamente revestidas com solução de albumina, para melhor aderência dos mesmos à lâmina. Em seguida foram submetidos aos corantes Hematoxilina de Harris-Eosina (HE) modificado de Junqueira e Junqueira (1983) (ver anexos).

Com base no estudo microscópico de secções longitudinais das gônadas de machos e fêmeas de *Tagelus plebeius* foram identificadas e descritas suas células germinativas. Adaptando-se à espécie em estudo, a classificação das células germinativas seguiu as denominações propostas por Barreira e Araújo (2005), em um estudo feito com uma população de *Anomalocardia brasiliiana*, na Praia do Canto da Barra, no município de Fortim – CE. Já a classificação das fases do ciclo sexual baseou-se na pesquisa de Ceuta (2007), com uma população de *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Cachoeira, em Ilhéus – BA.

As células foram observadas e fotografadas em microscópio binocular com óptica infinita, modelo TNB-04T-PL, marca OPTON, com câmera digital acoplada (modelo DCE-2), para a verificação do grau de desenvolvimento da série gametogênica.

A razão sexual foi calculada mensalmente pela relação $r = \text{número de machos/número de fêmeas}$ e analisada estatisticamente pelo teste do “Qui-quadrado” (χ^2) (onde, H_0 : r é igual a 1; H_1 : r é diferente de 1), assumindo um nível de significância de 95%.

As correlações entre o comprimento ântero-posterior, altura e largura da concha, bem como o peso da concha e da parte mole do animal foram obtidas através da análise paramétrica de Pearson, utilizando-se o programa STATISTICA ® versão 6.0.

Para estimar o crescimento das células femininas ao longo do período estudado, assim como a época de maior incidência de células maduras, em cada mês, foram medidos, em aproximadamente 100 células, o diâmetro das ovogônias, dos ovócitos pré-vitelogênicos, vitelogênicos e maduros, através de microscópio binocular acoplado ao computador, utilizando-se o programa ScopePhoto © versão 1.0.0.0., sendo expresso em micrômetros (μm).

As correlações entre as fases do desenvolvimento gonadal e as variações sazonais de temperatura, salinidade e precipitação pluviométrica atuantes no local de estudo foram obtidas através da análise não paramétrica de Spearman, utilizando-se o programa STATISTICA ® versão 6.0.

4. RESULTADOS

4.1. Variáveis Ambientais na Área de Estudo

Os valores obtidos para cada variável ambiental observada na área de estudo (temperatura do ar, água e sedimento e salinidade da água) são apresentados na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 - Coletas de *Tagelus plebeius* realizadas no estuário do Rio Ceará, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007 e dados das condições ambientais observadas no local.

Coleta	Nível da Maré	Salinidade	Precipitação mensal observada (mm)	Temperatura média mensal (°C)		
				Ar	Água	Sedimento
26/04/2006	0.0	10	398,7	30	32	34
25/05/2006	0.2	24	405	30	29	28
12/06/2006	0.2	24	189,3	33	31	34
11/07/2006	0.1	29	55,5	32	29	27
09/08/2006	0.0	36	12,5	33	25	26
06/09/2006	0.1	36	10,4	32	28	27
05/10/2006	0.1	35	3,2	30	26	27
07/11/2006	0.2	40	2,7	30	29	30
06/12/2006	0.4	38	11,5	31	28	30
23/01/2007	0.5	40	36,5	29	29	30
22/02/2007	0.4	36	279,8	31	31	28
20/03/2007	0.0	31	335,5	29	29	30
30/04/2007	0.5	5	226,0	29	28	28
30/05/2007	0.5	24	181,6	31	30	30
29/06/2007	0.6	27	81	31	28	31

No decorrer deste estudo, a salinidade variou de 5 a 40, sendo a mínima registrada em abril de 2007 e a máxima nos meses de novembro de 2006 e janeiro de 2007.

A temperatura do ar variou de 33°C, registrada nos meses de junho e agosto de 2006 a 29°C em janeiro, março e abril de 2007. A temperatura da água variou de 32°C em abril de 2006 e 25°C em agosto de 2006. Em relação à temperatura do sedimento, esta variou de 34°C em abril e junho de 2006 e 26°C em agosto de 2006.

A precipitação média mensal para o município de Fortaleza – CE, durante a presente pesquisa, ficou entre 405,0 mm, observada em maio de 2006 e 2,7 mm em novembro de 2006.

De acordo com os dados obtidos, foram observados dois períodos chuvosos durante a presente pesquisa, entre abril e junho de 2006 e entre fevereiro e maio de 2007. Um período de estiagem foi observado de agosto a dezembro de 2006, porém evidenciado principalmente nos meses de outubro e novembro do mesmo ano (Figura 1.10).

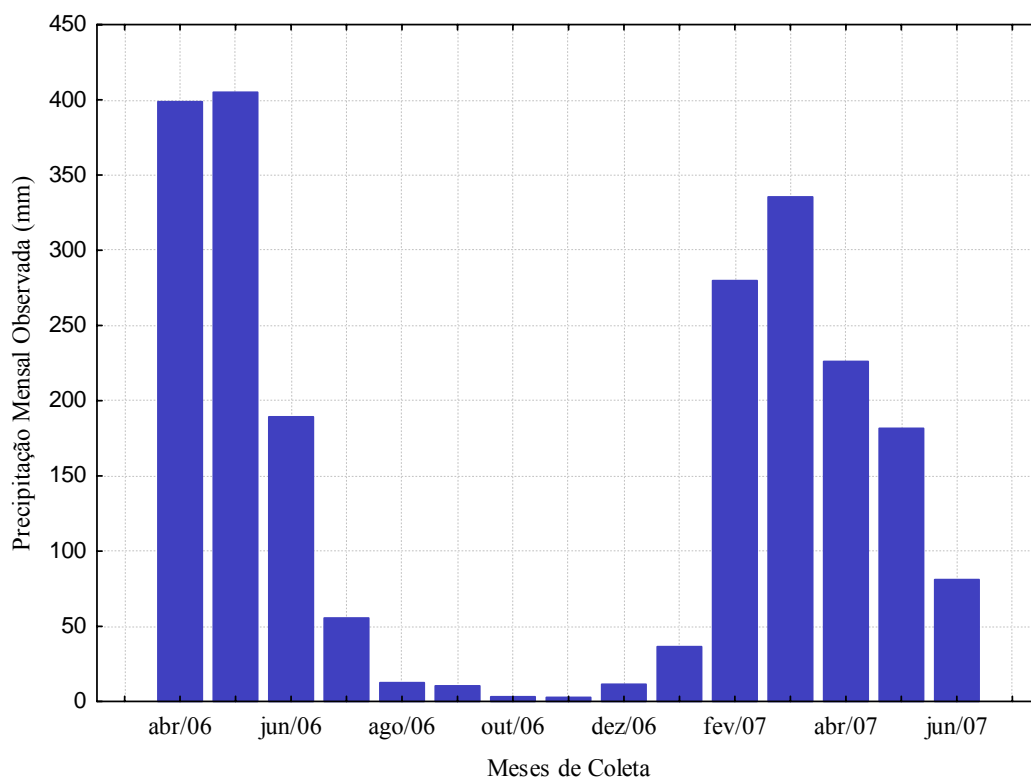


Figura 1.10 - Precipitação mensal observada (mm) no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.

4.2. Análise Granulométrica

Os resultados referentes à caracterização granulométrica do sedimento são apresentados na Tabela 1.2.

Ao longo do período de estudo as áreas selecionadas para a coleta dos exemplares de *Tagelus plebeius* não sofreram alterações importantes na sua constituição granulométrica.

O diâmetro médio dos grãos ficou entre 2,16 phi (janeiro/2007) e 2,66 phi (setembro/2006), correspondendo a areia fina e o seu grau de seleção variou de 0,056 (dezembro/2006) a 1,11 (julho/2006), sendo moderadamente selecionado.

A análise de curtose gráfica variou de 1,161 (valor observado no mês de abril de 2006) a 2,823 (julho de 2006), sendo classificada como leptocúrtica a muito leptocúrtica, respectivamente.

4.3. Análise do Teor de Matéria Orgânica

O conteúdo de matéria orgânica variou de 0,81% a 1,92% durante os meses de estudo. O menor valor foi observado em abril de 2006 e o mais elevado foi correspondente ao mês de abril de 2007. Os resultados obtidos para a análise do teor de matéria orgânica também são apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2 - Análise granulométrica das amostras de sedimento coletadas no estuário do Rio Ceará, durante o mês de abril de 2006 e de julho de 2006 a junho de 2007.

Amostra	Média	Classificação	Mediana	Seleção	Classificação	Curtose	Classificação	Assimetria	Seleção	Cascalho(%)	Areia(%)	Finos (%)	M.O.
abr/06	2,3112	Areia fina	2,359	0,8785	Moderadamente selecionado	11,614	leptocúrtica	-0,0787	0,8785	0,1484	96,91	2,9371	0,81
jul/06	2,5794	Areia fina	24,832	11,189	Moderadamente selecionado	2,823	muito leptocúrtica	0,3569	1,1189	0,4421	94,14	5,4196	1,25
ago/06	2,6867	Areia fina	26,567	0,6253	Moderadamente selecionado	12,846	leptocúrtica	0,108	0,6253	0,0099	95,55	4,4385	1,45
set/06	2,6967	Areia fina	2,663	0,6446	Moderadamente selecionado	11,945	leptocúrtica	0,0918	0,6446	0,3205	95,19	4,4896	1,17
out/06	2,554	Areia fina	25,404	0,7559	Moderadamente selecionado	1,307	leptocúrtica	-0,0103	0,7559	0,1059	96,95	2,9423	1,88
nov/06	2,1768	Areia fina	22,914	0,8084	Moderadamente selecionado	12,462	leptocúrtica	-0,1713	0,8084	0,4240	97,52	2,0511	0,97
dez/06	2,6029	Areia fina	25,991	0,5661	Moderadamente selecionado	12,707	leptocúrtica	0,0257	0,5661	0,0065	97,09	2,8998	0,87
jan/07	2,4732	Areia fina	2,452	0,9531	Moderadamente selecionado	20,594	muito leptocúrtica	0,164	0,9531	0,3674	95,15	4,4756	1,32
fev/07	2,3161	Areia fina	2,338	0,8149	Moderadamente selecionado	13,492	leptocúrtica	-0,0311	0,8149	0,2055	96,22	3,8551	1,27
mar/07	2,2679	Areia fina	2,303	0,7826	Moderadamente selecionado	13,225	leptocúrtica	-0,0724	0,7826	0,2124	97,45	2,3328	1,16
abr/07	2,4395	Areia fina	24,234	10,118	Moderadamente selecionado	19,134	muito leptocúrtica	0,1487	1,0118	0,3954	94,48	4,8375	1,92
mai/07	2,5744	Areia fina	26,037	0,9308	Moderadamente selecionado	17,815	muito leptocúrtica	0,1291	0,9308	0,2598	94,56	5,178	1,58
jun/07	2,1638	Areia fina	22,956	0,9268	Moderadamente selecionado	12,356	leptocúrtica	-0,1125	0,9268	0,5537	95,74	3,7069	1,29

4.4. Análise da Densidade e do Grau de Dispersão dos Indivíduos

Durante o período de estudo, a densidade média mensal de *Tagelus plebeius* apresentou um máximo de 41,2 indivíduos/m², verificado no mês de dezembro de 2006, e um mínimo de 4 indivíduos/m² no mês de setembro de 2006 (Média de 16,16 ± 13,83 ind./m²) (Tabela 1.3 e Figura 1.11).

Tabela 1.3 - Densidade populacional de *Tagelus plebeius* no sedimento do estuário do Rio Ceará, Fortaleza – CE, observada durante o período de maio de 2006 a junho de 2007. \bar{x} = Média; DP = Desvio padrão. ($p < 0,001$).

Mês	Orifícios	Densidade
	$\bar{x} \pm DP$	$\bar{x} \pm DP$
mai/06	2,3 ± 2,58	9,2 ± 10,33
jun/06	2,3 ± 1,41	9,2 ± 5,67
jul/06	1,2 ± 1,13	4,8 ± 4,54
ago/06	1,6 ± 0,84	6,4 ± 3,37
set/06	1,0 ± 0,81	4,0 ± 3,26
out/06	1,8 ± 1,22	7,2 ± 4,91
nov/06	7,2 ± 2,09	28,8 ± 8,39
dez/06	10,3 ± 3,16	41,2 ± 12,65
jan/07	6,0 ± 2,00	24,0 ± 8,00
fev/07	3,4 ± 1,77	13,6 ± 7,10
mar/07	3,6 ± 2,50	14,4 ± 10,01
abr/07	8,6 ± 2,91	34,4 ± 11,65
mai/07	3,7 ± 2,62	14,8 ± 10,50
jun/07	3,6 ± 2,71	14,4 ± 10,86

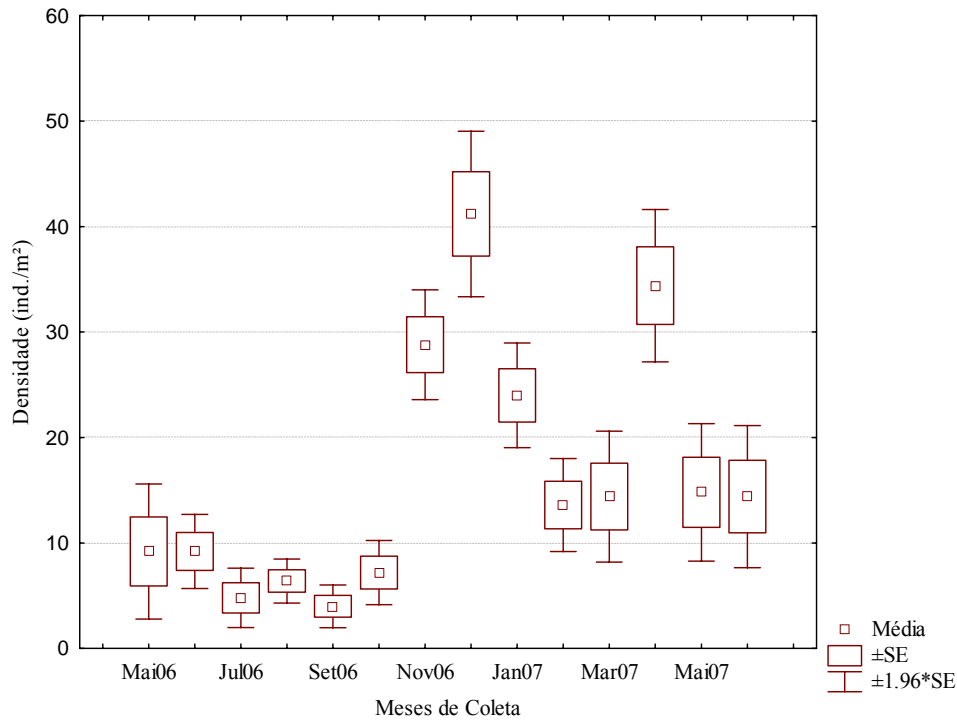


Figura 1.11 - Densidade (ind./m²) de *Tagelus plebeius* coletados no banco areno-lamoso do estuário do rio Ceará durante o período de maio de 2006 a junho de 2007.

De acordo com a análise do índice de dispersão de Morisita (Id), apenas nos meses de maio de 2006 e junho de 2007, a distribuição de *T. plebeius* na área amostrada foi do tipo agregada. Em todos os outros meses da presente pesquisa a distribuição deste bivalve foi do tipo aleatória (Tabela 1.4).

Tabela 1.4 - Valor do índice de dispersão de Morisita (Id) para a população de *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, observada durante o período de maio de 2006 a junho de 2007. (N², n° total mensal de pares de orifícios ao quadrado; N, n° total de indivíduos em cada quadrado contado; X², qui-quadrado).

Mês	N²	N	Id	X²	Distribuição
mai/06	113	23	1,77	26,13	agregada
jun/06	71	23	0,94	7,86	aleatória
jul/06	26	12	1,06	9,66	aleatória
ago/06	32	16	0,66	4	aleatória
set/06	16	10	0,66	6	aleatória
out/06	46	18	0,91	7,55	aleatória
nov/06	558	72	0,95	5,5	aleatória
dez/06	1151	103	0,99	8,74	aleatória
jan/07	396	60	0,94	6	aleatória
fev/07	144	34	0,98	8,35	aleatória
mar/07	186	36	1,19	15,66	aleatória
abr/07	816	86	0,99	8,88	aleatória
mai/07	199	37	1,21	16,78	aleatória
jun/07	196	36	1,26	18,44	agregada

4.5. Variáveis Ambientais e Densidade dos Organismos

A correlação entre as variáveis ambientais (precipitação pluviométrica, salinidade, temperatura da água, ar e sedimento) e as variáveis biológicas (densidade e índice de dispersão dos organismos), através da análise não paramétrica de Spearman, foi significativa entre a temperatura do sedimento e a densidade dos organismos ($r=0,60$, $p=0,02$), bem como entre o índice de dispersão de Morisita e a precipitação pluviométrica ($r=0,62$, $p=0,01$). Observou-se também uma correlação negativa significativa entre a densidade dos organismos e a temperatura do ar ($r= -0,58$, $p=0,02$).

4.6. Análise do Ciclo Reprodutivo

4.6.1. Proporção e Diferenciação sexual

Durante o presente estudo, foram analisados 450 exemplares de *Tagelus plebeius*. As freqüências e as proporções sexuais observadas durante o período analisado são apresentadas na Tabela 1.5.

A determinação sexual destes animais foi realizada através do exame histológico da gônada, tendo sido identificados 196 machos (43,5%) e 173 fêmeas (38,44%) (Tabela 1.5). A razão sexual média foi de 1,13 M: 0,88 F. Os resultados do teste χ^2 (Qui-Quadrado) aceitaram a hipótese nula (H_0), para a razão sexual igual a 1 para a espécie pesquisada ($\chi^2 = 3,84$; GL=1; $\alpha=0,05$) (Apêndice).

O número de indivíduos indiferenciados (imaturos sexualmente) correspondeu a 4% do total de organismos. Também foram encontrados 63 indivíduos que apresentavam somente células iniciais em desenvolvimento (organização folicular), representando 14% dos exemplares analisados. Detalhes sobre a caracterização histológica, que permitiu o reconhecimento dos sexos, são apresentados adiante.

Tabela 1.5 - Freqüência e proporção sexual dos exemplares de *Tagelus plebeius* coletados no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.

Mês de Coleta	Machos		Fêmeas		Indiferenciados		Organização Folicular		Total	Proporção Sexual Machos e Fêmeas
	N	%	N	%	N	%	N	%		
abr/06	14	46,6	15	50	1	3,3	0	0	30	0,93
mai/06	13	43,3	14	46,6	2	6,6	1	3,3	30	0,92
jun/06	12	40	7	23,3	5	16,6	6	20	30	1,7
jul/06	11	36,6	13	43,3	1	3,3	5	16,6	30	0,84
ago/06	14	46,6	14	46,6	0	0	2	6,6	30	1
set/06	12	40	14	46,6	4	13,3	0	0	30	0,85
out/06	18	60	9	30	1	3,3	2	6,6	30	2
nov/06	12	40	15	50	0	0	3	10	30	0,8
dez/06	13	43,3	12	40	2	6,6	3	10	30	1,08
jan/07	18	60	9	30	0	0	3	10	30	2
fev/07	19	63,3	11	36,6	0	0	0	0	30	1,72
mar/07	8	26,6	17	56,6	0	0	5	16,6	30	0,47
abr/07	12	40	7	23,3	1	3,3	10	33,3	30	1,71
mai/07	11	36,6	11	36,6	1	3,3	7	23,3	30	1
jun/07	9	30	5	16,6	0	0	16	53,3	30	1,8
Total	196	43,5	173	38,4	18	4	63	14	450	1,12

Para a análise da diferenciação e da proporção sexual, os indivíduos indiferenciados não foram considerados, bem como os que estavam em “Organização Folicular” (OF). Ao longo dos meses de estudo, a proporção de machos e fêmeas oscilou de 0,47 a 2 (Tabela 1.5), sendo os machos mais abundantes que as fêmeas, entretanto, conforme mencionado anteriormente, considerando a média do período, a proporção sexual foi em torno de 1:1 (Figura 1.12).

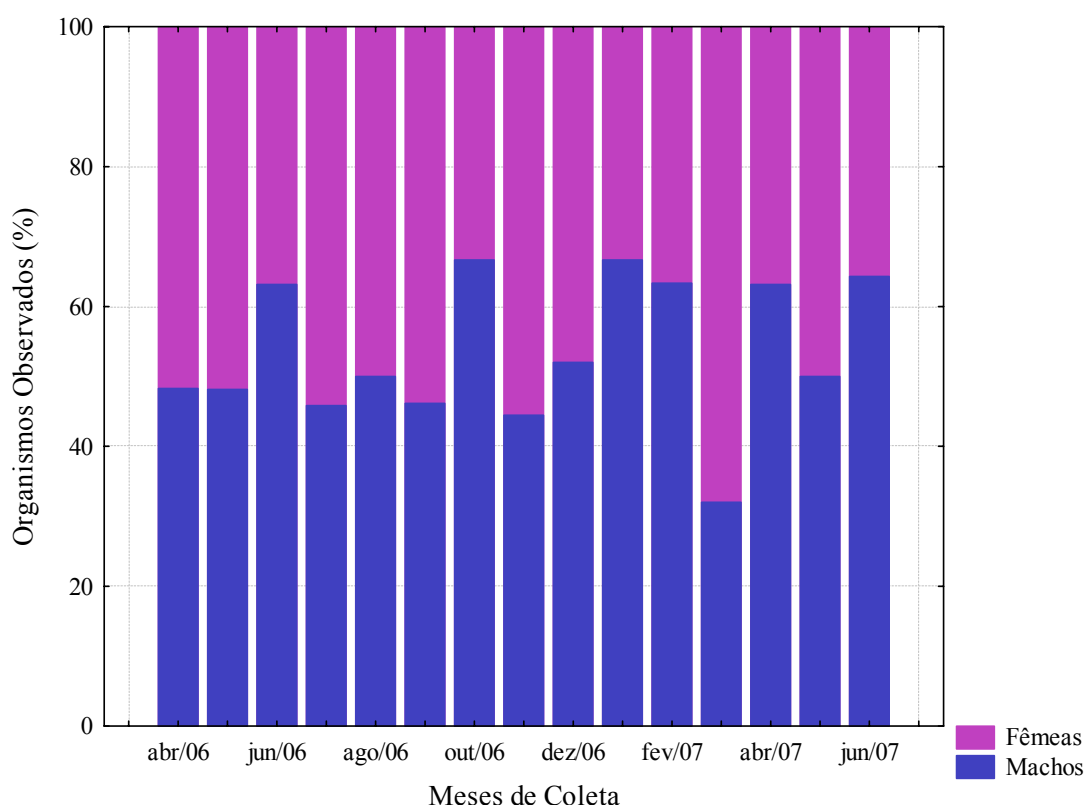


Figura 1.12 - Proporção sexual de *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, Fortaleza – CE, observada durante o período de abril de 2006 a junho de 2007. $n= 369$.

4.6.2. Medição e Pesagem dos Exemplares

Os resultados de comprimento ântero-posterior da concha de machos e fêmeas são apresentados na Tabela 1.6. Os machos apresentaram um tamanho mínimo de 23,0 mm e máximo de 53,2 mm (Média de $40,3 \pm 6,21$ mm). As fêmeas apresentaram um tamanho mínimo de 22,0 mm e máximo de 62,5 mm (Média de $40,9 \pm 5,72$ mm). Os menores valores para o comprimento

médio dos exemplares foram observados nos meses de maio/06 (34,8 mm) e junho/06 (32,10 mm). Os maiores valores foram encontrados nos meses de outubro/06 (42,16 mm) e novembro/06 (41,71 mm).

Tabela 1.6 - Comprimento médio da concha de indivíduos de *Tagelus plebeius* coletados no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE, durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.

Mês de Coleta	Machos			Fêmeas		
	Tamanho (mm)			Tamanho (mm)		
	Mínimo	Máximo	$x \pm DP$	Mínimo	Máximo	$x \pm DP$
abr/06	36,4	53,2	44,8 ± 4,5	33,6	62,5	44,6 ± 6,7
mai/06	29,9	45,6	34,9 ± 3,9	33	40,6	36 ± 2,2
jun/06	23	41,1	32,1 ± 4,9	23	41,2	33,5 ± 6,0
jul/06	26,6	50,8	43,5 ± 8,0	29	51,7	41,9 ± 5,7
ago/06	32	48,8	44,2 ± 4,9	39	55,4	44,1 ± 4,51
set/06	28,8	49,2	39,7 ± 6,5	28,7	48,3	40,2 ± 5,93
out/06	29,9	52,3	41,8 ± 6,3	36,8	49,2	42,8 ± 4,27
nov/06	37	49,6	43 ± 3,3	28,4	49,5	42,2 ± 6,82
dez/06	35	47,9	43,1 ± 3,6	31,4	44,6	38,9 ± 3,81
jan/07	31,9	46,1	39,9 ± 3,9	28,6	46,9	39,2 ± 4,83
fev/07	30	46,4	38,9 ± 4,04	35,6	50,5	41,6 ± 4,66
mar/07	28,2	47,1	38,8 ± 6,5	22	46,7	40,7 ± 5,42
abr/07	23,7	47,2	36,3 ± 6,5	37,4	45,7	42,1 ± 3,5
mai/07	33,2	50,2	40,5 ± 6,1	32,5	49,5	42,8 ± 5,3
jun/07	30,8	49,5	40,7 ± 6,5	30,5	44,9	38,9 ± 5,61

As correlações entre o comprimento ântero-posterior, altura, largura, peso e parte mole da concha de *Tagelus plebeius* ao longo do período estudado são apresentadas na Tabela 1.7. Todos os valores obtidos mostraram correlações significativas.

Tabela 1.7 - Correlações de Pearson entre as variáveis medidas em *Tagelus plebeius* durante o período de julho de 2006 a junho de 2007. (N= número total de exemplares).

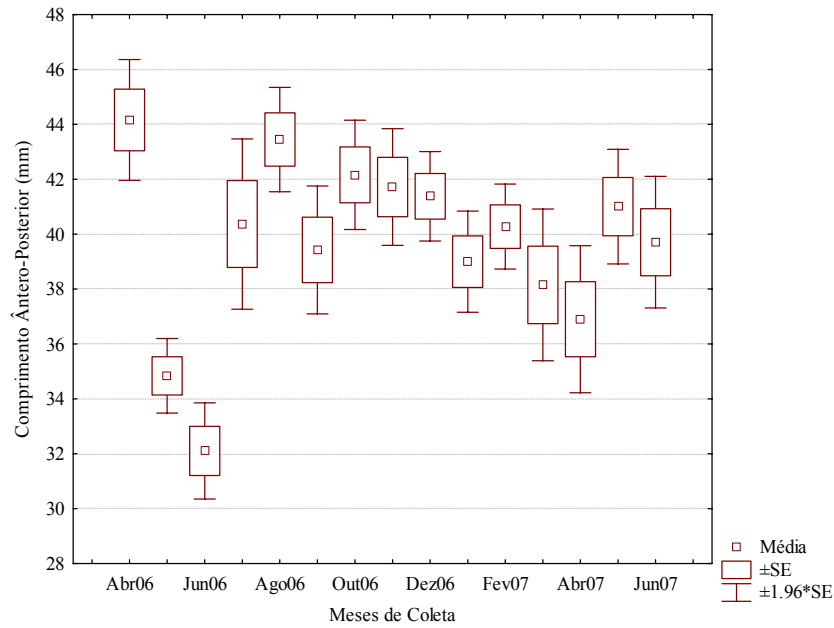
Variáveis	N	r	p
Peso p. mole x comprimento	360	0,9230	0,00
Peso p. mole x altura	360	0,5974	0,00
Peso p. mole x largura	360	0,7282	0,00
Peso concha x comprimento	360	0,8081	0,00
Peso concha x altura	360	0,3846	0,00
Peso concha x largura	360	0,7719	0,00

Considerando as correlações observadas, levou-se em conta o comprimento e o peso dos indivíduos para representar o comportamento das amostras ao longo dos meses de estudo, por estas variáveis apresentarem-se fortemente correlacionáveis. Considerando o comprimento ântero-posterior, observou-se uma diferença significativa entre os meses de estudo ($p=0,000$). Esta diferença ocorreu em função dos menores tamanhos observados nos meses de maio e junho de 2006, tendo os demais meses pesquisados, apresentado uma pequena variação no tamanho dos organismos (Figura 1.13a). A biomassa úmida também apresentou diferenças significativas ao longo dos meses de estudo ($p=0,00$), sendo observada uma diminuição de julho a dezembro de 2006 e um aumento de janeiro a abril de 2007 (Figura 1.13b).

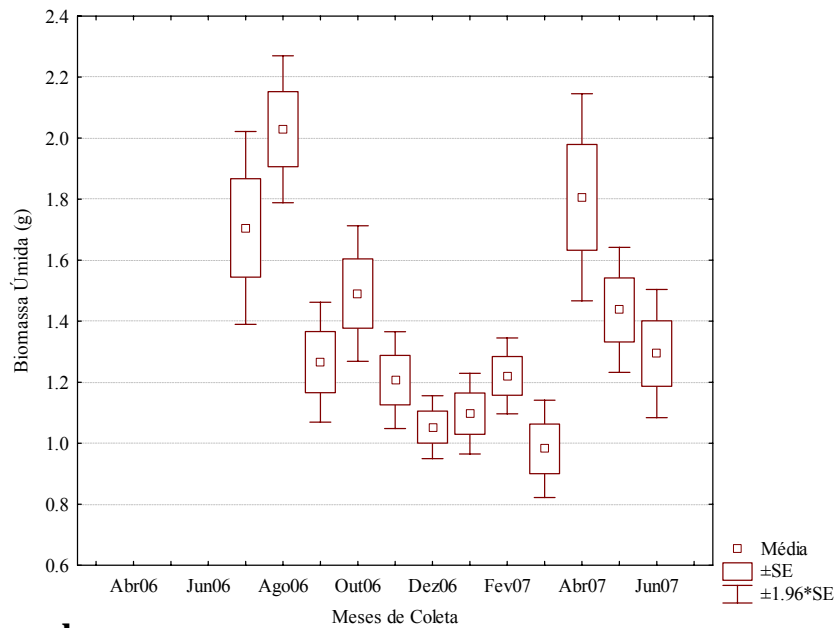
4.6.3. Caracterização da Morfologia Externa das Gônadas

Não foi possível distinguir o sexo ou o estágio de maturação apenas pela observação externa das gônadas. Tanto os machos quanto as fêmeas apresentaram a gônada esbranquiçada, não sendo possível a determinação dos sexos macroscopicamente. Porém, retirando-se uma pequena porção da gônada, por punção, em esfregaço a fresco sobre lâmina, foi possível, através de microscopia óptica, identificar o sexo dos organismos.

O sistema reprodutor de *Tagelus plebeius* é simples e as gônadas são pares, preenchendo, quando maduras, todo o espaço disponível e circulando a glândula digestiva (Figura 1.14).



a



b

Figura 1.13 - Variáveis medidas nos exemplares de *Tagelus plebeius*, no período de abril de 2006 a junho de 2007. (a) Comprimento médio da concha (mm); (b) Biomassa úmida (parte mole) (g).

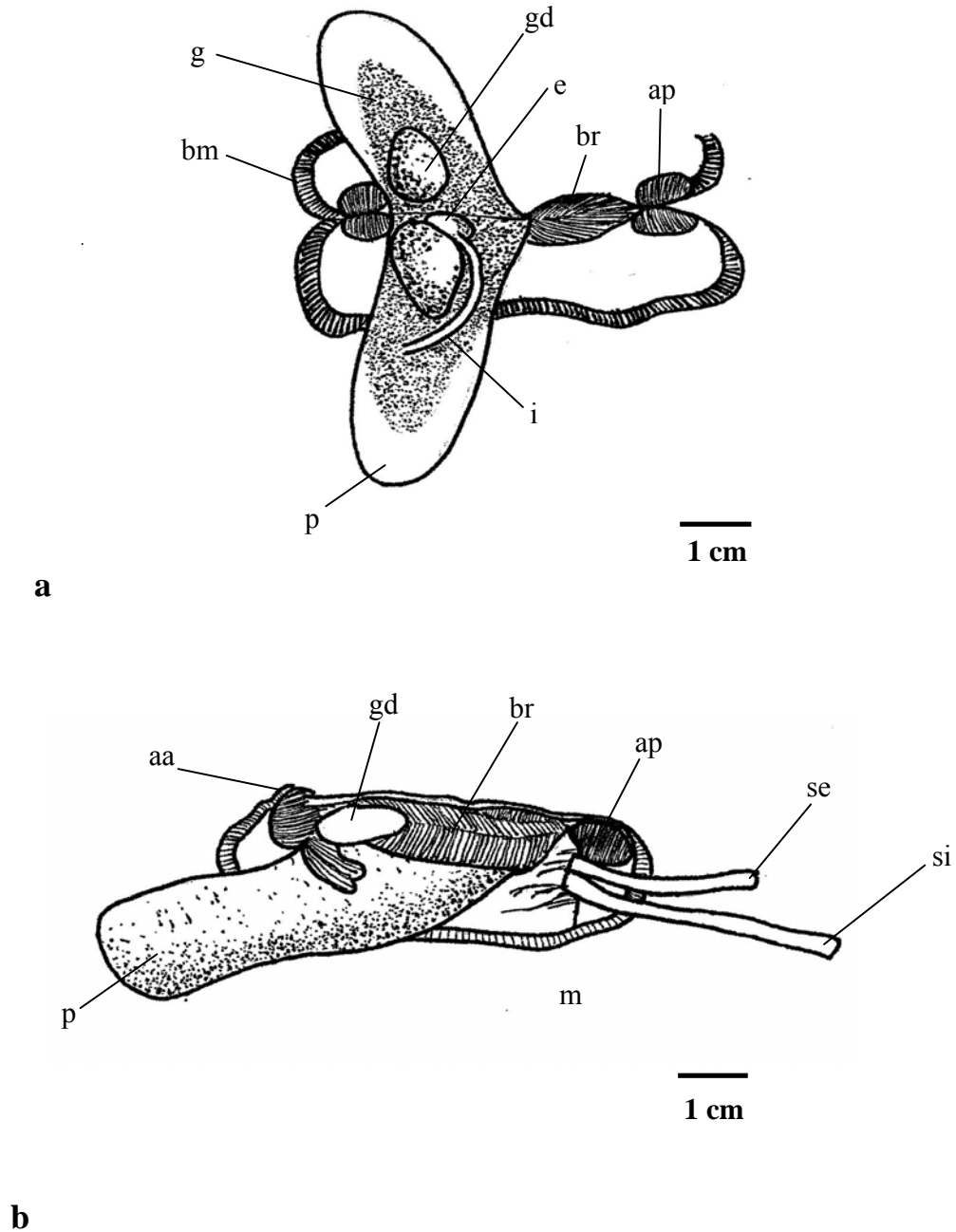


Figura 1.14 - Desenho esquemático das partes moles de *Tagelus plebeius*. (a) vista das partes moles por transparência através do manto. (b) vista da região visceral com o manto rebatido. Legenda: aa = músculo adutor anterior; ap = músculo adutor posterior; bm = bordo do manto; br = brânquia; e = estômago; g = gônada; gd = glândula digestiva; i = intestino; m = manto; p = pé; se = sifão exalante; si = sifão inalante.

4.6.4. Caracterização das Células Germinativas

4.6.4.1. Linhagem Masculina

Baseado nas alterações morfológicas das células germinativas presentes nos tubos testiculares de machos de *Tagelus plebeius*, foi possível identificar os seguintes tipos celulares: (1) espermatogônias; (2) espermatócitos; (3) espermátides; e (4) espermatozóides (Figura 1.15).

As células germinativas se desenvolvem nas paredes dos folículos masculinos.

As espermatogônias são os primeiros tipos celulares a sofrerem diferenciação. Crescem e se multiplicam gerando várias células, através de divisões sucessivas de mitose e meiose. Apresentam forma esférica, com núcleo basófilo, contendo granulações também basófilas e citoplasma acidófilo.

Os espermatócitos apresentam volume citoplasmático menos reduzido que nas espermatogônias, sendo também menores que as mesmas. Podem ser encontrados mais distantes da parede do túbulo testicular. Assim como as espermatogônias, estas células também demonstraram basofilia. Em um estágio de desenvolvimento mais avançado, a cromatina, fortemente condensada, apresentou afinidade pela hematoxilina.

As espermátides são oriundas da divisão meiótica dos espermatócitos, apresentam um pequeno tamanho e citoplasma reduzido.

Os espermatozóides são células maduras diferenciadas que se desenvolvem a partir das espermátides. A região da cabeça e o flagelo são basófilos, sendo este último comprido e muito fino. Podem ser visualizados dispostos em feixes no lúmen do túbulo testicular.

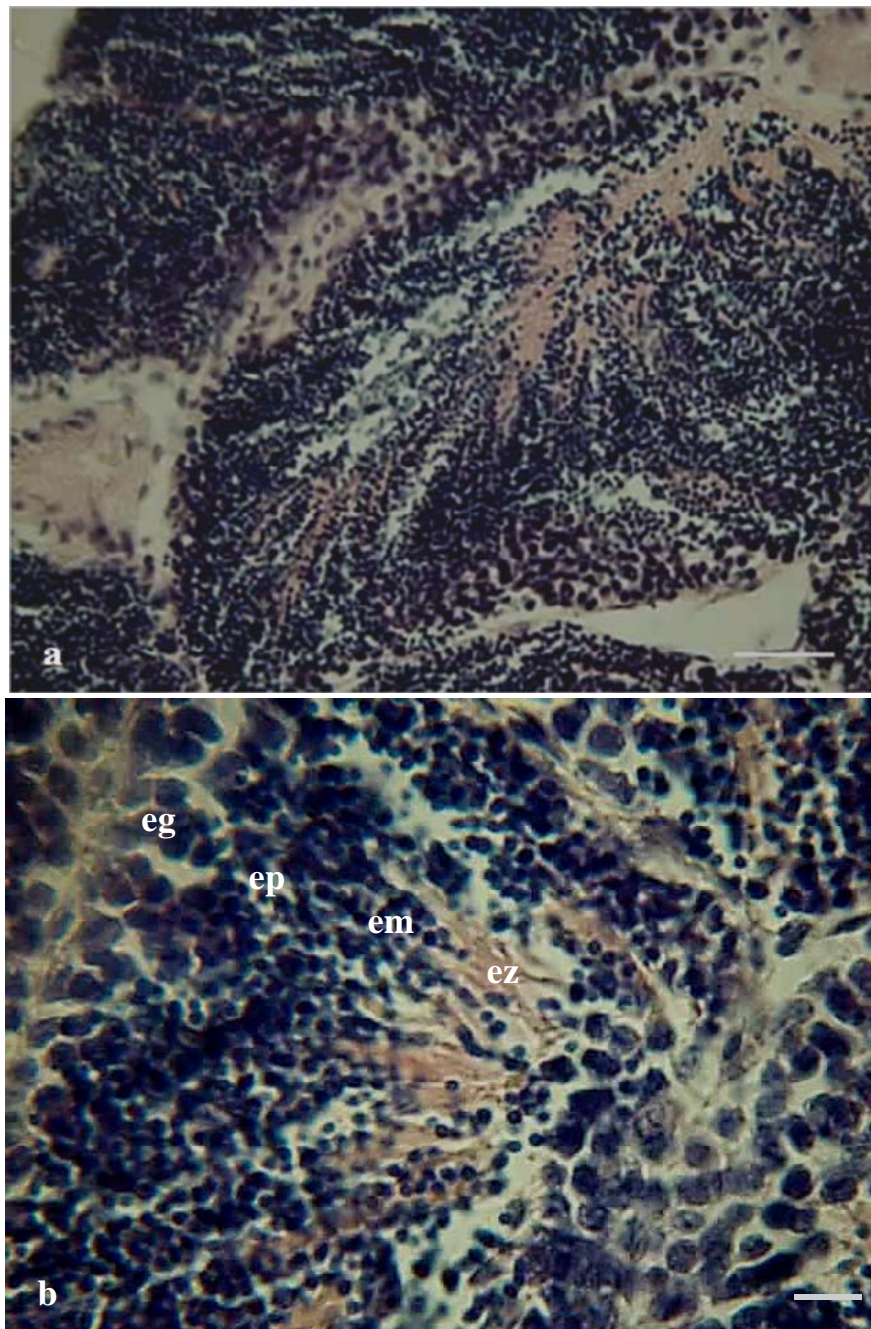


Figura 1.15 - Fotomicrografia das células germinativas masculinas de *Tagelus plebeius*.

(a) Vista do folículo masculino, mostrando a distribuição das células. Coloração HE. Escala 20 μ m.

(b) Detalhe das células germinativas. Coloração HE. Escala 5 μ m.

Legenda: eg= espermatogônia; ep= espermatócitos; em= espermatíde; ez= espermatozóide.

4.6.4.2. Linhagem Feminina

De acordo com as alterações morfológicas sofridas pelas células germinativas femininas, foi possível identificar os seguintes tipos celulares: (1) ovogônias; (2) ovócitos pré-vitelogênicos; (3) ovócitos vitelogênicos e (4) ovócitos maduros. Estas células são encontradas dentro de envoltórios formados por células foliculares, chamados folículos ovarianos (Figura 1.16a e 1.16b).

As ovogônias são células ainda presas no tecido folicular. Possuem forma cúbica e medem aproximadamente 8 μm de diâmetro médio. O citoplasma acidófilo apresentou volume reduzido proporcional ao núcleo esférico. Durante o processo gametogênico migram em direção ao centro do folículo gonadal (Figura 1.16c).

Os ovócitos pré-vitelogênicos apresentam formato oval ou piriforme. Apresentam um grande volume citoplasmático, devido ao acúmulo de substâncias nutritivas (vitelo). O citoplasma apresentou-se levemente acidófilo. O núcleo volumoso apresentou um nucléolo grande e fortemente basófilo. Medem aproximadamente 21 μm (Figura 1.16d).

Os ovócitos vitelogênicos apresentam formato piriforme, podendo ser pedunculados ou soltos no interior do folículo. Medem, em média, 26 μm de diâmetro (Figura 1.16e).

Os ovócitos maduros são células maduras, livres no centro do folículo, com formato oval a esférico. Possuem núcleo basófilo e citoplasma acidófilo. Seu diâmetro foi em média 41 μm . O maior diâmetro observado foi de 57 μm (Figura 1.16f).

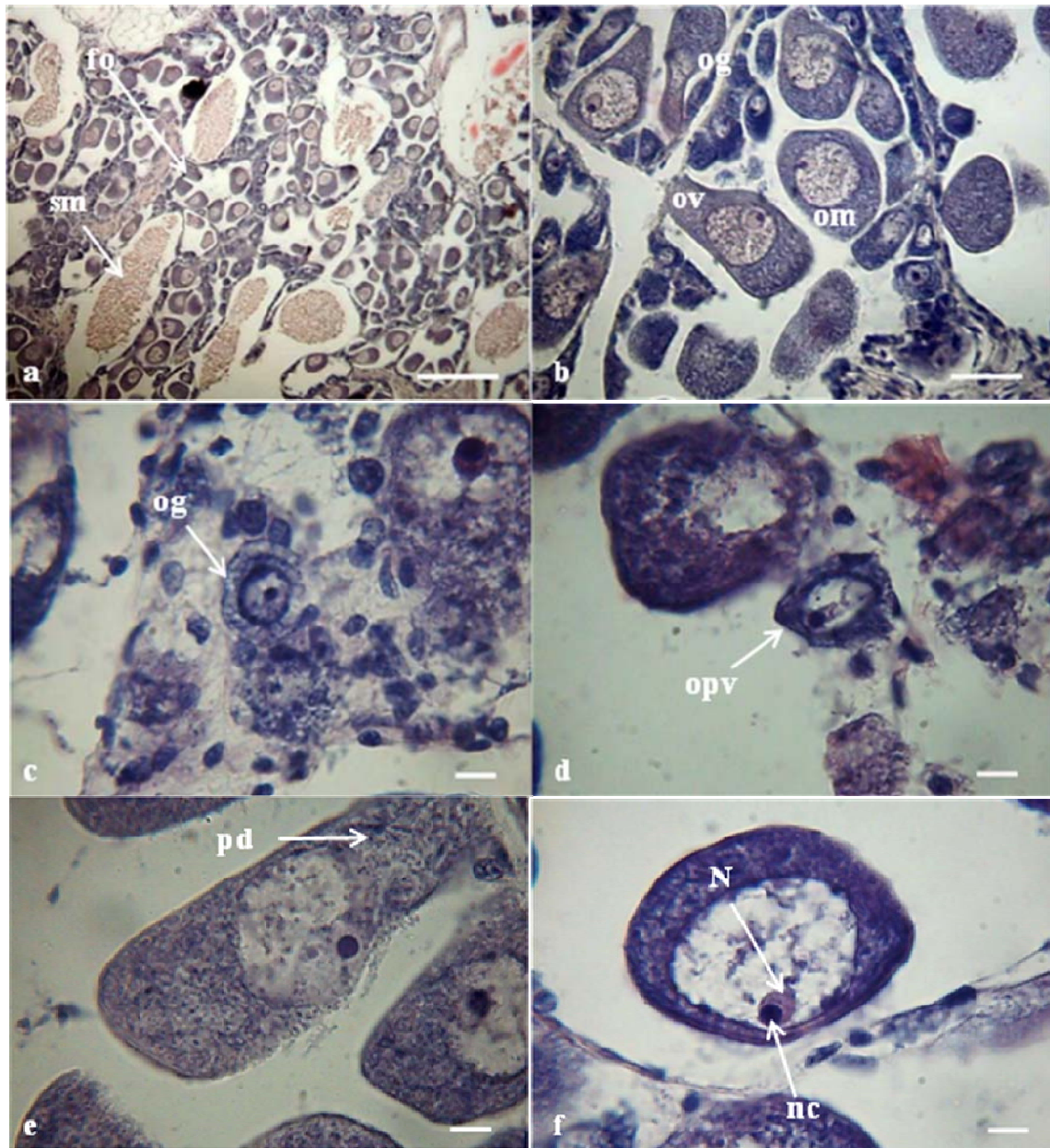


Figura 1.16 - Fotomicrografia das células germinativas femininas de *Tagelus plebeius*. Coloração HE.

(a) Células germinativas no interior dos folículos ovarianos. Escala 100 μm .

(b) Visão geral do folículo ovariano com células em diferentes estágios de maturação. Escala 20 μm .

(c) Detalhe de uma ovogônia. Escala 5 μm ; (d) Detalhe de um ovócito pré-vitelogênico. Escala 5 μm .

(e) Detalhe de um ovócito vitelogênico. Escala 5 μm ; (f) Detalhe de um ovócito maduro. Escala 5 μm .

Legenda: sm= septos musculares; fo= folículo ovariano; om= ovócito maduro; ov= ovócito vitelogênico; opv= ovócito pré-vitelogênico; pd= pedúnculo; og= ovogônia; N= núcleo; nc= nucléolo.

4.6.5. Caracterização das Fases de Desenvolvimento Gonadal

Durante os meses de abril de 2006 a junho de 2007, foram analisadas histologicamente as gônadas de 196 machos e 173 fêmeas de *Tagelus plebeius*, com as quais se determinou as fases do desenvolvimento gonadal para a espécie.

Após uma análise preliminar dos cortes histológicos, foram estabelecidas as fases do desenvolvimento gonadal, considerando a predominância das células germinativas, a estrutura da parede dos túbulos testiculares e dos folículos ovarianos, que foram assim denominadas “Organização Folicular” (OF), “Proliferação” (P), “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E), “Eliminação Avançada” (EA) e “Atresia Celular” (AC), para ambos os sexos.

Os organismos classificados como “Indiferenciados” (Figuras 1.17a e 1.17b), predominantemente juvenis, foram os que não puderam ser caracterizados sexualmente, por apresentarem apenas esboços de tecido germinativo. Nestes indivíduos, as gônadas apresentaram uma grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo, com células primordiais indiferenciadas aleatoriamente dispersas. Apresentaram um tamanho mínimo de 19,8 mm e máximo de 48,5 mm (Média de 35,3 mm; DP \pm 8,94).

4.6.6. Estágios de Desenvolvimento de Machos e Fêmeas

Na fase “Organização Folicular” (Figuras 1.17c e 1.17d), os organismos apresentaram somente células em estágio inicial de desenvolvimento, não sendo também possível a determinação do sexo. Provavelmente, estes indivíduos estavam em processo de organização dos folículos e/ou desenvolvimento germinativo inicial. Apresentaram um tamanho mínimo de 20,5 mm e máximo de 50,8 mm (Média de 35,2 \pm 7,88 mm).

4.6.6.1. Machos

Na fase “Proliferação” (Figuras 1.18a e 1.18b), observou-se a predominância de células iniciais e uma intensa atividade celular. O tecido folicular começou a se organizar. Alguns espermatozóides estavam presentes no centro dos túbulos testiculares.

Na fase “Maturação/Eliminação Inicial” (Figuras 1.18c e 1.18d), os folículos estavam cheios, expandidos e justapostos, sem espaço entre os túbulos testiculares. Grande quantidade de células maduras (espermatozóides) no interior do folículo, ocupando a região central do lúmen. Alguns folículos já exibindo um começo de emissão. Também foram encontradas células em fases iniciais de desenvolvimento, mesmo a gônada estando madura.

Na fase “Eliminação Avançada” (Figuras 1.19a e 1.19b), a parede dos túbulos ficou mais visível e apresentou-se reduzida devido à diminuição da quantidade de células germinativas em seu interior. Os folículos estavam reduzidos em tamanho, com poucas células em maturação. Espermatozóides espalhados na luz do folículo. Em uma fase inicial, foram observados sinais de emissão, devido ao espaço no interior do folículo. No decorrer do tempo, essa eliminação mostrava-se mais avançada, ou seja, com grandes espaços intrafoliculares (presença de maior quantidade de tecido conjuntivo intrafolicular).

Na fase “Atresia Celular” (Figuras 1.19c e 1.19d), os folículos estavam repletos de células germinativas em estágios de desenvolvimento não precisamente definidos. As células tinham aspecto degenerado (atrésico). Os folículos, sem espaço intrafolicular, não apresentavam espermatozóides em seu interior.

4.6.6.2. Fêmeas

Na fase “Proliferação” (Figuras 1.20a e 1.20b), observou-se a presença de uma grande quantidade de células imaturas (ovogônias) presas à parede folicular. Alguns ovócitos livres no interior do folículo também foram observados. O tecido folicular estava começando a se organizar dando início a um ciclo de crescimento celular.

Na fase “Maturação/Eliminação Inicial” (Figuras 1.20c e 1.20d), a gônada estava cheia, sem espaço intrafolicular, com a predominância de ovócitos maduros e ovócitos em vitelogênese

ainda presos à parede do folículo, e poucas células em estágio inicial. A parede do folículo se apresentava organizada e muito fina.

Na fase “Eliminação Avançada” (Figuras 1.21a e 1.21b), o folículo começou a se desorganizar, em função da eliminação dos ovócitos maduros. Foram observados espaços no centro dos folículos, entre os ovócitos maduros remanescentes. Em uma fase avançada, a parede do folículo tornou-se mais espessa, havendo uma redução no tamanho dos folículos, devido ao recomeço do crescimento das células iniciais.

Na fase “Atresia Celular” (Figuras 1.21c e 1.21d), os folículos apresentaram predominantemente células maduras, porém estavam fracamente coradas pelos corantes empregados e continham um citoplasma com um aspecto degenerado, como em estado de atresia, evidenciando lise dos ovócitos.

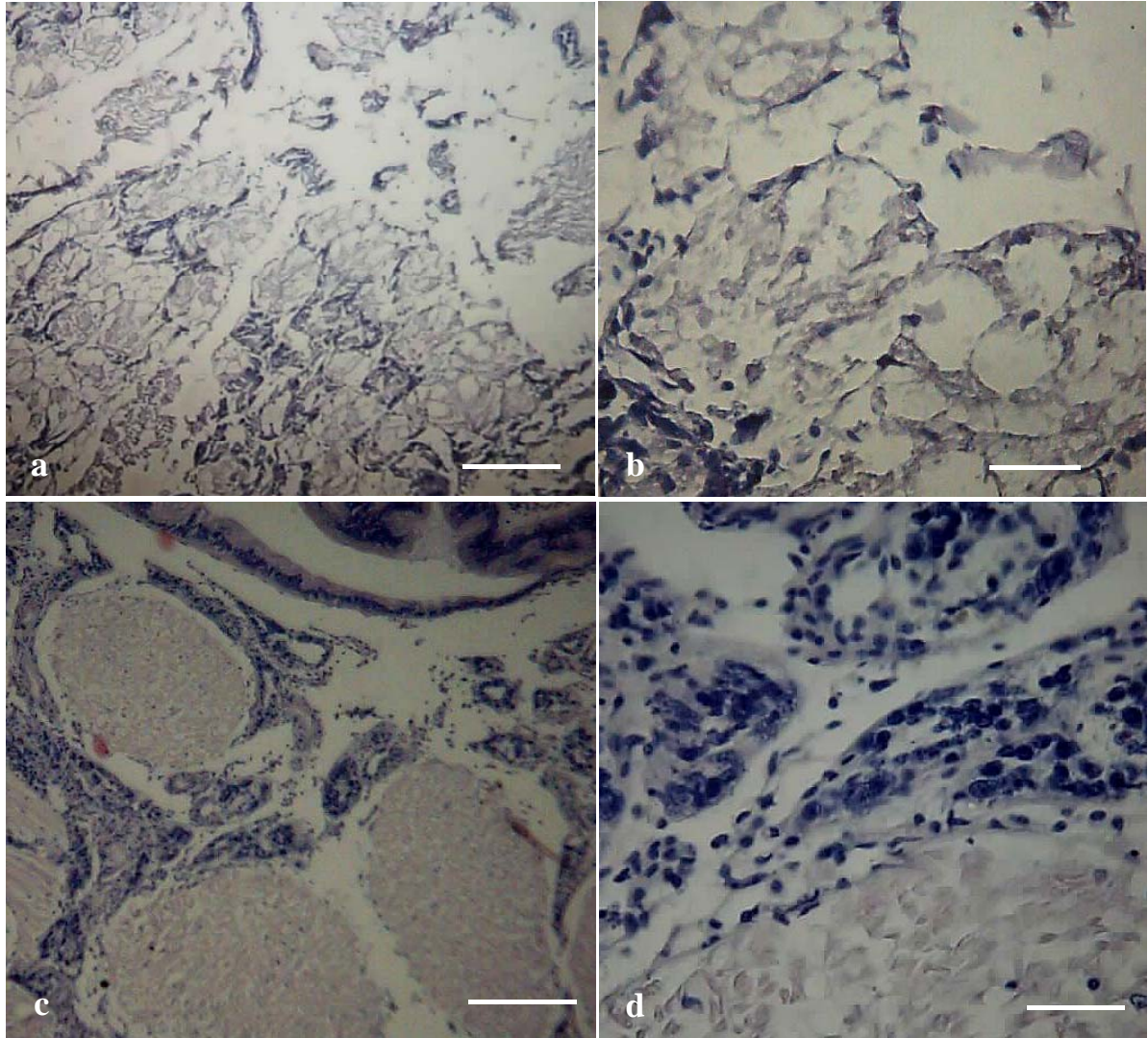


Figura 1.17 - Desenvolvimento gonadal de *Tagelus plebeius*.

- (a) Gônada indiferenciada. Vista geral. Coloração HE. Escala 100 μ m.
- (b) Detalhe da gônada indiferenciada. Coloração HE. Escala 20 μ m.
- (c) Organização folicular. Vista geral. Coloração HE. Escala 100 μ m.
- (d) Detalhe do desenvolvimento das células iniciais. Coloração HE. Escala 20 μ m.

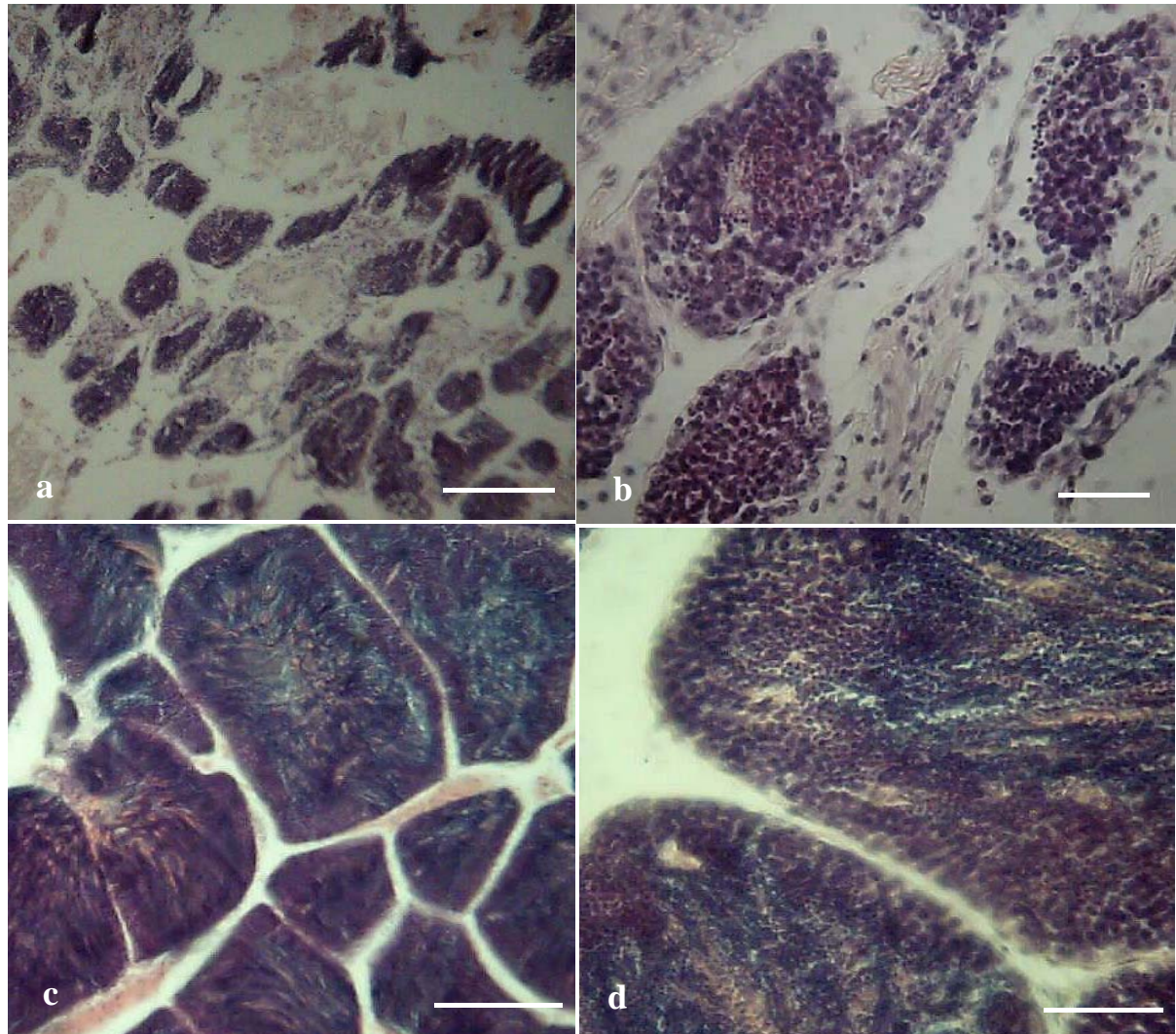


Figura 1.18 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos de *Tagelus plebeius*.

- (a) Proliferação (P). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm.
- (b) Proliferação (P). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 µm.
- (c) Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm.
- (d) Maturação/Eliminação (ME). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 µm.

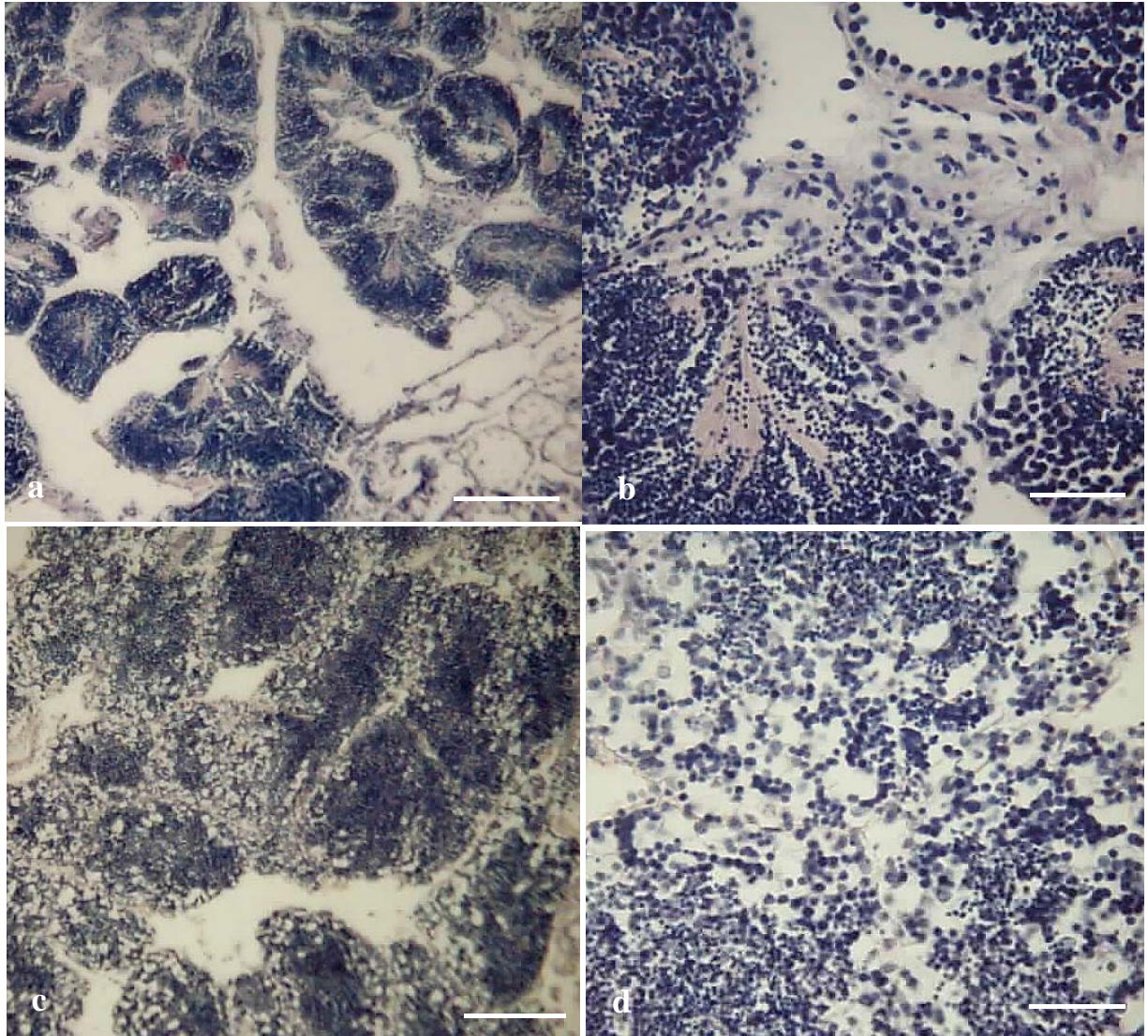


Figura 1.19 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos de *Tagelus plebeius*.

- (a) Eliminação Avançada (EA). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 μ m.
- (b) Eliminação Avançada (EA). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 μ m.
- (c) Atresia Celular (AC). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 μ m.
- (d) Atresia Celular (AC). Detalhe das células masculinas. Coloração HE. Escala 20 μ m.

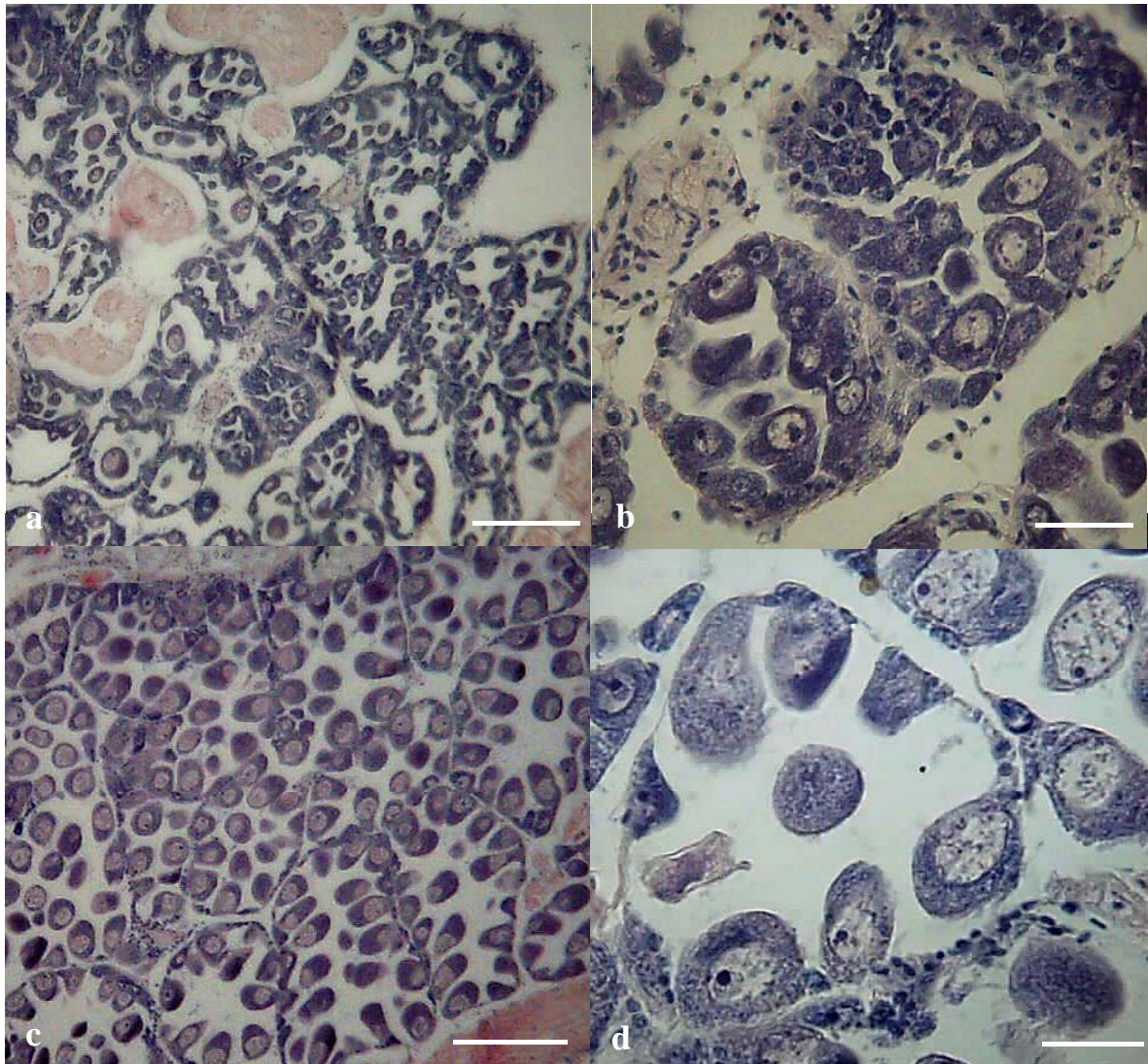


Figura 1.20 - Fases do desenvolvimento gonadal de fêmeas de *Tagelus plebeius*.

- (a) Proliferação (P). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm.
- (b) Proliferação (P). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20 µm.
- (c) Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 µm.
- (d) Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20µm.

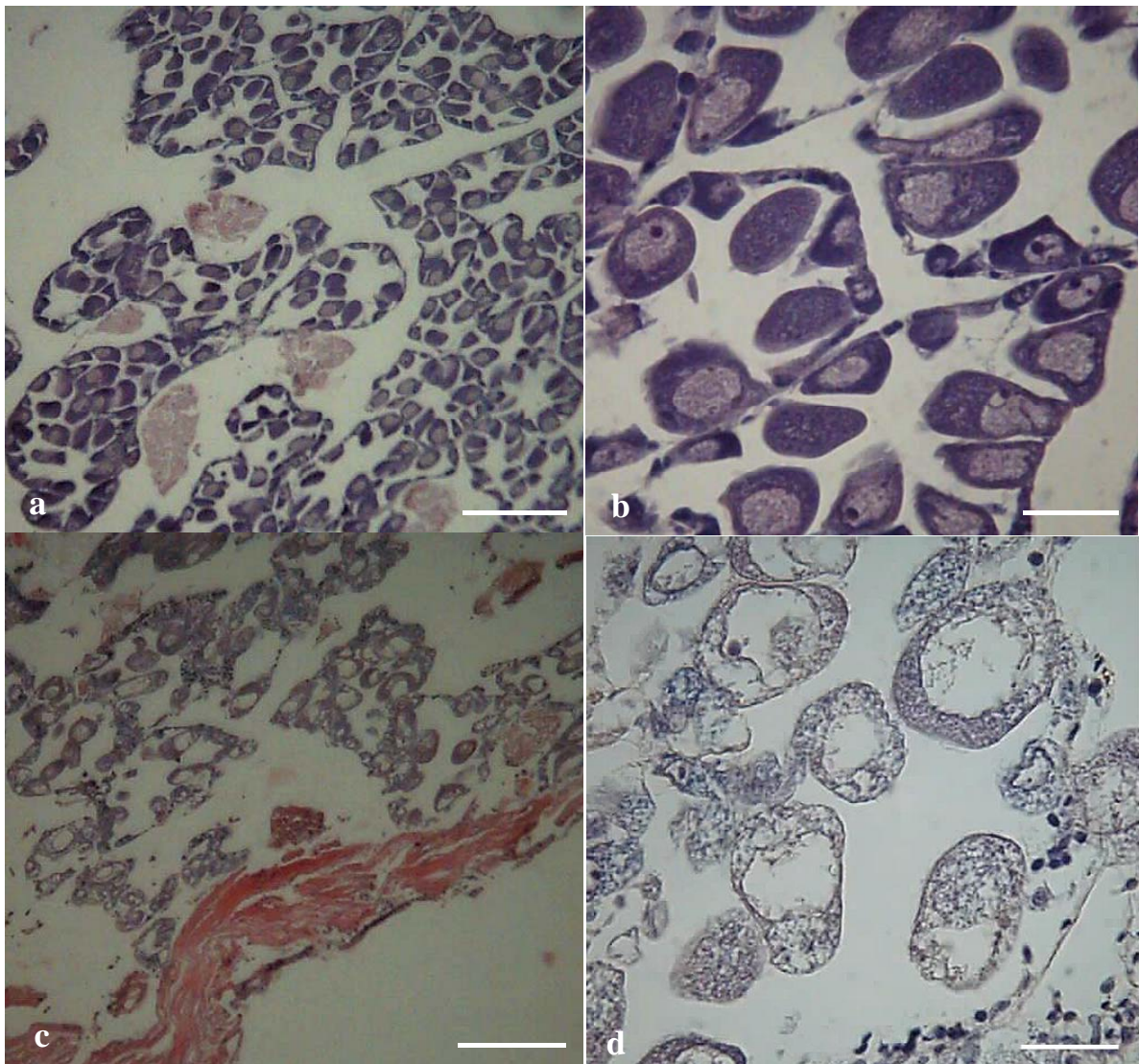


Figura 1.21 - Fases do desenvolvimento gonadal de fêmeas de *Tagelus plebeius*.

- (a) Eliminação Avançada (EA). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 μ m.
- (b) Eliminação Avançada (EA). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20 μ m.
- (c) Atresia Celular (AC). Vista geral. Coloração HE. Escala 100 μ m.
- (d) Atresia Celular (AC). Detalhe das células femininas. Coloração HE. Escala 20 μ m.

4.6.7. Acompanhamento das Fases de Desenvolvimento Gonadal

Ao longo dos meses de estudo, foram observadas cinco (5) fases de desenvolvimento gonadal na população de *Tagelus plebeius* do estuário do Rio Ceará, conforme descritas no item anterior, entretanto, para efeito do acompanhamento do ciclo de reprodução, foram consideradas apenas as fases: “Proliferação” (P), “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E), “Eliminação Avançada” (EA) e “Atresia Celular” (AC). Os valores mensais de cada uma destas fases, para ambos os sexos são apresentados na Tabela 1.8.

Tabela 1.8 - Frequência relativa e absoluta das fases de desenvolvimento gonadal de *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE, observadas durante o período de abril de 2006 a junho de 2007.

Meses de coleta	Fases de Desenvolvimento																			
	Machos										Fêmeas									
	OF		P		M/E		EA		AC		P		M/E		EA		AC			
N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	Total	N	%	N	%	N	%	N	%	Total	
abr/06	0	0.00	0	0.00	1	7.14	10	71.42	3	21.42	14	0	0.00	2	13.33	1	6.66	12	80.00	15
mai/06	1	3.33	0	0.00	1	7.69	12	92.30	0	0.00	13	9	64.28	5	35.71	0	0.00	0	0.00	14
jun/06	6	20.00	0	0.00	0	0.00	12	100.0	0	0.00	12	2	28.57	1	14.28	4	57.14	0	0.00	7
jul/06	5	16.66	0	0.00	0	0.00	11	100.0	0	0.00	11	1	7.69	3	23.07	9	69.23	0	0.00	13
ago/06	2	6.66	4	28.57	6	42.85	4	28.57	0	0.00	14	4	28.57	2	14.28	8	57.14	0	0.00	14
set/06	0	0.00	0	0.00	7	58.33	5	41.66	0	0.00	12	0	0.00	1	7.14	13	92.85	0	0.00	14
out/06	2	6.66	1	5.55	15	83.33	2	11.11	0	0.00	18	0	0.00	4	44.44	5	55.55	0	0.00	9
nov/06	3	10.00	0	0.00	1	8.33	11	91.66	0	0.00	12	0	0.00	7	46.66	8	53.33	0	0.00	15
dez/06	3	10.00	0	0.00	2	15.38	11	84.61	0	0.00	13	1	8.33	10	83.33	1	8.33	0	0.00	12
jan/07	3	10.00	0	0.00	1	5.55	17	94.44	0	0.00	18	6	66.66	0	0.00	3	33.33	0	0.00	9
fev/07	0	0.00	0	0.00	13	68.42	6	31.57	0	0.00	19	9	81.81	1	9.09	1	9.09	0	0.00	11
mar/07	5	16.66	0	0.00	2	25.00	6	75.00	0	0.00	8	7	41.17	3	17.64	7	41.17	0	0.00	17
abr/07	10	33.33	0	0.00	0	0.00	0	0.00	12	100.0	12	0	0.00	0	0.00	0	0.00	7	100.0	7
mai/07	7	23.33	0	0.00	4	36.36	7	63.63	0	0.00	11	5	45.45	3	27.27	3	27.27	0	0.00	11
jun/07	16	53.33	6	66.66	0	0.00	3	33.33	0	0.00	9	0	0.00	1	20.00	4	80.00	0	0.00	5
Total	63	14.00	11	5.61	53	27.04	117	59.69	15	7.65	196	44	25.43	43	24.85	67	38.72	19	10.98	173

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que tanto os machos quanto as fêmeas da população de *Tagelus plebeius* apresentaram processos de gametogênese e eliminação durante todo o período, apresentando, assim, um ciclo de reprodução contínuo.

No presente estudo, os picos de eliminação em machos foram observados principalmente no segundo semestre de 2006, nos meses de agosto, setembro e outubro, em que a maioria deles estava na fase “Maturação/Eliminação Inicial (M/E). Em abril e maio de 2006, observou-se uma menor porcentagem dos machos nesta fase. Em fevereiro de 2007, os machos também liberaram gametas, sendo em maio de 2007, uma eliminação de menor intensidade.

Machos em “Eliminação Avançada” (EA) ocorreram durante todo o período de estudo, nos meses de abril, maio, novembro, dezembro de 2006 e janeiro e março de 2007. Nos meses de junho e julho de 2006, 100% estavam em EA.

Em relação às fêmeas, os picos de eliminação também ocorreram no segundo semestre de 2006, nos meses de outubro e novembro. Em dezembro de 2006, a maioria das fêmeas estava em “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E). Picos de menor intensidade foram observados nos meses de junho a setembro de 2006 e fevereiro e março de 2007. Fêmeas em “Eliminação Avançada” (EA) ocorreram de junho a novembro de 2006, com a maioria nesta fase no mês de junho de 2007.

Para ambos os sexos, observou-se um período de amadurecimento gonadal no primeiro semestre, acompanhado de um período de liberação de gametas no segundo semestre.

As Figuras 1.22 e 1.23 apresentam os percentuais das fases de desenvolvimento gonadal observados ao longo deste estudo, para machos e fêmeas, respectivamente. Os percentuais para as fases do desenvolvimento gonadal para ambos os sexos (incluindo os indivíduos indiferenciados) observados no período estudado são mostrados na Figura 1.24.

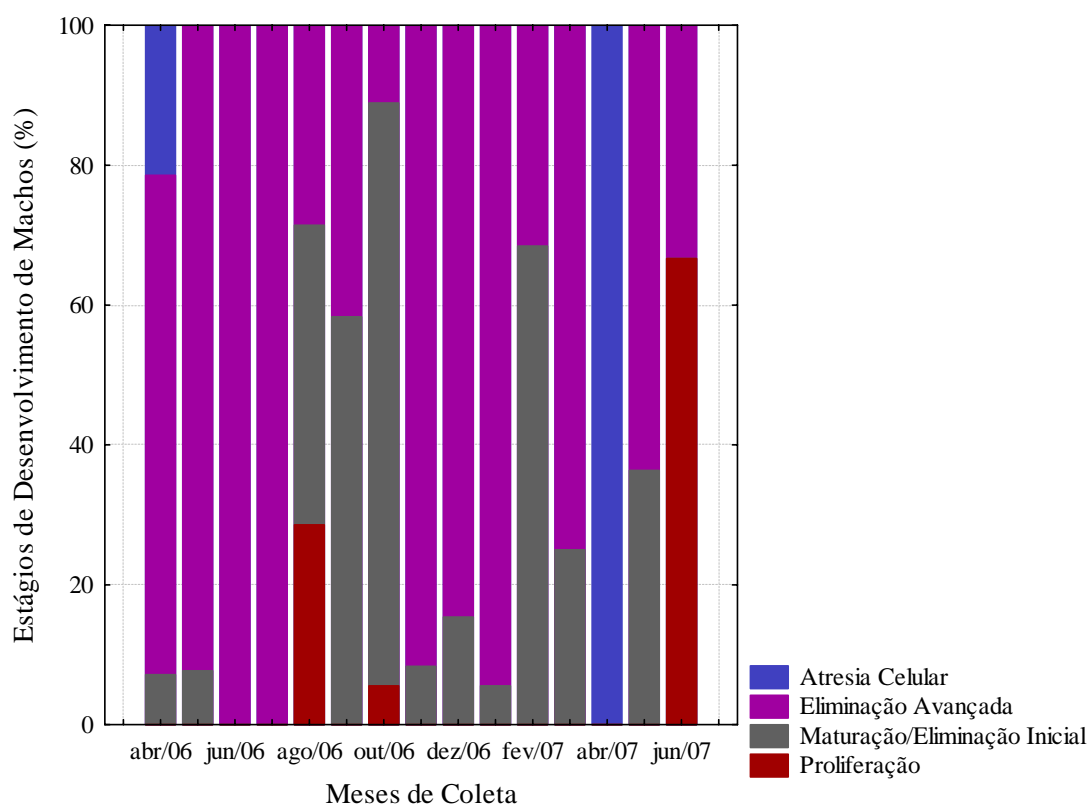


Figura 1.22 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos de *Tagelus plebeius* observadas no período de abril de 2006 a junho de 2007, no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE. $n = 196$.

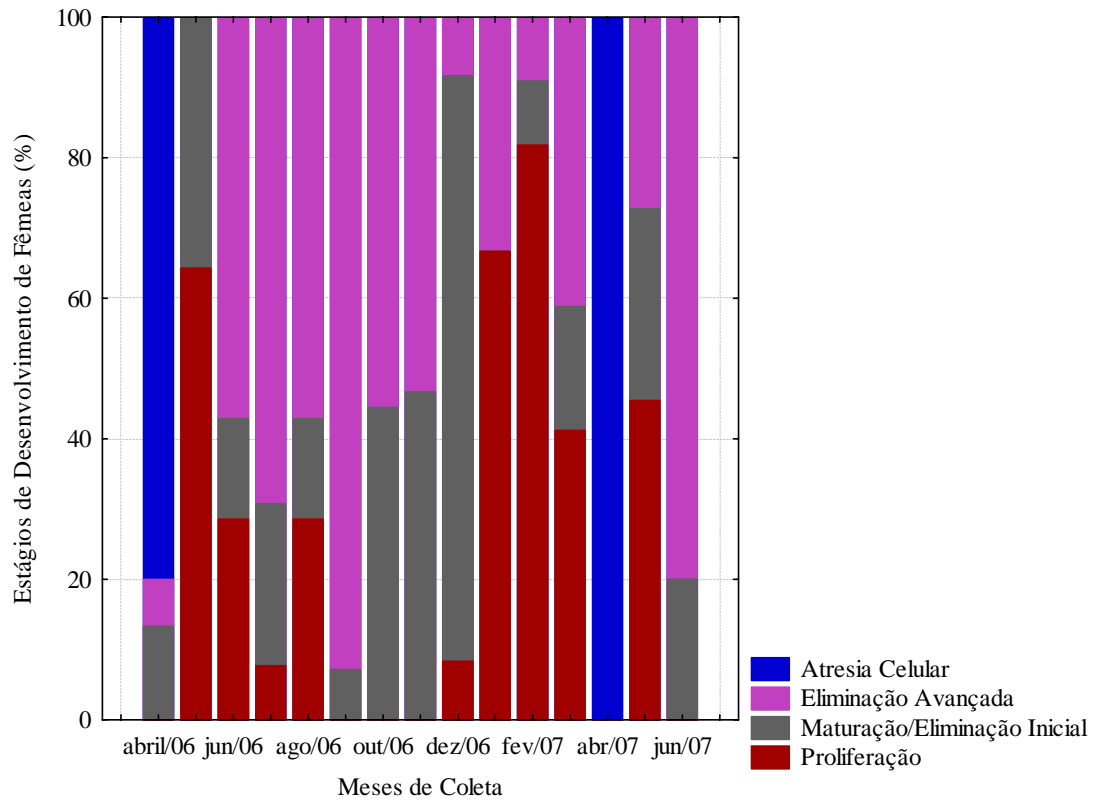


Figura 1.23 - Fases do desenvolvimento gonadal de fêmeas de *Tagelus plebeius* observadas no período de abril de 2006 a junho de 2007, no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE. $n = 173$.

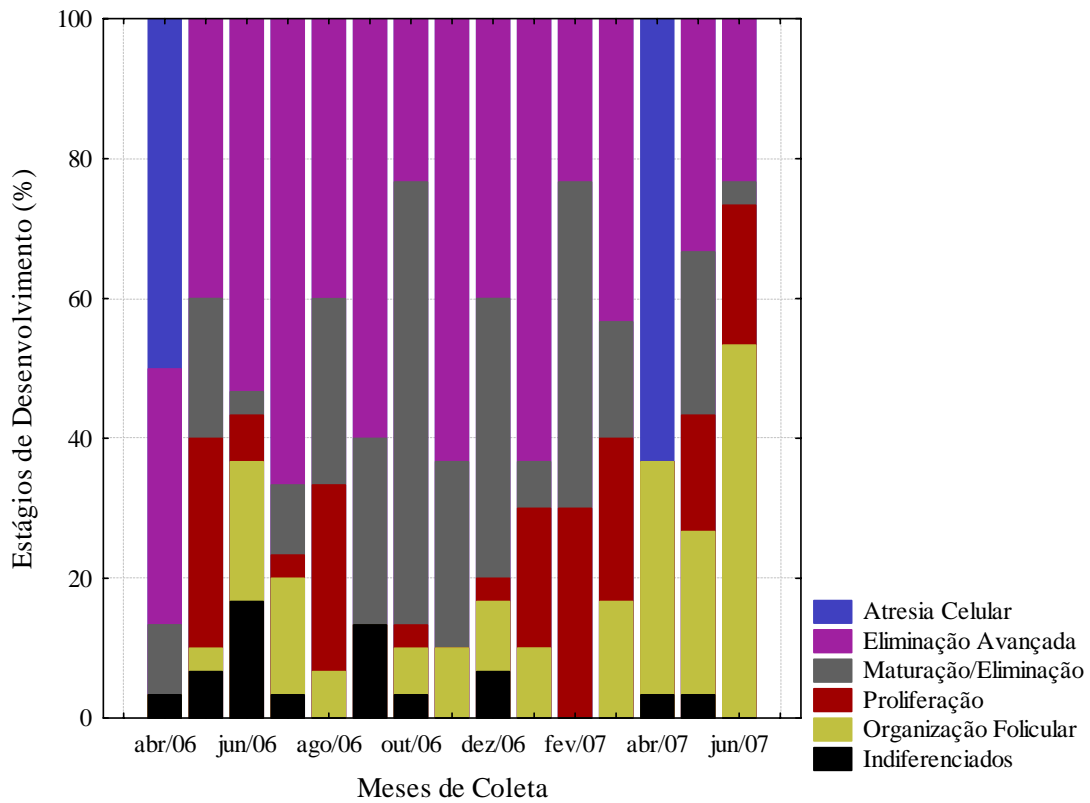


Figura 1.24 - Fases do desenvolvimento gonadal de machos e fêmeas de *Tagelus plebeius* (incluindo os indivíduos indiferenciados), observadas no período de abril de 2006 a junho de 2007, no estuário do Rio Ceará, Fortaleza-CE.

4.6.8. Medição das Células Sexuais Femininas

Durante a presente pesquisa, foram observados diferentes estágios de desenvolvimento gonadal na população feminina de *Tagelus plebeius*, os quais representaram variações significativas no tamanho das células sexuais presentes no interior das gônadas ($p=0,00$) (Figura 1.25). As ovogônias apresentaram o menor diâmetro, variando de 6 a 12 μm (Média de $8,3 \pm 1,52 \mu\text{m}$), enquanto os ovócitos maduros apresentaram os maiores valores de tamanho, variando de 27 a 57 μm (Média de $41,7 \pm 5,00 \mu\text{m}$).

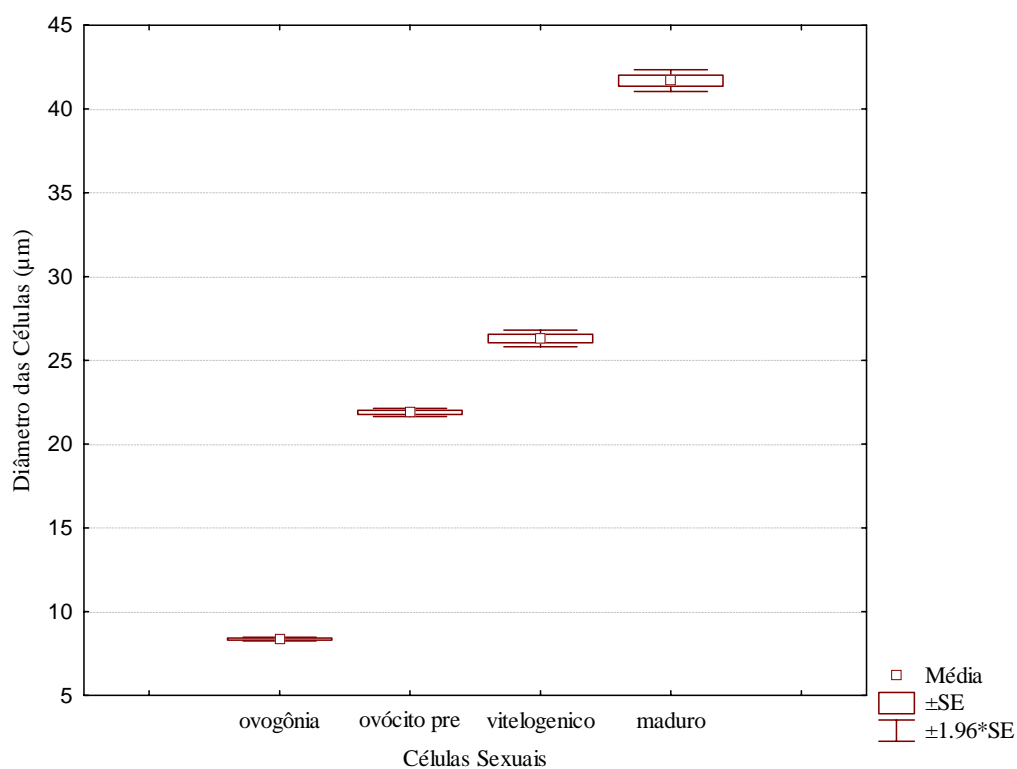


Figura 1.25 - Variações no tamanho das células sexuais femininas nas gônadas de *Tagelus plebeius* observadas no período de abril de 2006 a junho de 2007. $n = 2356$.

Em abril de 2006, os ovários continham ovócitos de todos os tamanhos, que mediram de 6 a 54 μm . Em maio de 2006, os ovócitos mediram de 6 a 51 μm , ocorrendo uma pequena diminuição no tamanho das células maduras. Em junho de 2006, o diâmetro das células maduras aumentou, atingindo um valor máximo de 57 μm (maior valor observado). De julho a agosto de 2006 (segundo semestre), observou-se que o tamanho das células maduras manteve-se praticamente constante, caracterizando uma tendência à liberação das mesmas. No primeiro semestre de 2007 (de janeiro a junho), as células sexuais apresentaram diâmetros menores do que os meses anteriores, estando em processo de crescimento, caracterizando um período de amadurecimento gonadal (proliferação) (Tabela 1.9 e Figura 1.26).

Tabela 1.9 - Diâmetros e estágios de desenvolvimento dos ovócitos de *Tagelus plebeius* durante o período de abril de 2006 a junho de 2007 (x = média do tamanho dos ovócitos; N = número de fêmeas; n = número de ovócitos medidos).

Meses de Coleta	Diâmetro dos Ovócitos (μm)	$x \pm \text{DP}$ (μm)	N	n	Estágio de Desenvolvimento dos Ovócitos
abr/06	6 - 54	21,68 \pm 12,49	12	159	Atresia Celular
mai/06	6 - 51	18,15 \pm 11,03	14	157	Proliferação
jun/06	7 - 57	16,40 \pm 11,4	8	52	Eliminação Avançada
jul/06	6 - 54	23,03 \pm 14,00	13	119	Eliminação Avançada
ago/06	6 - 51	19,40 \pm 10,27	14	217	Eliminação Avançada
set/06	6 - 45	20,51 \pm 8,82	13	252	Eliminação Avançada
out/06	7 - 46	21,28 \pm 11,16	9	163	Eliminação Avançada
nov/06	6 - 49	23,02 \pm 11,54	15	215	Eliminação Avançada
dez/06	6 - 50	23,51 \pm 11,06	12	238	Maturação/Eliminação Inicial
jan/07	6 - 36	17,55 \pm 7,55	9	168	Proliferação
fev/07	6 - 46	21,60 \pm 9,54	11	162	Proliferação
mar/07	6 - 45	21,12 \pm 10,18	17	211	Proliferação e Eliminação Avançada
abr/07	7 - 45	17,17 \pm 10,03	7	47	Atresia Celular
mai/07	7 - 51	22,99 \pm 9,85	11	103	Proliferação
jun/07	10 - 49	25,94 \pm 9,86	5	93	Eliminação Avançada

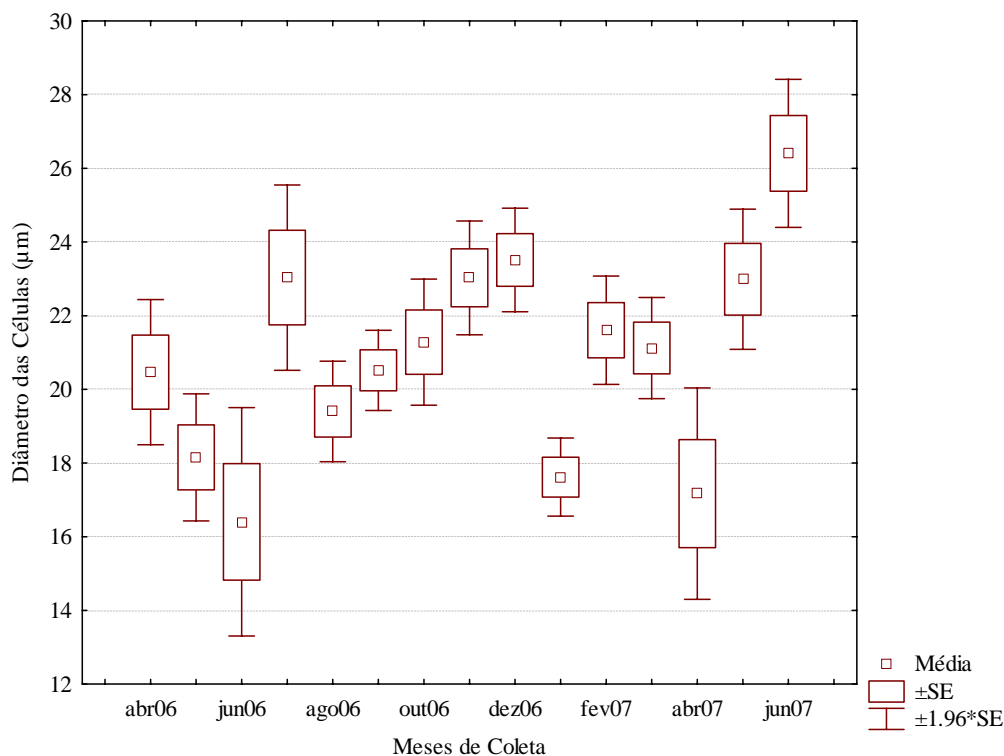


Figura 1.26 - Diâmetro médio (μm) das células sexuais femininas de *Tagelus plebeius* durante o período de abril de 2006 a junho de 2007. $n = 2356$.

Os meses de abril (2006 e 2007), caracterizados pela degeneração das células medidas (“atresia celular”), foram considerados como intervalos entre as outras fases do ciclo reprodutivo da espécie. Nesta fase, observou-se uma menor quantidade de ovócitos maduros medidos. Em abril de 2007, não foi possível medir o diâmetro de nenhum ovócito maduro.

4.6.9. Variáveis Ambientais e as Fases do Desenvolvimento Gonadal

As variáveis ambientais atuantes na área de estudo, como as temperaturas do ambiente, da água e do sedimento, a salinidade e a precipitação pluviométrica foram correlacionadas com as frequências de ocorrência das fases de desenvolvimento gonadal de *Tagelus plebeius*, ao longo do período da pesquisa.

Com base nesta análise, foram observadas correlações significativas entre a salinidade e a frequência de indivíduos em “Maturação/Eliminação Inicial” (correlação positiva) ($r=0,52$,

$p=0,04$), e em “Atresia Celular” (correlação negativa) ($r=-0,84$, $p=0,00$) (Figura 1.27). Esta correlação foi, provavelmente, influenciada pela baixa salinidade verificada nos meses abril de 2006 (10) e abril de 2007 (5). Nestes meses, foi observado um percentual de ocorrência de indivíduos em “Atresia Celular” de 51,7% e 100%, respectivamente.

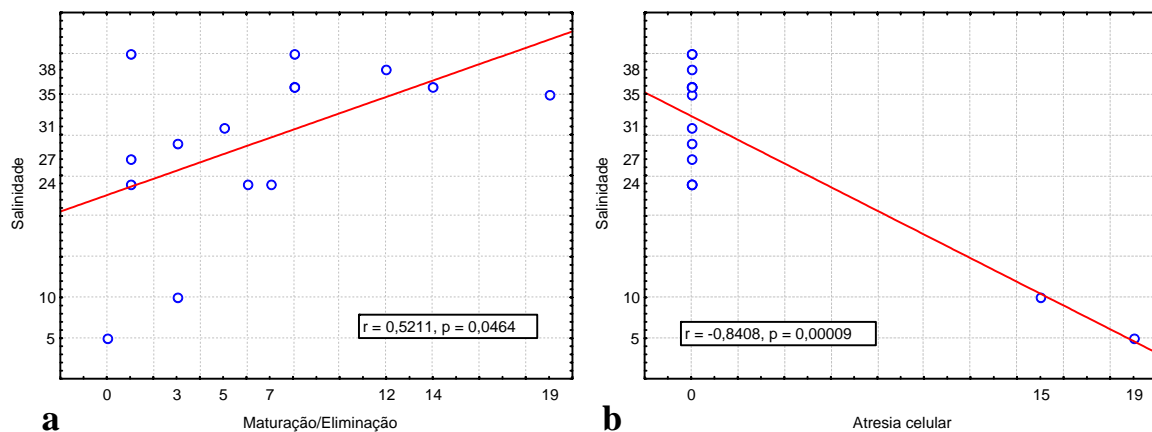


Figura 1.27 - Correlações entre a salinidade e a frequência absoluta de machos e fêmeas de *Tagelus plebeius* nas fases (a) “Maturação/Eliminação Inicial” (M/E) e (b) “Atresia Celular” (AC) durante o período de abril de 2006 e junho de 2007.

5. DISCUSSÃO

5.1. Distribuição dos Organismos na Área de Estudo

A natureza do substrato é um importante parâmetro ambiental, que fornece para a fauna bentônica moradia, alimento e proteção (ARAÚJO; ROCHA-BARREIRA, 2004).

A descrição geral das relações animal/sedimento entre as espécies é frequentemente utilizada como um pré-requisito para a compreensão das interações que ocorrem entre um organismo e este ambiente (HOLLAND; DEAN, 1977a).

Os invertebrados bentônicos estuarinos estão intimamente associados aos sedimentos que habitam. *Tagelus plebeius* constrói galerias tubulares que permitem o seu movimento vertical através do sedimento, enquanto a sua mobilidade lateral é praticamente nula (HOLLAND; DEAN, op cit; GUTIÉRREZ; VALERO, 2001). Portanto, a composição desse sedimento é de grande importância para a distribuição da referida espécie. *T. plebeius* vive em sedimentos arenosos instáveis podendo mover-se rapidamente no interior da galeria e, assim, proteger-se (BRUSCA; BRUSCA, 2007).

No presente estudo, os indivíduos de *T. plebeius* apresentaram um padrão de distribuição predominantemente aleatório ao longo da área estudada. Abrahão e Amaral (1999) também observaram este padrão para uma população de *T. plebeius* na Praia da Enseada (23° 49' S; 45°26' W), em São Sebastião – SP.

Nos dois meses em que a distribuição de *T. plebeius* foi do tipo agregada, foram observadas precipitações elevadas. É provável que os organismos tendam a uma agregação em áreas mais afastadas das margens do banco, a fim de reduzirem os efeitos osmorregulatórios da diminuição da salinidade neste período. De acordo com Viégas (1981), a salinidade é um fator de grande importância na distribuição da população de bivalves, atuando sobre as taxas de mortalidade das populações. Como *T. plebeius* pode ocorrer em salinidades que variam pouco menos de 10 até mais de 30, provavelmente, esta importância se verifique também com relação a este bivalve.

A capacidade de sobrevivência dos indivíduos também está relacionada com a sua distribuição. A área estudada é composta por sedimentos arenosos, com predominância de areia fina.

Chanley e Castagna (1971) relataram que ao longo da sua distribuição geográfica podem ser encontradas densas populações de *T. plebeius* (até 300 ind./m²), representando uma proporção importante na produtividade bentônica dos ambientes estuarinos da Carolina do Norte (Estados Unidos) até o Golfo San Matías (Argentina) (GUTIÉRREZ; VALERO, 2001).

Holland e Dean (1977b) verificaram uma densidade média máxima de 18 ind./0,25m² e uma mínima de 0,7 ind./0,25 m², em populações de *T. plebeius* em um estuário na Carolina do Sul – EUA (33°20.0' N; 79° 10.0' W).

Viégas (1981), em um estudo sobre a dinâmica populacional de *T. plebeius* no estuário do Canal do Calunga (9°41'30'' S; 35°47'00'' W), em Maceió – AL registrou uma densidade média de 87 ind./0,25 m². Abrahão e Amaral (1999), pesquisando a densidade média mensal da espécie na Praia da Enseada (23°49' S; 45°26' W), em São Sebastião – SP obtiveram valores médios que variaram de 1,75 a 7,4 ind./m².

A densidade média registrada no presente estudo, que apresentou valores variáveis, porém comparáveis aos obtidos nas pesquisas citadas acima (4 a 41,2 ind./m²), pode indicar que, sendo uma região estuarina, a área da presente pesquisa sofre variações acentuadas de salinidade, dependendo da intensidade das chuvas. O estresse fisiológico a que *T. plebeius* está submetido, pode refletir diretamente na sua densidade populacional, tal como reportaram Abrahão e Amaral (op cit). Ceuta (2007) também verificou em um estudo sobre a densidade populacional de *T. plebeius* no estuário do Rio Cachoeira (14°46'30'' S; 39°03'20'' W), em Ilhéus – BA, que as densidades desta espécie variaram significativamente ao longo do ano, provavelmente devido às variações de salinidade, taxas de precipitação pluviométrica e fatores intrínsecos.

Viégas (op cit) sugeriu que as flutuações anuais da salinidade, resultantes das alternâncias de estações secas e chuvosas, se constituem em um importante fator no ciclo de vida de *T. plebeius*. Segundo este autor, a alta pluviosidade resulta em uma maior mortalidade. Desta maneira, a salinidade se constituiria em um fator determinante do número de indivíduos na população de *T. plebeius*.

5.2. Proporção e Diferenciação Sexual

Segundo Coe (1943), é esperado que machos e fêmeas se distribuam de forma igualitária na natureza. A manutenção da proporção 1:1 entre os indivíduos de uma população tem por finalidade garantir o encontro dos sexos para a efetividade da fecundação (DELFINO, 2005). Em alguns casos, a ocorrência de um desequilíbrio na proporção sexual pode ser observada. Isto pode se dar em função de diversos fatores, tais como a idade dos organismos da população, migração e alterações do meio (ARAÚJO, 2004; DELFINO, op cit).

Nos exemplares da população de *Tagelus plebeius* provenientes do estuário do Rio Ceará, a proporção sexual apresentou-se relativamente desigual, com a existência de indivíduos machos sendo, em geral, mais freqüentes. Esta diferença também foi observada na pesquisa de Ceuta (2007), para uma população deste bivalve no estado da Bahia. Estes resultados diferem do estudo de Silva (2007), para uma população proveniente do litoral de São Paulo, onde o número de fêmeas encontrado (57) foi um pouco maior que o de machos (54).

A tendência de uma maior proporção de machos, observada também em outros bivalves infaunais, como em *Anomalocardia brasiliana*, poderia estar relacionada, provavelmente, com um maior suprimento alimentar do hábitat e maior mortalidade das fêmeas após a eliminação de gametas (BOEHS, 2000). Este desequilíbrio sexual, favorável aos machos, poderia também estar relacionado com perdas gaméticas associadas com fluxos de marés. No entanto, as hipóteses consideradas acima para explicar este fenômeno ainda necessitam de uma melhor definição.

Nos bivalves, a unissexualidade é predominante, tal como observado por Gaspar et al. (1999) em *Donax trunculus* L.; por Carpes-Paternoster (2003) em *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819); por Gil e Thomé (2004) em *Donax hanleyanus* Philippi, 1847; por Marques (2004) em *Tivela mactroides* (Born, 1778); por Barón et al. (2004), em *Ensis macha* (Molina, 1782); por Darriba et al. (2005), em *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758); por Morsan e Kroeck (2005) em *Amiantis purpuratus* (Lamarck, 1818); por Barreira e Araújo (2005) em *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791); por Delfino (op cit) em *Lucina*

pectinata (Gmelin, 1791); por Christo (2006) em *Crassostrea* Sacco, 1897 e por Moura et al. (2008) em *Callista chione* (Linnaeus, 1758), dentre outros.

A análise histológica demonstrou que a espécie *Tagelus plebeius* é dióica, comprovando os estudos já realizados com o mesmo bivalve por Cledón et al. (2004), Ceuta (2007) e Silva (2007).

No entanto, a ocorrência de hermafroditismo, reversão sexual e partenogênese devem ser consideradas, pois podem ser estratégias que venham a aumentar as possibilidades de sobrevivência (CEUTA, op cit).

De acordo com Ceuta (op cit), o hermafroditismo em *Tagelus plebeius* encontrado na sua pesquisa, não tem causas conhecidas. Provavelmente, as adaptações aos diversos ambientes têm facilitado o desenvolvimento de novas estratégias de reprodução nos moluscos. Cledón et al. (op cit), na Argentina e Silva (op cit), em São Paulo, diferentemente da pesquisa de Ceuta (op cit), não encontraram hermafroditismo ou reversão sexual na espécie. No presente estudo, também não foi observado nenhum indício de hermafroditismo.

Diferentemente da pesquisa de Ceuta (op cit), no presente estudo não foram observadas associações com simbioses no tecido de *T. plebeius*, nem lesões externas ou internas na concha dos exemplares analisados, embora em alguns meses, tenham aparecido sinais de parasitismo que não foram confirmados, e que merecem uma análise mais detalhada.

Para as fêmeas de *T. plebeius* coletadas no estuário do Rio Ceará, as células da linhagem germinativa apresentaram padrões de desenvolvimento e tipos semelhantes aos descritos em pesquisas já realizadas com outros bivalves (BORZONE et al., 2001; GIL; THOMÉ, 2004; MARQUES, 2004; BARREIRA; ARAÚJO, 2005).

Já nos machos observados no presente estudo, as células da linhagem germinativa são pequenas e de difícil visualização, dificultando a descrição de detalhes, principalmente em relação às suas estruturas internas. Todas as observações ficaram restritas apenas a diferenças de tamanho celular, visualizadas em microscópio óptico.

Os espermatozoides dos moluscos estão inseridos na categoria dos mais morfológicamente distintos dentre os Metazoa e a sua morfologia é freqüentemente útil para a determinação taxonômica destes organismos (CARSTENSEN et al, 2007). Em geral,

animais aquáticos que liberam seus gametas na água apresentam espermatozóides considerados primitivos, em oposição, animais com fertilização interna produzem espermatozóides modificados (INTROÍNI, 2007).

Segundo Matos et al. (1997), o espermatozóide de *Tagelus plebeius* está dividido em três partes: a cabeça, constituída por núcleo e acrosoma; peça intermediária formada por dois centríolos e mitocôndrias; e cauda. Resultados da espermatogênese de estudos como este têm mostrado que o flagelo e a vesícula pró-acrosomal estão presentes nas células durante o processo espermiogênico em algumas famílias de moluscos bivalves, tendo sido também constatada por estes pesquisadores na referida espécie.

O espermatozóide de *T. plebeius* estudado no estuário do Rio Ceará apresentou o padrão semelhante descrito para a maioria dos bivalves, porém, devido à utilização apenas de microscopia óptica, não foi possível a visualização detalhada de suas estruturas internas.

De acordo com Introíni (op cit), há evidências de que existe uma forte correlação entre a morfologia dos espermatozóides e as condições ambientais. Algumas características especiais exibidas por determinados espermatozóides, como a presença de grânulos de glicogênio e longo flagelo, poderiam representar adaptações a águas turbulentas e ser responsáveis por vantagens reprodutivas.

Tal como observado por Barreira e Araújo (2005) em *Anomalocardia brasiliana*, o desenvolvimento das células sexuais tanto masculinas como femininas ocorre da margem para o centro do folículo. Desta forma, ligadas às paredes foliculares, localizam-se espermatogônias e ovogônias e, na região central, espermatozóides e ovócitos maduros, respectivamente para machos e fêmeas.

É importante salientar que na gônada de um mesmo indivíduo de *Tagelus plebeius* podem ser encontrados folículos gonadais com células em diferentes estádios de maturação. Segundo Barreira e Araújo (op cit), isto indica que o processo de amadurecimento celular ocorre continuamente e de forma independente no interior da gônada.

5.3. Fases do Desenvolvimento Gonadal

Devido ao caráter subjetivo da denominação das fases de desenvolvimento gonadal, que, geralmente, segue o critério estabelecido por cada pesquisador, buscou-se neste estudo

uma classificação mais objetiva e simplificada, porém que representasse as principais transformações ocorridas durante o ciclo reprodutivo no tecido gonadal da espécie analisada.

Tal como mencionou Silva (2007), a identificação de vários estágios de maturação para *Tagelus plebeius* é difícil, uma vez que a diferença entre um estágio e outro é muito sutil.

Embora os indivíduos denominados “Indiferenciados”, observados no presente estudo pudessem indicar um período de repouso sexual, considerou-se a ausência de um período de repouso sexual definido, corroborando os resultados de Assis (1985) para *Lucina pectinata* no estado da Bahia e de Barreira e Araújo (2005), para uma população de *Anomalocardia brasiliiana* no estado do Ceará. Estes resultados divergem daqueles encontrados por Ceuta (2007) para as populações de *Tagelus plebeius* em Ilhéus (BA), em que as fêmeas apresentaram um estágio de recuperação.

Os machos da população de *Tagelus plebeius* estudada apresentaram um estágio de amadurecimento acompanhado por uma marcada fase de eliminação de gametas, observada em praticamente todos os meses do ano, com picos elevados principalmente de agosto a outubro de 2006 (segundo semestre). Para as fêmeas de *Tagelus plebeius* a fase “Proliferação” (amadurecimento) foi mais evidente e freqüente do que para os machos e ocorreu principalmente no primeiro semestre dos anos pesquisados.

Ceuta (op cit), para populações de *Tagelus plebeius* em Ilhéus (BA), também verificou que a maioria dos indivíduos observados eliminava gametas no segundo semestre do ano (agosto a outubro), coincidindo com o presente estudo.

Durante o acompanhamento das fases do desenvolvimento gonadal de *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, observou-se que tanto as fêmeas quanto os machos tenderam a uma simultaneidade no ciclo reprodutivo, embora nas fêmeas tenha sido mais perceptível a diferenciação entre os estágios. Nos machos, as gônadas freqüentemente apresentavam células sexuais em várias fases de desenvolvimento.

Observou-se também que o ciclo reprodutivo do macho é mais irregular e os indivíduos passam mais tempo liberando gametas. Provavelmente, o custo energético para produzir espermatozóides é menor que o da fêmea, que depende maior energia na síntese do vitelo e também gasta mais tempo na produção dos ovócitos. De acordo com Boehs

(2000), embora existam evidências do desenvolvimento da gônada primária ser mais precoce em fêmeas, a progressão das fases proliferativa (multiplicação das ovogônias) e vegetativa (crescimento dos ovócitos) é mais lenta do que nas fases correspondentes nos machos.

Comparando os resultados deste estudo com aqueles obtidos pelos diferentes autores citados acima, é possível observar que as populações da costa baiana (CEUTA, 2007), paulista (SILVA, 2007) e cearense (presente estudo) apresentaram ciclos de reprodução bastante semelhantes, com eliminação de gametas ao longo de todo o ano e ciclo sexual contínuo. Embora os períodos de maior eliminação de gametas não sejam coincidentes, é natural que ocorram diferenças nos períodos de eliminação de gametas entre populações de regiões próximas (MORTON, 1990) (Tabela 1.10).

Tabela 1.10 - Resultados obtidos por diferentes autores em relação ao período de emissão de gametas de *Tagelus plebeius* em diferentes áreas geográficas.

Autor	Localidade	Ciclo	Período de emissão de gametas	Período de repouso
Cledón et al. (2004)	B. Aires – Argentina	Contínuo	Ano todo (determinados períodos)	-
Silva (2007)	Caraguatatuba – SP	Contínuo	Ano todo dezembro (maior emissão)	-
Ceuta (2007)	Ilhéus – BA	Contínuo	Ano todo (agosto a outubro)	-
Farias (2008) Presente estudo	Fortaleza - CE	Contínuo	Ano todo (segundo semestre)	-

Diferentemente dos resultados encontrados para as populações da região nordeste (Ceuta, op cit; presente estudo) e sudeste do Brasil (Silva, op cit), a população de *Tagelus plebeius* da costa argentina (Cledón et al., 2004) apresentou atividade reprodutiva concentrada em determinados períodos ao longo do ano, com o início do desenvolvimento dos gametas na primavera. Segundo esses autores, durante a atividade reprodutiva, não

ocorreu eliminação e maturação dos gametas simultaneamente, diferentemente do que foi observado nos estudos na costa brasileira.

Fraser (1967) verificou em uma população de *Tagelus divisus* na Baía de Biscayne, Flórida (EUA), que as fêmeas estavam com os ovócitos maduros de dezembro a março, enquanto nos machos os espermatozóides ativos estavam presentes de novembro a maio.

A sincronia, a duração do ciclo reprodutivo e o número de ciclos durante o ano podem ser características específicas de cada população ou podem variar em populações que ocorrem em diferentes áreas geográficas (EVERSOLE, 1989; SASTRY, 1979).

Desta forma, as diferenças observadas entre as populações das regiões brasileiras e argentinas podem estar relacionadas com as amplitudes de variação da temperatura, em função de diferenças latitudinais, que podem propiciar uma acentuada diversidade dos fatores fisioecológicos, afetando as épocas de reprodução dos organismos e, em particular, de moluscos bivalves (BARREIRA; ARAÚJO, 2005), tal como mencionou Ceuta (2007).

Para a obtenção de informações mais detalhadas e confiáveis em relação ao estudo do ciclo reprodutivo das espécies, atualmente, a medição e a contagem dos ovócitos vêm sendo utilizadas como métodos complementares sustentados por técnicas histológicas (MOURA et al, 2008).

Dentre as pesquisas já realizadas com moluscos bivalves, utilizando esta metodologia de análise, destacam-se os estudos feitos na costa argentina com *Tagelus plebeius* (Cledón et al, 2004) e *Amiantis purpuratus* (Morsan, 2003; Morsan e Kroeck, 2005) e com *Callista chione* na costa sudoeste de Portugal (Moura et al, op cit). Na costa brasileira, destacam-se as pesquisas de Boehs (2000), na Baía de Paranaguá (PR), com a espécie *Anomalocardia brasiliiana* e de Borzone et al. (2001), com *Chione pubera*, no litoral sul do estado de São Paulo.

As variações observadas no diâmetro médio das células sexuais femininas de *Tagelus plebeius*, durante os meses de estudo, foram proporcionais às fases de desenvolvimento gonadal da espécie.

De acordo com os resultados obtidos na presente pesquisa, verificou-se que na fase inicial de desenvolvimento gonadal (“Proliferação”), as células sexuais medidas possuíam diâmetros mais reduzidos, sendo possível a visualização principalmente de ovogônias e ovócitos pré-vitelogênicos. Na medida em que foram amadurecendo

(“Maturação/Eliminação Inicial”), o diâmetro dos ovócitos foi aumentando. Nesta fase, houve uma predominância de ovócitos vitelogênicos e ovócitos maduros. Este fato coincidiu com o período de liberação de gametas, em que os ovócitos maduros atingiram o maior grau de maturação.

Cledón et al. (2004) mediram para *Tagelus plebeius* na costa argentina, ovócitos de 75-95 μm de diâmetro. Os ovócitos maduros de *T. plebeius* provenientes do estuário do Rio Ceará mediram de 27 a 57 μm , com média de 41,7 μm de diâmetro.

Os diâmetros registrados no presente estudo, menores do que os observados na pesquisa de Cledón et al. (op cit), sugerem uma provável relação com as condições ambientais diferenciadas nas duas áreas, tais como sazonalidade climática e disponibilidade de alimento. Populações localizadas em águas tropicais (presente estudo), onde só ocorrem duas estações no ano (período seco e chuvoso) têm estratégias reprodutivas distintas das encontradas em águas temperadas (Cledón et al., op cit), onde ocorrem todas as estações do ano. Neste último caso, as mudanças de temperatura são tão marcantes que induzem os organismos a apresentarem diferentes respostas em seu ciclo reprodutivo.

Outro aspecto que pode influenciar nas medições seriam as condições de preparação dos tecidos gonadais (preservação/fixação), tal como sugeriu Metaxatos (2004) em uma pesquisa com *Callista chione* na costa leste do Mediterrâneo (Grécia). Na referida pesquisa, os ovócitos da espécie foram medidos a fresco, apresentando diâmetros maiores que os observados posteriormente para o mesmo bivalve na costa de Portugal (Moura et al, 2008), cujos exemplares foram fixados antes das medições.

5.4. Variáveis Ambientais e as Fases do Desenvolvimento Gonadal

Segundo Assis (1985), as variações observadas nas fases do ciclo reprodutivo são também determinadas pela influência de condições ambientais diferentes, fazendo com que certas fases se prolonguem e outras se reduzam.

A salinidade e a composição qualitativa e quantitativa do alimento, especialmente no ambiente estuarino, onde existem variações importantes, também podem contribuir na regulação dos processos reprodutivos (CHRISTO, 2006).

Dentre as variáveis ambientais observadas no presente estudo, a temperatura da água não parece influenciar o ciclo gametogênico da espécie, pois nenhuma correlação entre esta variável e as fases de desenvolvimento gonadal foi significativa.

Este estudo diferiu do que foi constatado para espécies do sudeste e sul do Brasil. Borzone et al. (2001), em uma pesquisa com *Chione pubera* (litoral sul do estado de São Paulo) e Gil e Thomé (2004), estudando *Donax hanleyanus* (litoral norte do Rio Grande do Sul) observaram que ambas as espécies têm desenvolvimento gonadal termicamente controlado. O venerídeo *C. pubera* apresentou períodos de desova relacionados com o aumento da temperatura da água, e o período de reversão gonadal coincidiu com os menores valores de temperatura. Enquanto em *D. hanleyanus*, houve uma correlação negativa entre a temperatura da água e o percentual de animais em início de maturação e uma correlação positiva desta variável com a emissão/desova parcial de gametas.

Ainda no sul do Brasil, Araújo (2001) em um estudo com *Anomalocardia brasiliana* na Reserva Extrativista de Pirajubaé, estado de Santa Catarina, também verificou que as diferenças observadas nos ciclos reprodutivos das espécies são provavelmente reflexos das amplitudes de variação da temperatura, em função das diferenças latitudinais.

Morsan e Kroeck (2005), em um estudo realizado em Playa Villarino (Patagônia Argentina), com uma população de *Amiantis purpuratus*, observaram que a gametogênese dessa espécie também é aparentemente regulada pela temperatura. A fase proliferativa ocorre durante os meses de baixas temperaturas e a maturação ocorre durante o período de temperaturas mais altas. Segundo Maia et al. (2007), os ciclos gametogênicos de *Solen marginatus* e *Venerupis pullastra* na Ria de Aveiro (Portugal) podem apresentar padrões sazonais relacionados com a temperatura da água, tendo-se observado uma emissão de gametas mais intensa durante os meses mais quentes de verão.

Diferindo dos resultados citados acima, a salinidade foi a variável que mais influenciou a espécie *Tagelus plebeius* durante o período de estudo. Observou-se que a correlação entre este fator e as fases de desenvolvimento foi significativa, principalmente entre as fases “Maturação/Eliminação Inicial (correlação positiva) e “Atresia Celular” (correlação negativa).

Estas correlações sugerem que, devido ao aumento da salinidade em função dos menores valores de precipitação pluviométrica encontrados para o período, há um estímulo para uma maior liberação de gametas, principalmente no segundo semestre do ano.

Merece especial atenção, a degeneração das células sexuais (“Atresia Celular”), tanto em machos como em fêmeas, observada exclusivamente nos meses de abril do período estudado (2006 e 2007), em que os valores obtidos para a salinidade da água foram 10 e 5, respectivamente.

De acordo com Gilles (1982), o efeito direto da salinidade está relacionado com a habilidade em níveis molecular e orgânico de manter um balanço hídrico adequado de seus fluidos internos, em qualquer estágio de seu ciclo de vida.

Possivelmente, as maiores precipitações ocorridas neste período, com uma conseqüente diminuição da salinidade da água na área estudada, interferiram no ciclo reprodutivo da espécie, causando uma perturbação osmótica nos organismos. De acordo com Barreira e Araújo (2005), esta influência se dá na medida em que induz as células do animal à realização de ajustes da osmolaridade.

Tratando-se de uma espécie eurihalina, *Tagelus plebeius*, como outros moluscos, pode regular o volume de suas células dependendo das características de permeabilidade da membrana celular que, por sua vez, são influenciadas pela concentração osmótica extracelular, principalmente em meios com salinidade variável.

Viégas (1981) reportou que *T. plebeius* tem um limite de salinidade ideal para o seu melhor desenvolvimento. Segundo Abrahão e Amaral (1999), as pesquisas realizadas com a espécie não mencionam uma faixa ótima de sobrevivência para este bivalve, porém, Castagna e Chanley (1973) verificaram que as atividades de filtração e escavação destes moluscos eram reduzidas em uma salinidade abaixo de 10, com uma pequena taxa de sobrevivência em salinidades de 2,5 e 5,0.

Báez et al. (2005), em um estudo com o mitilídeo *Geukensia demissa* na Praia de Nazaret (Estado Zulia, Venezuela), sugerem que o comportamento reprodutivo desta espécie é o resultado da interação dos fatores ambientais ocorridos no estuário do Lago de Maracaibo, principalmente da salinidade. Os autores observaram dois processos gametogênicos, um de menor intensidade, em que os organismos alcançaram uma maior

porcentagem de maturação no início da época da chuva (maio a junho) e outro de maior intensidade no início da época seca (outubro a novembro).

Os bivalves *Anomalocardia brasiliana* e *Lucina pectinata*, espécies simpátricas a *T. plebeius*, também têm seu desenvolvimento gonadal influenciado principalmente pela variação de salinidade (BARREIRA; ARAÚJO, 2005; DELFINO, 2005).

Resultados semelhantes foram encontrados por Carpes-Paternoster (2003) para *Mytella guyanensis*, na Ilha de Santa Catarina, onde o maior volume de indivíduos em gametogênese ocorreu nos meses de verão, coincidindo com as temperaturas mais altas, tendo também influência da variação de salinidade.


Estes resultados divergem dos encontrados por Ceuta (2007), que apesar de ter constatado em sua pesquisa uma elevada precipitação quando os animais estavam em baixa eliminação, a salinidade parece não ter apresentado muita diferença na área estudada.


De acordo com Assis (1985), a ocorrência de fases de transição é normal e a caracterização do estágio deve ser efetuada pela dominância de um determinado aspecto.


Verificou-se, neste estudo, que os fatores ambientais podem atuar de maneira significativa em *Tagelus plebeius*, afetando as fases do seu ciclo reprodutivo. Sendo esta uma espécie com ampla distribuição geográfica, é natural que possa exibir diferentes comportamentos em relação a estes fatores nas regiões onde habita. Isto explica também a variação dos estádios descritos na literatura para esta e outras espécies de bivalves.


6. CONCLUSÕES


Considerando a análise do ciclo reprodutivo e da distribuição populacional do molusco bivalve *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786), realizada no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE, foi possível concluir que:

 Os indivíduos apresentam um padrão de distribuição predominantemente aleatório ao longo da área estudada;

 A precipitação pluviométrica, com a conseqüente variação da salinidade são fatores importantes que influenciam na distribuição e no ciclo reprodutivo da referida espécie;

 O ciclo reprodutivo de *T. plebeius* é contínuo ao longo do ano;

 O período de maturação gonadal ocorre predominantemente no primeiro semestre do ano;

 O período de eliminação de gametas ocorre predominantemente no segundo semestre do ano.



Condições Microbiológicas de Tagelus plebeius (Lightfoot, 1786) (Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) no Estuário do Rio Ceará, em Fortaleza- CE

1. INTRODUÇÃO

A extração dos recursos marinhos tem sido uma atividade rotineira para as comunidades costeiras (FAGUNDES et al., 2004) e atualmente esses organismos constituem uma importante fonte de alimento e de matéria-prima (LOGULLO, 2005).

Além das diversas espécies provenientes do ambiente marinho, são bastante apreciadas aquelas capturadas no ambiente estuarino, tais como os moluscos bivalves (BARROS, 2004).

Devido à característica de animais filtradores, os bivalves podem acumular diversos patógenos presentes em águas contaminadas por efluentes. Os vírus, bactérias e protozoários entéricos têm sido detectados em surtos relacionados ao consumo de água ou alimentos contaminados (BARARDI et al., 2006).

De acordo com Vieira (2004), o grande perigo, portanto, se deve à ingestão freqüente de moluscos *in natura*, sem nenhum cozimento prévio ou da sua contaminação pós-cozimento. Nesse caso, o risco de toxinfecção aumenta por não se saber quais bactérias e em quais níveis quantitativos estariam presentes no animal.

Considerando a importância de pesquisas sobre os bivalves comumente encontrados no litoral brasileiro e consumidos como alimento, a presente pesquisa teve como objetivo estudar a espécie *Tagelus plebeius* no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza - CE, considerando seus aspectos microbiológicos. Desta forma, foram analisadas:

- A qualidade da água e dos tecidos de exemplares de *Tagelus plebeius* em relação à presença de coliformes termotolerantes (45°C);
- A presença de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva no músculo e líquido perivisceral do molusco, segundo os requisitos da Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Brasil, 2001).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os moluscos vêm sendo utilizados como alimento desde os homens primitivos e, segundo Galvão (2004), desde a era Paleozóica os bivalves já eram consumidos. Provas e testemunhos de pelo menos oito mil anos permaneceram e ficaram dispersas no litoral brasileiro, sob a forma de concentrações de conchas, algumas formando enormes amontoados (com até 30 m de altura). No Brasil, essas concentrações são chamadas pelo nome Tupi: *sambaqui* (que significa *tamba* – mariscos, *ki* – amontoado) o qual teria o correspondente *sernambi* para os indígenas do Nordeste (BORGES, 2004). Construções semelhantes são encontradas em vários países da América do Norte, Europa, América Latina e Austrália, sendo conhecidas popularmente como “casqueiros”, “concheiros”, “berbigões” e “ostreiras”. Nos EUA são denominadas de “shell-mounds” ou “kitchen-midden” e “amas de coquille” na França, além de “concheros” nos países latinos (MILHEIRA, 2006).

De acordo com Galvão (op cit), o cultivo de moluscos foi iniciado pelos japoneses (2000 a.C.) e pelos romanos (100 a.C.) e atualmente alcança um elevado nível tecnológico. São alimentos de destacável importância nutricional por serem fontes expressivas de proteínas e de minerais, enquanto os teores de lipídios e calorias são baixos (PEDROSA et al., 2001). Os bivalves são ricos em vitaminas e minerais, fundamentais numa alimentação equilibrada.

Também possuem boa digestibilidade e baixo custo. Apresentam sabor delicado e suave, sendo indicado para o preparo dos mais diversos pratos (BALDEZ et al., 2003). Quando comparados a outros tipos de pescado, apresentam em sua carne um alto teor de carboidratos e menores concentrações de nitrogênio (RIBEIRO, 2004).

No nordeste do país, muitos bivalves têm importância socioeconômica para as populações, ao fazer parte da dieta alimentar e ser uma das principais fontes de renda das famílias envolvidas ou complementar a renda oriunda de atividades assalariadas.

Segundo Pires-Santos et al. (2007), a espécie *Lucina pectinata* (“lambreta”), ocupa um lugar de destaque por seu valor comercial nos manguezais do nordeste do Brasil. Em Garapua (BA), geralmente é coletada por mulheres (marisqueiras), sendo também vendida em outras localidades, como o Morro de São Paulo e Salvador (DELFINO, 2005).

No distrito de Acupe (Santo Amaro – BA), a captura do “berbigão” (*Anomalocardia brasiliiana*), do “sururu” (*Mytella falcata*) e da “ostra” (*Crassostrea rhizophorae*) se destaca em termos de atividade artesanal. São também coletados, em menor escala, a “tarioba” (*Iphigenia brasiliensis*), o “aribi” (*Tagelus plebeius*) e a “lambreta” ou “sarnambi” (*Lucina*

pectinata) (MARTINS; SOUTO, 2006). *Anomalocardia brasiliana* também é capturada na região da Baía de Todos os Santos (BA) (BISPO et al., 2004). De acordo com Ramos e Paranaguá (2005), a exploração de *Tagelus plebeius* no estuário do rio Cachoeira (Ilhéus-BA) é a segunda principal atividade de pesca e de mariscagem artesanal.

Em Maceió, estudos realizados no Complexo Estuarino das lagoas Mundaú/Manguaba revelaram a existência de espécies de importância comercial, como o “sururu” (*Mytella falcata*), o “maçunim” (*Anomalocardia brasiliana*) e a “unha-de-velho” (*Tagelus plebeius*) (LIRA et al., 2004).

Segundo Baldez et al. (2003), no estado do Maranhão, os sururus (*Mytella falcata*) usualmente são comercializados vivos por pequenos varejistas nas feiras ou nas portas das residências. São também vendidos sem conchas, acondicionados sob refrigeração ou congelados, defumados na forma de conservas e salgados secos.

No estuário do rio Paraíba do Norte (PB) *Mytella guyanensis* é uma espécie abundante, comestível e de grande valor comercial; sua captura é extrativista e o comércio não regulamentado (NISHIDA; LEONEL, 1985).

O estuário do rio Mamanguape (PB) também se destaca pela importância na economia pesqueira. *Crassostrea rhizophorae*, *Anomalocardia brasiliana*, *Mytella guyanensis*, *Mytella charruana* e *Tagelus plebeius* são as espécies mais comuns nesse ambiente (NISHIDA; NORDI, 1998).

A “ostra-do-mangue” *Crassostrea rhizophorae* é comumente extraída de bancos naturais no estuário do Rio Ceará (Fortaleza – CE), sendo utilizada como recurso de subsistência das populações ribeirinhas (VILANOVA; CHAVES, 1988).

A grande maioria dos bivalves comercializados no Brasil ainda é proveniente de bancos naturais, apesar de algumas espécies já serem cultivadas, como o mexilhão *Perna perna*, alcançando expressiva importância econômica (HENRIQUES et al., 2003).

O estabelecimento de normas para a produção e consumo de moluscos não é simples, apesar do seu consumo representar riscos à saúde pública, pois refletem diretamente as condições do meio ambiente (GALVÃO et al., 2006).

O consumo de moluscos geralmente é acompanhado de certa preocupação dos consumidores quanto à origem e qualidade do produto. Este fato está associado à maneira pela qual os animais são consumidos, crus ou levemente cozidos e devido a sua própria biologia, que possibilita sua contaminação (TORRENS, 2005).

No molusco, a maior concentração de microorganismos é encontrada no intestino, brânquias e muco superficial (RIBEIRO, 2004).

Os bivalves podem acumular patógenos presentes em águas contaminadas por efluentes (BARARDI et al., 2006). O risco de doenças infecciosas oriundas do consumo destes organismos é um problema amplamente reconhecido há vários anos, tanto pela indústria de alimentos quanto pelas agências de saúde. Como a maioria dos moluscos é capturada em águas estuarinas, há a possibilidade de contaminação com patógenos do esgoto, bem como pelo ambiente (RIBEIRO, op cit).

Deste modo, os bivalves são vetores potenciais de infecções transmitidas pela água e são importantes indicadores de alterações ambientais. Quando são criados em águas contaminadas com esgoto, têm uma alta capacidade de acumular em seus tecidos compostos presentes na água como organismos patogênicos, principalmente bactérias (LOGULLO, 2005). A depuração dos bivalves pode ser uma alternativa para a purificação do animal como alimento, porém a eficiência desse método é contestada por alguns pesquisadores, que relataram a resistência de vírus ou tempo não suficiente para reduzir a população bacteriana a níveis não detectáveis.

Os efeitos da ocupação desordenada da zona costeira, devido aos atrativos sociais e econômicos que esta região apresenta, têm causado a degradação de diversos ecossistemas e comprometido a qualidade de suas águas. Essa concentração populacional, em nível mundial, com o uso e a ocupação do solo, interfere no meio ambiente, na medida em que, se realizado de forma desordenada, ocasiona aumento do volume de efluentes para os corpos hídricos (domésticos e pluviais) ou problemas com resíduos sólidos urbanos (LOGULLO, op cit).

Ecossistemas aquáticos submetidos à poluição (presença de poluentes que afetam os aspectos estéticos e ambientais) ou contaminação (presença de substâncias tóxicas ou de organismos patogênicos) podem trazer sérios problemas de saúde aos seres humanos, causando um impacto nesses ecossistemas que sustentam a maior parte da biodiversidade marinha, os principais recursos pesqueiros e as reservas energéticas mundiais (MAIA et al., 2006).

As toxinfecções alimentares de origem bacteriana representam a conseqüência mais comum relacionada ao consumo de moluscos bivalves provenientes de áreas poluídas. Existem também riscos de doenças provocadas por parasitas, biotoxinas e intoxicações químicas (metais pesados, agrotóxicos) (PEREIRA, 2003).

A contaminação de alimentos de origem marinha por bactérias Gram-negativas patogênicas é de grande interesse do ponto de vista da saúde pública (VIEIRA, 2004), uma vez que algumas espécies afetam tanto o homem quanto a outros animais.

Salmonella é um dos patógenos mais temidos em alimentos devido à sua virulência e habilidade para sobreviver em condições de estresse. Essa bactéria é uma das mais importantes a nível mundial, pelo grande número de casos de salmoneloses que ocasiona a cada ano (FONTANEZ-BARRIS, 2005). Geralmente, está vinculada a alimentos crus, especialmente os de origem animal.

Atualmente, o gênero *Salmonella* apresenta três espécies (*S. enterica*, *S. bongori* e *S. subterranea*) e seis subespécies diferenciadas através de provas bioquímicas. Existem 2519 sorovariedades com base nas associações de antígenos O e H de acordo com esquema de Kauffmann-White (tabela editorada pelo Instituto Pasteur-Paris, revisada anualmente quanto à caracterização de novos sorovares com a editoração completa desta listagem efetivada a cada cinco anos). Esse gênero é composto por bastonetes curtos, Gram-negativos, não esporulados, na maioria móveis por flagelos peritríquios (exceto *Salmonella Gallinarum* e *Salmonella Pullorum*), de metabolismo aeróbio ou facultativamente anaeróbio (VIEIRA, op cit). Formam ácido e gás a partir da glicose, excetuando-se *S. Gallinarum*, são lisina descarboxilase positiva, formam H₂S e crescem em meio de citrato de Simmons (DANTAS et al., 2006). Segundo Martínez et al. (2003), a presença de *Salmonella* nos sistemas aquáticos deve-se às descargas de águas residuais urbanas, agrícolas e de águas residuais em zonas costeiras, as quais representam um foco de contaminação permanente. Além disso, eventos climáticos como chuvas e tormentas geram escoamentos que transportam bactérias entéricas através do seu reservatório até a costa, contaminando os organismos que crescem naquele ambiente. A identificação do gênero *Salmonella* é baseada na composição de seus antígenos de superfície: os somáticos (O), os flagelares (H) e os capsulados (Vi). Os antígenos O estão localizados na fração lipopolissacarídica (LPS) da membrana externa, sendo esta constituída de um lipídeo chamado de lipídeo A, ligado a uma porção polissacarídica (cerne), de onde partem cadeias monossacarídicas. O lipídeo é responsável pelo efeito tóxico que o LPS apresenta (endotoxina). Já os antígenos H são de natureza protéica e também são espécies-específicas, podendo apresentar-se sob duas formas genotipicamente diferentes na mesma célula (fase 1 e fase 2). Os antígenos O e Vi são termoresistentes, não sendo destruídos pelo aquecimento a 100° C por 2 horas, enquanto que os antígenos H são termolábeis (FRANCO; LANDGRAF, 1999).

Os estafilococos são bactérias Gram-positivas, imóveis, não esporuladas, capsuladas ou não, de forma esférica, medindo de 0,5 a 1 µm de diâmetro e agrupadas em massas irregulares em forma de “cachos de uva”. Pertencem à família Micrococcaceae e apresentam metabolismo respiratório e fermentativo, atuando sobre carboidratos com produção de ácidos, sendo aeróbias e anaeróbias facultativas. Podem crescer em temperaturas de 7 a 48°C, com um ótimo de 30 a 37°C. Tradicionalmente, os estafilococos são divididos em duas categorias, coagulase positivos e coagulase negativos. Essa divisão está baseada na capacidade de coagular o plasma, que é uma importante propriedade marcadora de patogenicidade. As espécies que se destacam como patógenos potenciais são *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. delphini*, *S. schleiferi* subsp *coagulans* e várias espécies de *S. hyicus* (VIEIRA, 2004). *S. aureus* é a espécie mais virulenta e o patógeno mais importante, embora a incidência de infecções causadas por *Staphylococcus* coagulase negativa tenha aumentando em todo o mundo (TERASAWA, 2006). A intoxicação alimentar provocada por este microrganismo é devido à ingestão de enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento. A enterotoxina estafilocócica é termoestável e está presente no alimento mesmo após o cozimento (CUNHA NETO et al., 2002). Em função do risco à saúde pública que sua presença representa em alimentos, estabeleceu-se, em diversos países, a obrigatoriedade de sua pesquisa e enumeração, como parte das ações de fiscalização sanitária de órgãos governamentais. No Brasil, para a identificação de *S. aureus* são recomendados os testes de produção de coagulase, termonuclease, coloração de Gram e catalase, permitindo diferenciá-lo do *S. intermedius* e do *S. hyicus*. O Ministério da Saúde, através da Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, no anexo I, regulamenta a utilização dos testes acima citados, referindo que cepa positiva, para todos os testes, é classificada como *S. aureus*, exceto quando isolada de leite e produtos derivados, nos quais as cepas reativas recebem a denominação de estafilococos coagulase positiva (CUNHA NETO et al., op cit).

A espécie *S. aureus* é largamente disseminada no ambiente, sendo o homem e outros animais seu principal reservatório. A cavidade nasal é o principal habitat dos estafilococos no homem e a partir deste foco, atingem tanto a epiderme e feridas como o ar, água, solo e qualquer tipo de objeto que tenha entrado em contato com o homem (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Os estafilococos também estão presentes na garganta, faringe, glândulas mamárias, trato intestinal, urinário, cabelo e pele em mais de 50% da população humana (KLOOS, 1990).

Os coliformes termotolerantes, anteriormente assumidos como coliformes fecais, são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 48h a 44,5-45,5°C, normalmente em caldo EC. Esse grupo inclui os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, sendo as cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Quando se determina a população dos coliformes fecais, 90% correspondem a *Escherichia coli*. Essa espécie foi então diferenciada dos coliformes totais como um indicador mais específico de poluição fecal (VIEIRA, 2004).

A enumeração de coliformes termotolerantes a 45°C/g visa a caracterizar as condições higiênico-sanitárias dos alimentos (BARROS et al., 2005). Também indica a quantidade dos microrganismos oriundos de excretas humanas, portanto com risco de serem possivelmente patogênicos (RIBEIRO, 2004). Uma alta densidade de coliformes termotolerantes nas águas pode indicar um elevado nível de contaminação por esgotos, colocando em risco a saúde dos banhistas e a sanidade dos moluscos provenientes dessa região, cujas conseqüências irão depender da saúde da população que gera esses esgotos, da taxa de filtração/fator de acumulação dos bivalves e do grau de imunidade dos consumidores. As principais vantagens da utilização dos coliformes como indicadores são o fato de serem encontrados normalmente no intestino humano e animais de sangue quente e serem eliminados em grandes quantidades nas fezes (GALVÃO, 2004). Coliformes são indicadores de higiene no processamento de alimentos, dentre eles, a bactéria *Escherichia coli* é índice de contaminação fecal, podendo ser resistente a concentrações suaves de sal em alimentos (MURATORI, 1991).

A legislação que rege os níveis aceitáveis de contaminação em águas destinadas à criação de moluscos bivalves varia conforme o país (BARARDI et al., 2006). No que se refere à sanidade dos bivalves cultivados, cada país também possui a sua própria legislação.

Pelo risco de contrair doenças infecciosas associadas ao consumo de bivalves, muitos países decretaram medidas de controle sanitário para a produção de moluscos.

Na Comunidade Européia (CE) e em diversos países as áreas de obtenção de bivalves são classificadas por alguns critérios, como parâmetros microbiológicos da água (americano) ou dos bivalves (europeu) (LOGULLO, 2005). Esta classificação determina se a extração é proibida ou permitida e se os bivalves podem ser enviados diretamente à comercialização ou somente após a depuração (Tabela 2.1).

Tabela 2.1 - Normas pertinentes quanto às áreas para o cultivo de moluscos marinhos e do produto para a comercialização *in natura*, segundo critérios microbiológicos adotados na Comunidade Econômica Européia e Estados Unidos.

Norma	Especificações
Federal Security Agency - EUA	Livres:
	Concentração de Coliformes fecais < 70 NMP / 100 ml na água de cultivo. Podem ser comercializados sem depuração.
	Restritas:
Concentração de Coliformes fecais entre 70 e 700 NMP / 100 ml na água de cultivo. Devem ser submetidos a depuração antes de serem comercializados.	
Proibidas:	
Concentração de Coliformes superior a 700 NMP / 100 ml na água de cultivo. Não é permitida a extração ou cultivo de moluscos bivalves.	
Diretiva nº 91/492/CEE	Classe A:
	NMP coli. Fecais / 100 g. de carne de moluscos < 300, os bivalves podem ser coletados e comercializados para consumo humano direto (crú);
	Classe B:
NMP coli. Fecais / 100 g. de carne de moluscos entre 300 e 6.000 (em pelo menos 90% das amostras), os bivalves podem ser coletados e destinados a depuração, transposição (depuração natural) ou transformação (beneficiamento) em unidade industrial;	
Classe C:	
NMP coli. Fecais / 100g. de carne entre 6.000 e 60.000, os bivalves podem ser coletados e destinados a depuração intensiva, transposição prolongada (mínimo de 2 meses) ou transformação em unidade industrial;	
Proibida:	
NMP coli. Fecais / 100g. de carne > 60.000	

Fonte: LOGULLO (2005).

Nos Estados Unidos, essas medidas foram regulamentadas por acordos comerciais interestaduais, definidos no *Manual de Operações do Programa Nacional Sanitário de Moluscos* da Food and Drug Administration (FDA, 2002). Já em relação à Comunidade Européia (CE), as medidas foram descritas junto à Diretriz Européia 91/492/EEC (EUROPEAN COMMUNITIES, 1991) para capacitar a operação do Mercado Comum Europeu a partir de 1993 (BARARDI et al., 2006). Se outro país tiver interesse em exportar para a CE ou para os Estados Unidos deve produzir seus produtos com os mesmos padrões estabelecidos nesses países. Nos programas desenvolvidos para a exportação de produtos de origem marinha são utilizados indicadores bacterianos de contaminação fecal, tais como coliformes fecais ou *Escherichia coli* ou patógenos específicos (*Salmonella*), para atestar a contaminação e, portanto, implementar medidas apropriadas de controle.

Nenhum dos procedimentos adotados internacionalmente para o controle sanitário de bivalves, tais como depuração/purificação, identificação do local e origem está previsto na legislação brasileira vigente (LOGULLO, 2005).

Para o controle microbiológico de moluscos (BRASIL, 2001), é adotada a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária- ANVISA, RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001, ligada ao Ministério da Saúde para pescados e produtos de pesca (item 7a) expostos à venda ou destinados ao consumo humano (LOGULLO, op cit). No que se refere à qualidade das águas de cultivo, a Resolução nº 357 de 17 de março de 2005 do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA estabelece que os limites para estas águas não deverão exceder uma concentração média de Número Mais Provável (NMP) de 14 coliformes fecais/100 mL, com não mais de 10% das amostras excedendo 43 coliformes fecais/100 mL para áreas destinadas à criação natural de espécies para consumo humano (BARARDI et al., op cit).

De acordo com a Resolução do CONAMA nº 357/2005, as águas salobras destinadas à criação natural e/ou intensiva de espécies destinadas à alimentação humana são da Classe 1, cujas características são estabelecidas no Art. 21, que são:

Não verificação de efeito tóxico crônico a organismos, de acordo com os critérios estabelecidos pelo órgão ambiental competente, ou, na sua ausência, por instituições nacionais ou internacionais renomadas, comprovado pela realização de ensaio ecotoxicológico padronizado ou outro método cientificamente reconhecido;

Carbono orgânico total: até 3 mg/L, como C;

OD, em qualquer amostra, não inferior a 5 mg/L O₂;

pH: 6,5 a 8,5;

Óleos e graxas: virtualmente ausentes;

Materiais flutuantes: virtualmente ausentes;

Substâncias que produzem cor, odor e turbidez: virtualmente ausentes;

Resíduos sólidos objetáveis: virtualmente ausentes.

Devido à ausência de legislação nacional sobre o assunto, o Brasil baseia-se nas Normas Higiênico-Sanitárias Provisórias para Moluscos Bivalves, propostas pelo *Codex Alimentarius* (FAO; WHO, 2004). Porém, isto não tem força de lei e também não propõe um critério específico para classificação das áreas, apresentando uma sinopse dos critérios de classificação de vários países signatários (BARARDI et al., 2006).

Nos últimos anos, diversos autores têm contribuído para o conhecimento das condições sanitárias da água e/ou bivalves utilizados na alimentação humana. No Brasil, podemos citar as pesquisas de Mendes (2001), Pereira (2003), Silva et al. (2003), Furlan (2004), Galvão (2004), Ribeiro (2004), Valente (2004), Barros et al. (2005), Cardonha et al. (2005), Logullo (2005), Carvalho (2006), Vieira et al. (2007) e Atayde (2007), dentre outros.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC).

3.1. Procedimento de Campo

3.1.1. Coleta das amostras

A água e os exemplares de *Tagelus plebeius* foram coletados no estuário do Rio Ceará (Figura 2.1), no município de Fortaleza – CE ($03^{\circ}42'09.8''$ S; $38^{\circ}35'49.0''$ W), em dois meses da estação seca (novembro e dezembro de 2006) e em dois meses da estação chuvosa (março e abril de 2007), totalizando quatro coletas. As amostragens foram realizadas em marés diurnas de sizígia, de acordo com as Tábuas de Marés divulgadas pelo Departamento de Hidrologia e Navegação da Marinha (DNH) para o Porto do Mucuripe nos anos de 2006 e 2007 (BRASIL, 2006; 2007). Em cada mês, foram coletados aproximadamente 25 exemplares de *T. plebeius*, totalizando 100 indivíduos analisados. A coleta detalhada já foi descrita no Capítulo I.



Figura 2.1 - Imagem de satélite do estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, mostrando a área de estudo (QUICKBIRD, Zona 24 S).

3.1.2. Análises

Para a avaliação da qualidade da água proveniente da área de estudo, foi coletada manualmente em um vidro âmbar estéril uma amostra de 500 mL, de três diferentes pontos para a realização de testes para colimetria segundo Garthright (2001) (Figura 2.2).

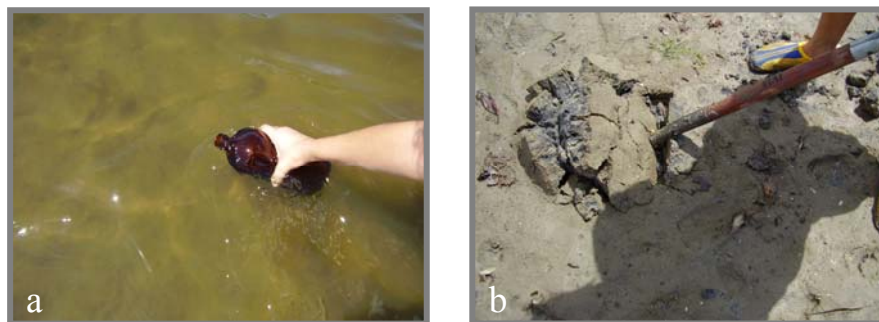


Figura 2.2 - Coleta das amostras para análise microbiológica. (a) Coleta de água; (b) Coleta de *Tagelus plebeius*.

A avaliação da qualidade dos exemplares de *T. plebeius* foi definida pela presença de *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes termotolerantes (45°C). Os dois primeiros testes seguiram a portaria n°12 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) (BRASIL, 2001). O terceiro teste foi feito a fim de se comparar os resultados obtidos para a água e aqueles conseguidos através do estudo dos animais. O Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C) foi calculado através da consulta à tabela de Hoskins (APHA, 1995). Foi utilizado o método dos tubos múltiplos, em série de cinco tubos, através da combinação do número de tubos positivos. Observava-se a formação de gás e turvação dos tubos em cada série de diluição. As estimativas do NMP de coliformes termotolerantes (45°C) das amostras de água foram expressas em NMP/100 mL, e em NMP/g para as amostras de *T. plebeius*.

Para ambos os casos usou-se a combinação de cinco tubos, segundo Vieira (2004).

Os testes para *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* coagulase positiva seguiram as recomendações da Food and Drug Administration (FDA) (2001).

3.1.3. Análise Estatística

As correlações entre as variáveis ambientais (salinidade, temperatura, precipitação e teor de matéria orgânica) e o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL ou g foram obtidas através da análise de correlação não paramétrica de Spearman, examinando o grau de associação existente entre duas variáveis independentes, utilizando-se o programa STATISTICA ® versão 6.0. Foi considerada significativa a correlação entre o NMP e as variáveis ambientais se $p < 0,05$.

3.2. Procedimento de Laboratório

3.2.1. Preparo das amostras

As amostras de água foram levadas ao laboratório em uma caixa isotérmica com gelo, onde foi feita a análise imediata (Figura 2.3a).

Os exemplares de *Tagelus plebeius* foram acondicionados em bolsas plásticas herméticas para alimentos (tipo “ziploc”) (Figura 2.3b).

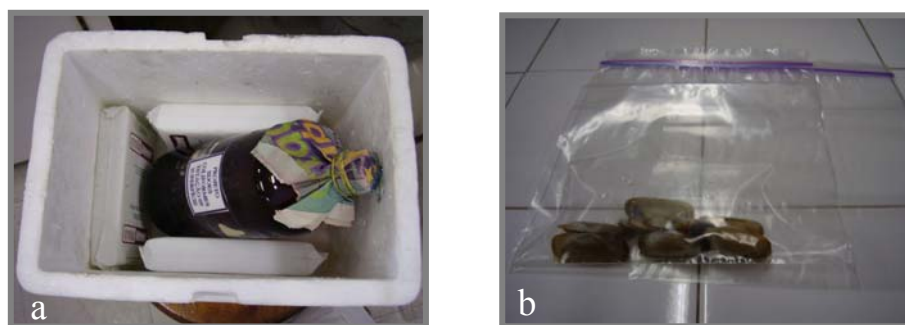


Figura 2.3 - Amostras acondicionadas para análises microbiológicas.
(a) Caixa isotérmica com gelo contendo garrafa com amostra de água;
(b) Exemplares de *Tagelus plebeius* acondicionados em bolsas plásticas.

Todas as amostras utilizadas nos experimentos foram manipuladas perto da chama do bico de Bunsen, para evitar contaminação, assim como todos os instrumentos e utensílios (lâminas de bisturi, pinças, colheres, etc.) foram previamente esterilizados em autoclave e flambados durante o manuseio (Figura 2.4). Foram também utilizadas luvas e máscaras descartáveis. A superfície das bancadas usadas foi higienizada com álcool 70%.



Figura 2.4 - Manipulação asséptica das amostras durante as análises.

3.3. Coliformes Termotolerantes (45°C)

3.3.1. Análise da Água

Para quantificar os coliformes termotolerantes (45°C) na água proveniente da área de estudo (Teste de Colimetria), foi determinado o Número Mais Provável (NMP) através da técnica de fermentação em tubos múltiplos (Figura 2.5).

Partindo da garrafa de coleta da água (Figura 2.6a) foram feitas as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , e pipetadas alíquotas de 1 mL dessas diluições para cada série de cinco tubos de 10 mL do caldo Lauril Sulfato Triptose- LST (Merck), com tubos de Durhan invertidos. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 48 horas.

Após 48 horas, os tubos considerados positivos de cada diluição foram contados e essa contagem anotada.

Na prova confirmatória dos coliformes termotolerantes (45°C), dos tubos positivos no caldo LST foram retiradas alíquotas com a ajuda de alças de Níquel-Cromo, transferidas para o caldo EC (Difco) e incubados em banho-maria a 45°C por 48 horas (Figura 2.6b).

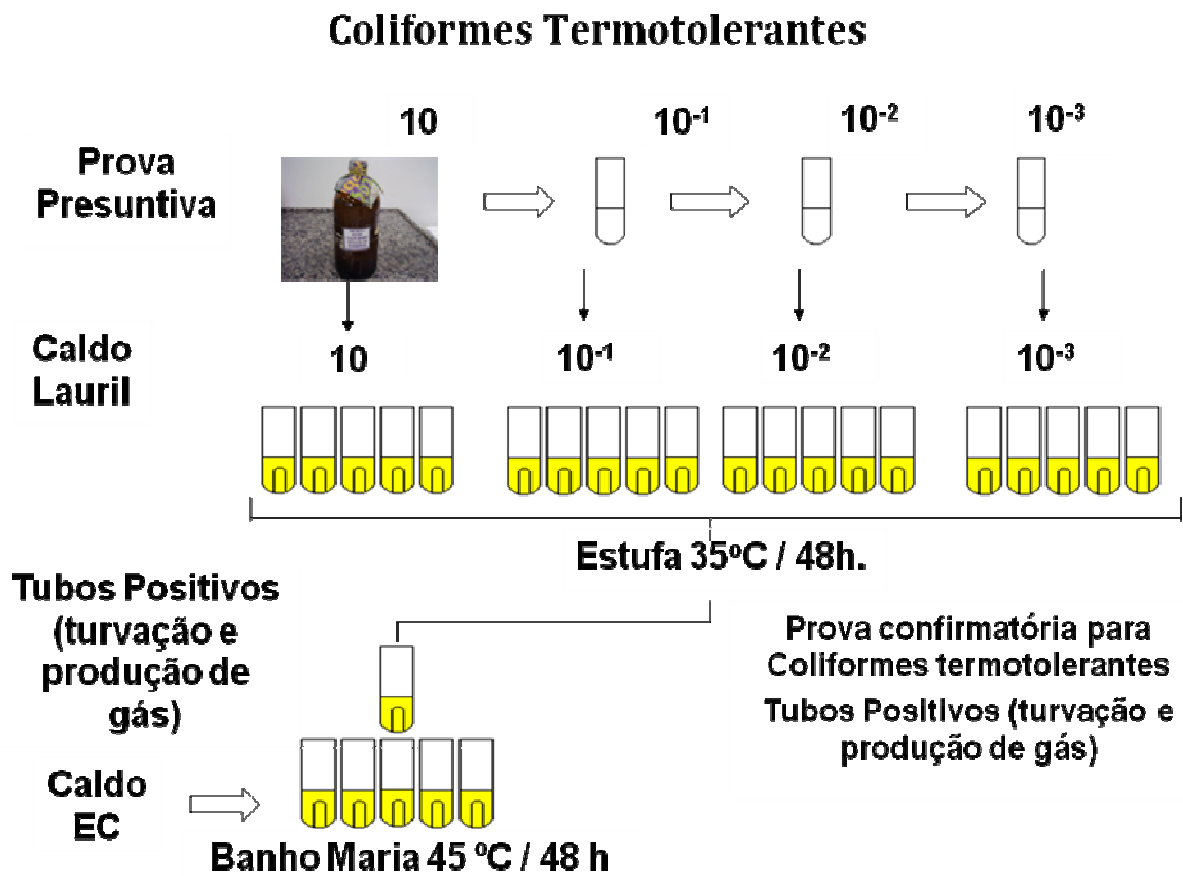


Figura 2.5 - Esquema para análise de coliformes termotolerantes (45°C) em amostras de água do estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE.



Figura 2.6 - Avaliação da qualidade da água. (a) Garrafa contendo água para o teste; (b) Banho-maria utilizado para o teste.

3.3.2. Análise de *Tagelus plebeius*

Foram pesadas, assepticamente, alíquotas de 12,5 g da amostra (músculo e líquido perivisceral do animal) (Figura 2.7) e homogeneizou-se em 112,5 mL de solução salina 0,85% NaCl, seguindo-se a diluição 1:9 (amostra e diluente), utilizando-se um liquidificador doméstico desinfetado. Em seguida, a amostra foi transferida para um Erlenmeyer esterilizado.



Figura 2.7 - Retirada do músculo dos exemplares de *T. plebeius* para pesagem.

Para a colimetria de *Tagelus plebeius*, seguiu-se uma metodologia semelhante a da água (Figura 2.8). Partiu-se da diluição 10^{-1} , seguida das diluições 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} . Foram pipetadas alíquotas de 1 mL das diluições previamente preparadas para uma série de cinco tubos contendo 10 mL do caldo Lauril Sulfato Triptose -LST (Merck) e tubos de Durhan invertidos. Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C por 48 horas.

Após 48 horas, os tubos considerados positivos de cada diluição foram contados e essa contagem anotada.

Para a prova confirmatória dos coliformes termotolerantes (45°C), os tubos positivos no caldo LST foram repicados para o caldo EC (Difco) e incubados em banho-maria a 45°C por 48 horas.

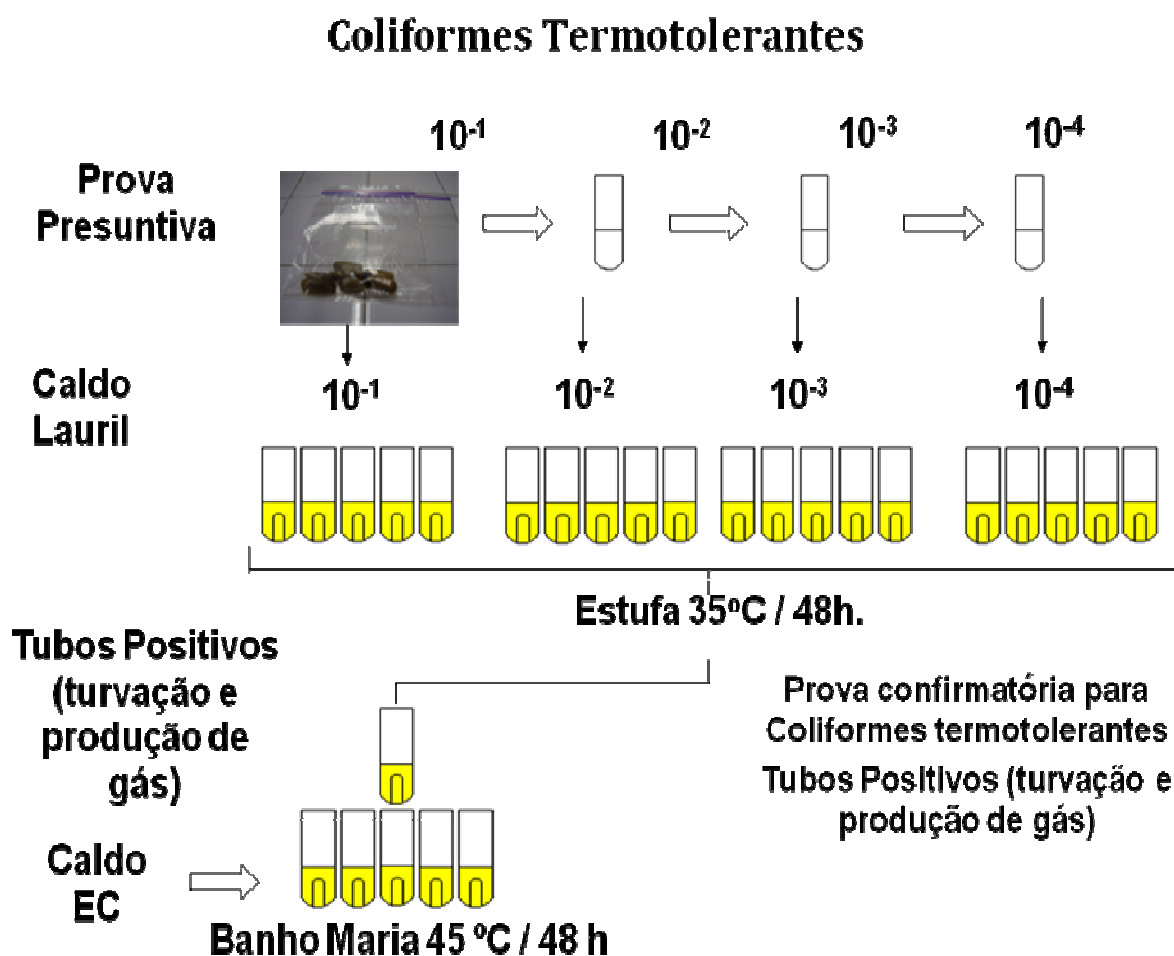


Figura 2.8 - Esquema para análise de coliformes termotolerantes (45°C) em amostras de *Tagelus plebeius* coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE.

3.4. *Staphylococcus* spp.

3.4.1. Diluição das Amostras

Para avaliar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nos exemplares de *Tagelus plebeius*, foram pesadas assepticamente alíquotas de 12,5 g da amostra (músculo e líquido perivisceral do animal), sendo em seguida maceradas, separadamente, em um gral com auxílio de pistilo esterilizado. Após a pesagem, a amostra foi homogeneizada em 112,5 mL de solução salina 0,85% NaCl a fim de se obter a primeira diluição de 10⁻¹. Partindo-se

da diluição inicial preparou-se uma série de diluições decimais (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}), empregando-se tubos de ensaio contendo 9 mL de solução salina 0, 85% NaCl como diluente (Figura 2.9).

3.4.2. Isolamento e Identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

De cada uma das diluições da amostra examinada transferiu-se 0,1mL para superfície de Ágar Baird-Parker (BP-Merck) em placas, na qual, previamente, adicionou-se solução de gema de ovo e Telurito de Potássio 1%. Em seguida, o inóculo foi espalhado por toda a superfície do meio, com o auxílio de alça de Drigalsky e as placas, em duplicata, foram incubadas invertidas a 35°C por 48 horas. Após o período de incubação, as placas foram levadas para um contador de colônias onde se procedeu a contagem do número de colônias que apresentavam características típicas (coloração negra brilhante, apresentando zona de precipitação em torno de sua borda e circundada por um halo claro) ou atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes, sem halo ou com apenas um dos halos). Foram selecionadas as placas que continham entre 20 e 200 colônias. As colônias suspeitas foram contadas, sendo 3 a 5 colônias isoladas e transferidas para tubos de ensaio contendo “Brain Heart Infusion” (Caldo Infusão de Cérebro e Coração- BHI) e inoculados com uma alçada desta suspensão contendo Ágar Trypticase Soja (TSA-Difco) inclinado.

As colônias crescidas em caldo BHI foram repicadas em tubos de TSA inclinados e incubadas por 35°C por 24h. Após esse período, os tubos foram conservados a 23°C, em estufa B.O.D (modelo 347 Fanem, Brasil) até as cepas, já purificadas, serem submetidas à prova bioquímica de coagulase.

3.4.3. Prova de Coagulase

Após o período de 24h, foi realizada a prova confirmatória de coagulase, transferindo-se 0,3 mL de plasma de coelho com EDTA reidratado para cada tubo de ensaio com BHI, seguindo-se a incubação em estufa bacteriológica a 35°C e observação da formação dos coágulos por 6h. Foi considerado positivo, um coágulo firme e compacto que não se desprendia quando o tubo era inclinado ou invertido.

3.4.4. Cálculo das Contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva

A partir do número de colônias típicas contadas, das diluições inoculadas e da percentagem de colônias confirmadas, procederam-se os cálculos da seguinte maneira: multiplicou-se o número de colônias típicas apresentadas na placa, pelo inverso da diluição, pelo percentual das cepas confirmadas e pela quantidade do inóculo (SILVA et al., 1997).

Ex: Colônias típicas = 30

Diluição = 10^{-2}

Col. Submetidas à confirmação = 5

Col. Confirmadas = 3 (60%)

Inóculo = 0,1 mL

$\text{UFC/g} = 30 \times 100 \times 0,6 \times 0,1 \Rightarrow 180 \Rightarrow 1,8 \times 10^2$ UFC em 0,1mL do inóculo. Então, em 1 mL vai ter $1,8 \times 10^2 \times 10 = 1800$ UFC/g do molusco.

***Staphylococcus* coagulase positiva**

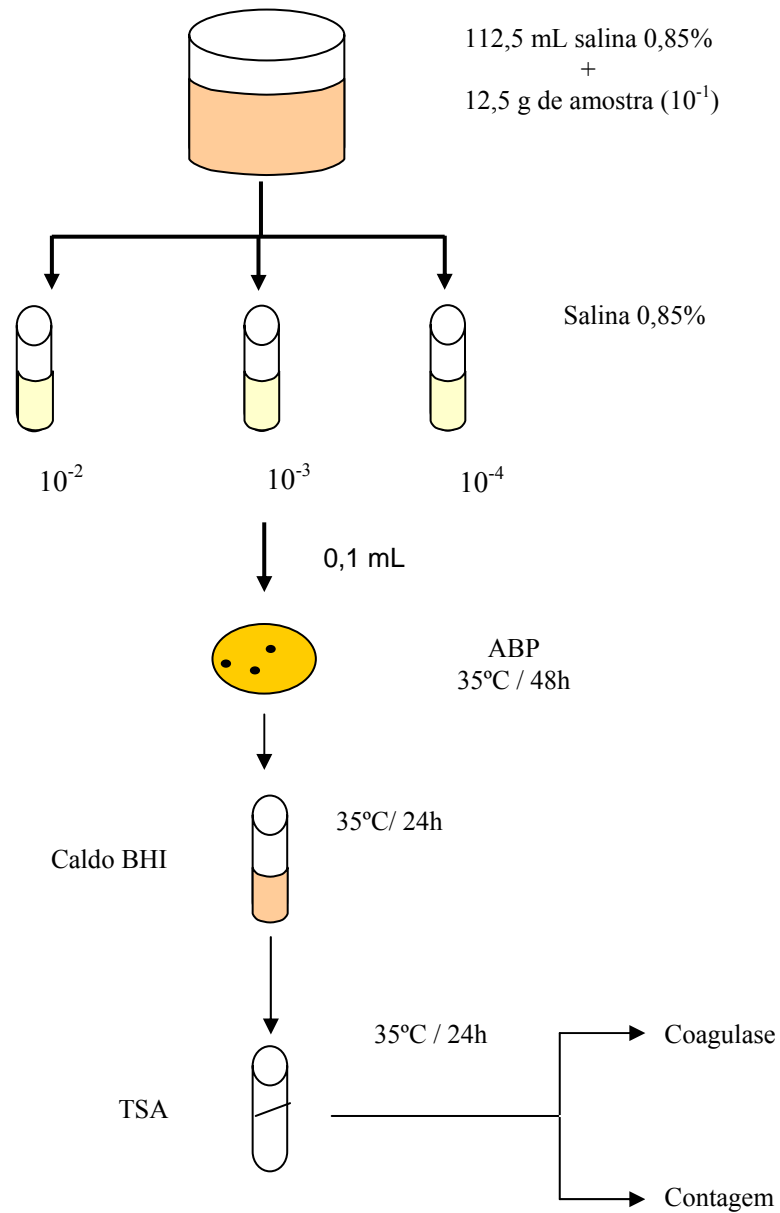


Figura 2.9 - Fluxograma de identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva a partir de amostras de *Tagelus plebeius* coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza, CE. (Modificado de SILVA, 2006).

3.5. *Salmonella* spp.

Para a avaliação da presença de *Salmonella* spp. nos exemplares de *Tagelus plebeius* foi utilizada a metodologia internacionalmente reconhecida, descrita pela Food and Drug Administration (FDA – USA), publicada no Bacteriological Analytical Manual (BAM).

3.5.1. Pré-enriquecimento

Assepticamente, foram retiradas 12,5 g da amostra (músculo e líquido perivisceral do animal), maceradas com um pistilo e transferidas para um Erlenmeyer esterilizado contendo 112,5 mL de caldo Lactosado (CL), homogeneizado e incubado em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

3.5.2. Meio de enriquecimento

Decorrido este período, alíquotas de 1 mL da diluição inicial foram inoculadas em 10 mL do caldo Tetrionato (TT- Difco) (43°C por 24 horas) e 0,1 mL foram inoculadas em 10 mL do caldo Rappaport-Vassiliads (RV-Difco) (42°C por 24 horas), ambos incubados em banho-maria (Figura 2.10).



Figura 2.10 - Caldo Tetrionato e Caldo Rappaport-Vassiliads incubados em banho-maria.

A partir desses meios de enriquecimento seletivo, com crescimento microbiano em ambos os tubos, foi estriada uma alçada (alça de Níquel-Cromo) de cada cultura em placas de ágar entérico de Hektoen (HE- Merck), ágar McConkey (Difco) e ágar Verde Brillante (AVB), seguidos de incubação em estufa bacteriológica a 35°C por 24 horas.

As colônias características de *Salmonella* spp. nas placas de ágar entérico Hektoen (HE), ágar McConkey e ágar Verde Brillante (AVB) (Figura 2.11) foram isoladas e passadas para tubos contendo ágar Trypticase Soja (TSA) inclinado.

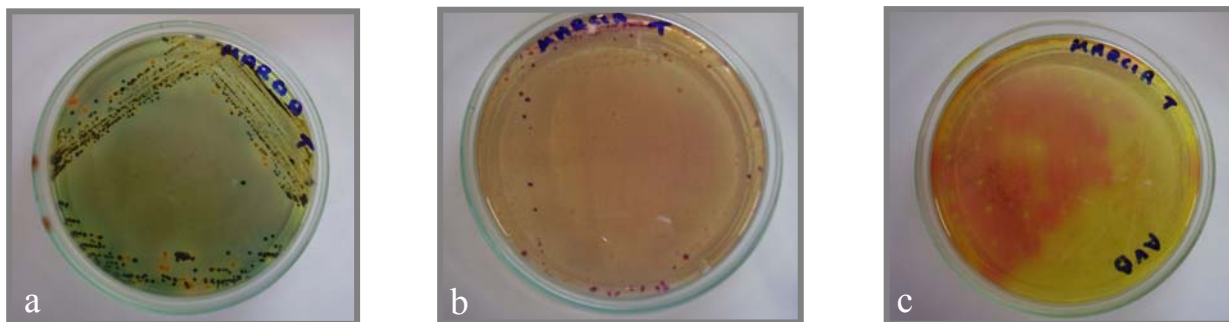


Figura 2.11 - Colônias características de *Salmonella* spp. em placas. (a) Ágar entérico de Hektoen; (b) Ágar McConkey; (c) Ágar Verde Brillante.

3.5.3. Provas Bioquímicas

Para as provas bioquímicas de triagem, foram transferidas as colônias suspeitas de cada placa para tubos inclinados contendo ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) e ágar Lisina Ferro (LIA) e incubados a 35°C por 24 horas.

Para o ágar TSI a reação presuntiva esperada para *Salmonella* spp. é uma rampa alcalina ou inalterada, com base amarela ou negra, com ou sem formação de gás; para o ágar LIA, a rampa é violeta ou negra. Para as provas complementares, a partir de colônias crescidas em ágar BHI (Brain Heart Infusion), no qual foram inoculadas as colônias com as respostas esperadas de *Salmonella* spp. em ágar TSI e ágar LIA, foram feitos outros testes como utilização de caldo Malonato e ágar Citrato de Simmons, Meio Sulfeto Indol Motilidade (SIM), Voges-Proskauer (VP) e Meio de Costa e Vernin (CV) (Figura 2.12).



Figura 2.12 - Tubos de ensaio contendo os meios Malonato, SIM, LIA e TSI antes de serem inoculados com as amostras de *Tagelus plebeius*.

Para o caldo Malonato a alteração para azul indica alcalinização do meio após utilização do malonato (Figura 2.13a). Para o ágar Citrato de Simmons a alteração para azul indica alcalinização do meio após a utilização do citrato. Para o meio SIM a motilidade é caracterizada pela difusão do crescimento por todo o meio. A produção de H₂S é caracterizada pelo enegrecimento do meio (Figura 2.13b).

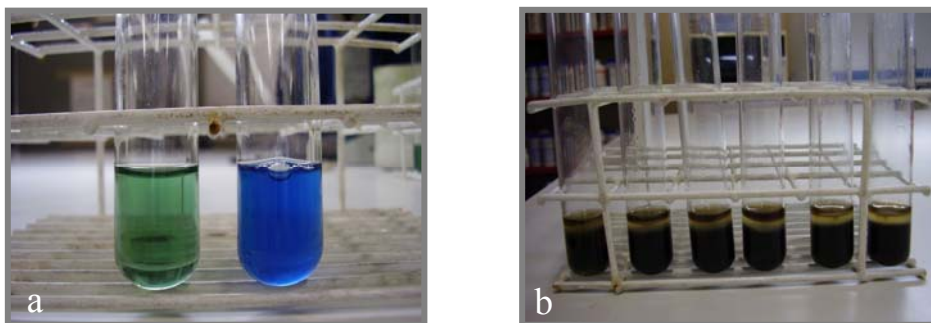


Figura 2.13 - Tubos de ensaio contendo meios seletivos-indicadores. (a) Reação positiva e negativa para o caldo Malonato; (b) Reação positiva para o meio SIM.

Após a leitura da motilidade e da produção de H₂S foram adicionadas algumas gotas de reativo de Kovacs, para verificação de indol, através da formação de um anel vermelho. Para a leitura da reação de VP, foi feita a adição de 0,6 mL da solução de Barrit I (α -naftol) e 0,2 mL solução de Barrit II (KOH 40%). A viragem de coloração para rosa escuro indicou reação positiva.

3.5.4. Confirmação Preliminar das Colônias de *Salmonella* spp.

As colônias que apresentavam crescimento característico de *Salmonella* spp. no meio ágar Hecktoen (colônias enegrecidas com ou sem H₂S) foram isoladas em Ágar Triptona Soja (TSA - Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas.

Depois deste período, as culturas puras foram inoculadas em ágar Ferro Açúcar Triplo (TSI-Difco) e em ágar Lisina Ferro (LIA - Difco) e incubadas a 37°C por 24 horas. A partir do crescimento positivo nos tubos (ácido na base e alcalino no ápice para o meio ágar TSI, e alcalino, com ou sem produção de H₂S para o meio ágar LIA), uma nova alíquota era retirada e semeada em TSA, para teste de sorologia posterior (Tabela 2.2 e Figuras 2.14a e 2.14b).

Tabela 2.2 - Reações típicas e atípicas de *Salmonella* spp. nos meios ágar TSI e LIA.

	Reação Típica		Reação Atípica	
	TSI	LIA	TSI	LIA
Rampa	alcalina (vermelha)	alcalina (púrpura)	ácida (amarela)	alcalina
Fundo	ácido (amarelo)	alcalino (púrpura)	ácido (amarelo)	amarelado
Produção (H ₂ S)	com ou sem escurecimento	com ou sem escurecimento	com ou sem escurecimento	com ou sem escurecimento

Fonte: Vieira (2004)

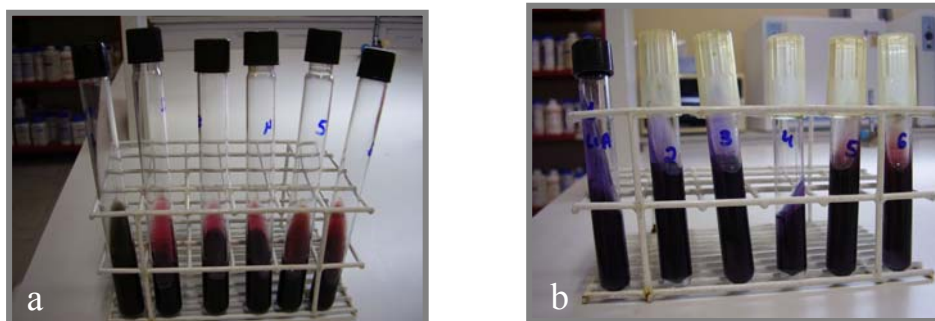


Figura 2.14 - Tubos característicos de *Salmonella* nas amostras de *Tagelus plebeius* coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza – CE, nos meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007. (a) Meio ágar TSI; (b) Meio ágar LIA.

3.5.5. Sorologia

Para o teste de soroaglutinação rápida, as cepas isoladas foram semeadas em ágar TSA inclinado e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi preparada uma suspensão adicionando-se solução salina 0, 85%, sendo a mesma homogeneizada. Em uma lâmina de vidro, foram adicionadas algumas gotas de anti-soro polivalente (O:H) e uma gota da suspensão bacteriana, homogeneizando com o auxílio de uma alça de Níquel-Cromo. Em seguida, foram feitos movimentos rotatórios para observar até o período de um minuto em caixa de Huddleson a presença de aglutinação (grumos finos - somática e grumos espessos – aglutinação flagelar) (Figuras 2.15a e 2.15b).

As cepas que aglutinavam no antissoro O:H polivalente, eram consideradas como pertencentes ao gênero *Salmonella*. As mesmas foram encaminhadas ao Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ – RJ, para identificação do

sorogrupo e do sorotipo (sorovares). A Figura 2.16 mostra a metodologia completa para a identificação de *Salmonella* spp.

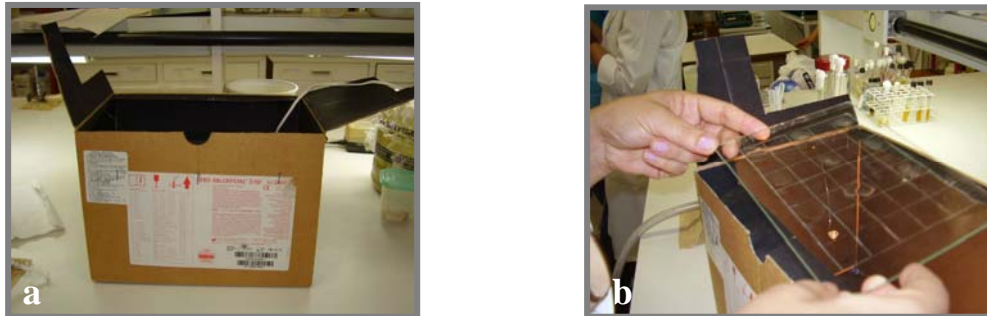


Figura 2.15 - Teste de soroaglutinação rápida para *Salmonella* spp. (a) Caixa de Huddleson utilizada para o teste; (b) Movimentos rotatórios com lâmina de vidro para a observação da presença de aglutinação.

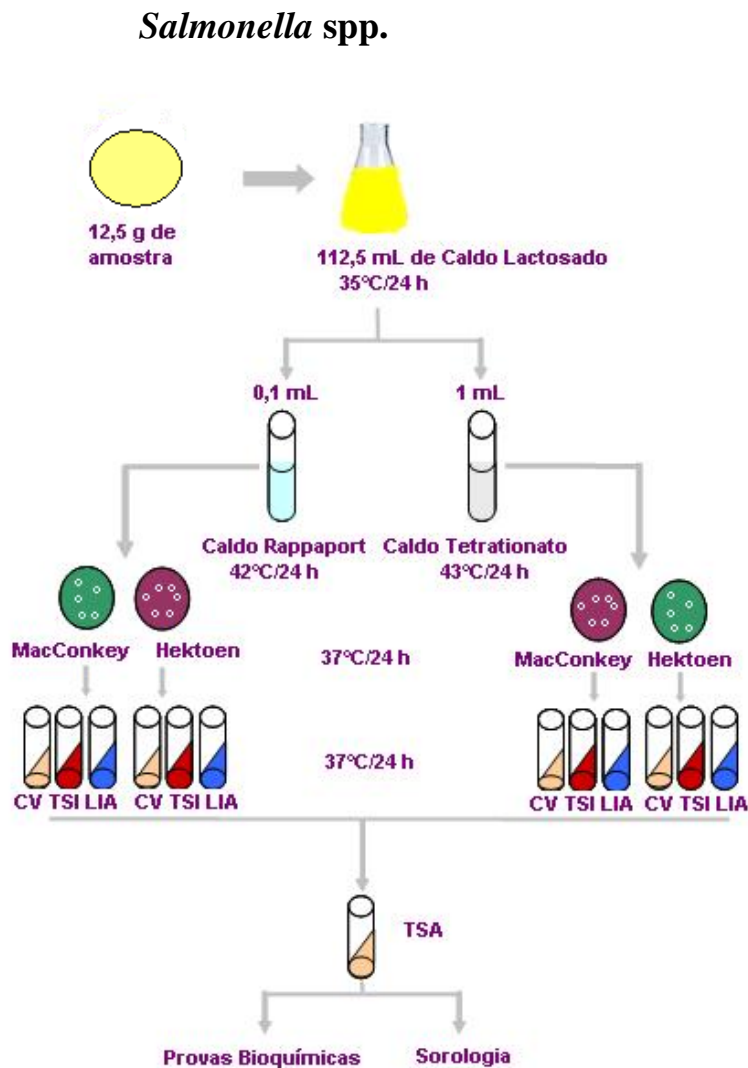


Figura 2.16 - Esquema para identificação de *Salmonella* spp. a partir de isolados de amostras de *Tagelus plebeius* coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza, CE. (Modificado de SILVA, 2006).

4. RESULTADOS

4.1. Coliformes Termotolerantes (45°C)

O Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C) nas amostras de água variou de 320 a 4.800 NMP/100 mL, enquanto no animal variou de 230 a 1.700 NMP/g. Os valores são mostrados na Tabela 2.3 e nas Figuras 2.17 e 2.18.

Tabela 2.3 - Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL e g em amostras de água e de *Tagelus plebeius*, coletadas no estuário do Rio Ceará durante os meses de novembro e dezembro/2006 (estação seca) e março e abril/2007 (estação chuvosa).

ESTAÇÕES		
AMOSTRAS	Seca	Chuvosa
NMP/100 mL		
Água	790	3.300
	320	4.800
NMP/g		
<i>T. plebeius</i>	230	1.700
	280	460

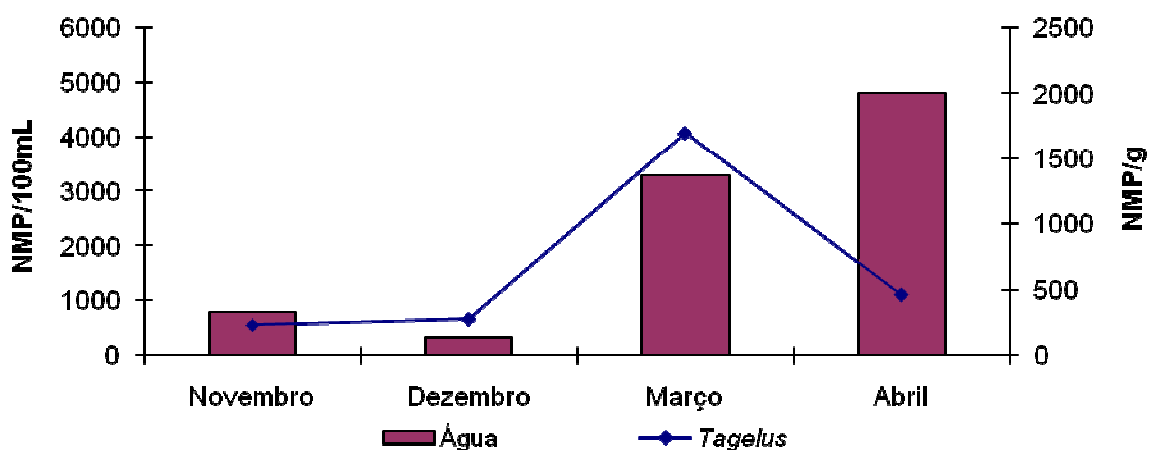


Figura 2.17 - Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL e g, em amostras de água e de *T. plebeius*, coletadas no estuário do Rio Ceará durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.

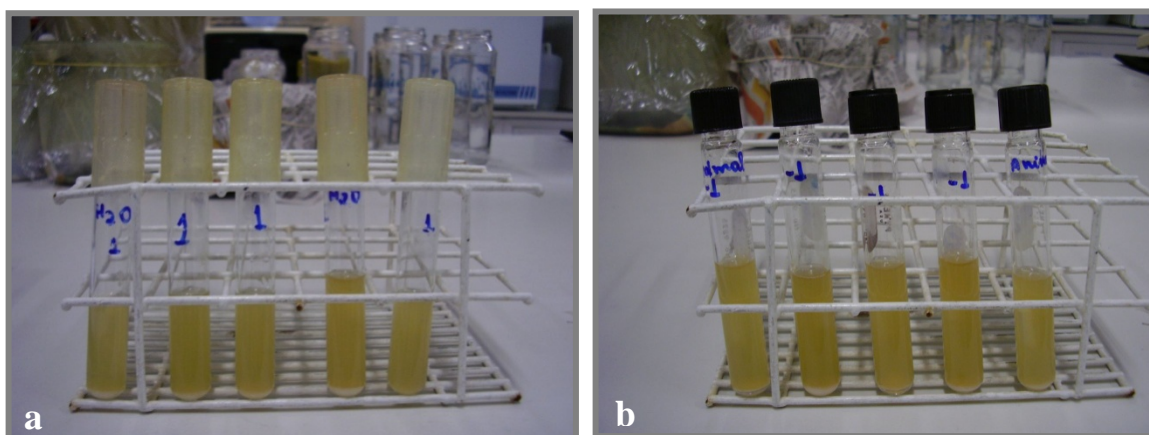


Figura 2.18 - Colimetria das amostras de água (a) e de *Tagelus plebeius* (b) coletadas no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.

As amostras de água apresentaram valores significativos para o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL, principalmente na estação chuvosa, bem como os valores de NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/g nas amostras de *Tagelus plebeius*.

Os valores médios para a temperatura da água nesta pesquisa foram de 29°C nos meses de novembro/2006 e março/2007 e de 28°C nos meses de dezembro/2006 e abril/2007.

Os níveis de salinidade foram elevados durante as duas primeiras amostragens (período seco), regredindo nas duas últimas coletas (período chuvoso), variando de 5 a 40 durante o período amostrado (Tabela 2.4).

A precipitação mensal observada para o município de Fortaleza – CE, durante o período de estudo ficou entre 2,7 mm (novembro/2006) e 335,5 mm (março/2007).

Na Tabela 2.5, são mostrados os valores de correlação entre as variáveis ambientais atuantes na área de estudo (salinidade, temperatura, precipitação e teor de matéria orgânica) e o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL e g nas amostras analisadas. Dentre as variáveis ambientais analisadas, a salinidade mostrou uma correlação negativa elevada com o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/ mL e g nas amostras de água ($r = -0,80$, $p = 0,20$) e dos tecidos de *T. plebeius* ($r = -0,80$, $p = 0,20$), entretanto, estas correlações não foram significativas. A temperatura do ar também mostrou elevada correlação negativa com o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/g nas amostras de *Tagelus plebeius* analisadas ($r = -0,73$, $p = 0,26$). A temperatura do sedimento também apresentou uma correlação negativa elevada com o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/ mL nas amostras de água analisadas ($r = -0,77$, $p = 0,22$).

Tabela 2.4 - Coletas de *Tagelus plebeius* realizadas no estuário do Rio Ceará, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007 e dados das condições ambientais observadas no local.

Coleta	Nível da Maré	Salinidade	Precipitação mensal observada (mm)	Temperatura média mensal (°C)		
				Ar	Água	Sedimento
Nov/06	0.2	40	2,7	30	29	30
Dez/06	0.4	38	11,5	31	28	30
Mar/07	0.0	31	335,5	29	29	30
Abr/07	0.5	5	226,0	29	28	28

Tabela 2.5 - Correlação entre as variáveis ambientais e o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL ou g nas amostras de água e de *Tagelus plebeius*, coletadas no estuário do Rio Ceará, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007 (*valores elevados, mas não significativos).

Amostras x Variáveis	r	p
Água (NMP/100 mL) x Salinidade*	-0,80	0,20
Água (NMP/100 mL) x Precipitação	0,60	0,40
Água (NMP/100 mL) x Temp. água	0,00	1,00
Água (NMP/100 mL) x Temp. ar*	-0,94	0,05
Água(NMP/100 mL) x Temp. sedimento*	-0,77	0,22
<i>T. plebeius</i> (NMP/g) x Água (NMP/100 mL)	0,60	0,40
<i>T. plebeius</i> (NMP/g) x Salinidade*	-0,80	0,20
<i>T. plebeius</i> (NMP/g) x Temp. ar*	-0,73	0,26
<i>T. plebeius</i> (NMP/g) x Matéria orgânica	0,60	0,40

4.2. *Staphylococcus* coagulase positiva

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi detectada nas amostras de *Tagelus plebeius* analisadas, conforme mostra a Tabela 2.6.

Tabela 2.6 - *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC/g) nos exemplares de *Tagelus plebeius*, coletados no estuário do Rio Ceará, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.

Amostras	Coleta	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (UFC/g)
<i>Tagelus plebeius</i>	Nov/06	<10
	Dez/06	< 10
	Mar/07	< 10
	Abr/07	< 10

4.3. *Salmonella* spp.

Das amostras de *Tagelus plebeius* analisadas, 22 cepas suspeitas de *Salmonella* foram submetidas às provas bioquímicas (TSI, LIA, Citrato, SIM, Malonato, VP e CV). Destas, 11 cepas (50%) foram confirmadas através do teste de sorologia com o anti-soro polivalente O:H (Figura 2.19), sendo as mesmas encaminhadas ao Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ – RJ, para identificação dos sorovares. A presença de *Salmonella* foi confirmada em todas as amostras, durante os quatro meses de coleta do presente estudo.

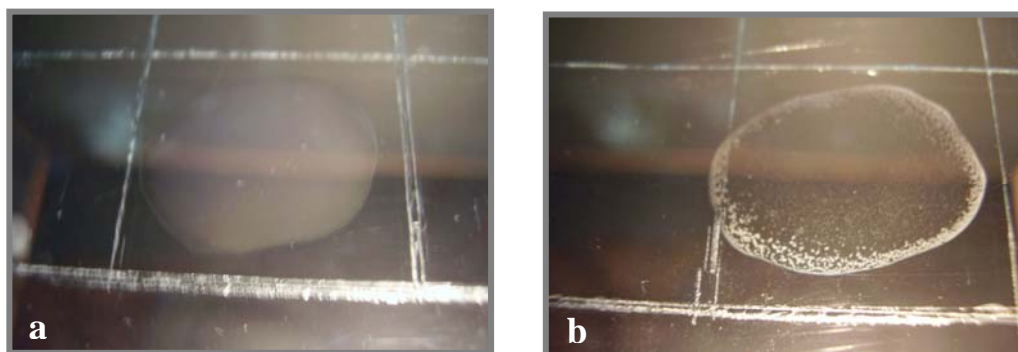


Figura 2.19 - Soroaglutinação rápida dos isolados de *Salmonella* spp. de *Tagelus plebeius*. (a) Soroaglutinação negativa; (b) Soroaglutinação positiva.

Nas amostragens do período seco (novembro e dezembro/2006), das quatorze cepas suspeitas, oito (57,1%) foram confirmadas. No período chuvoso (março e abril/2007), das oito cepas suspeitas, quatro (50%) foram confirmadas como pertencentes ao gênero *Salmonella*.

Dentre as cepas de *Salmonella* isoladas de *Tagelus plebeius* foram identificados três (3) sorovares (*S. Bredeney*, *S. London* e *S. Muenchen*) e uma (1) cepa foi classificada até subespécie: *S. enterica* subesp. *enterica* (Figura 2.20).

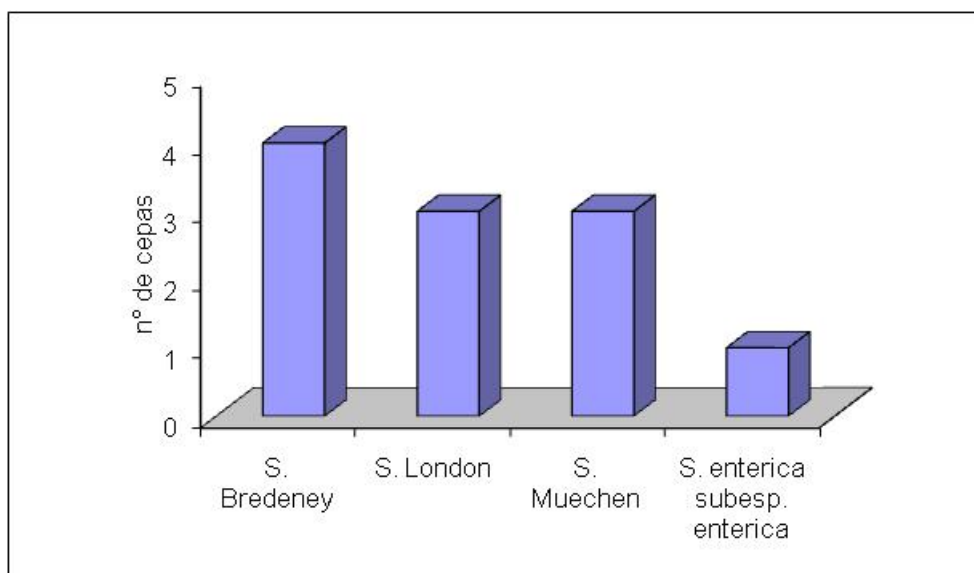


Figura 2.20 - Sorovares do gênero *Salmonella*, isolados das amostras de *Tagelus plebeius*, coletadas no estuário do Rio Ceará, durante os meses de novembro e dezembro/2006 e março e abril/2007.

5. DISCUSSÃO

5.1. Coliformes Termotolerantes (45°C)

As águas são um veículo importante na transmissão de doenças quando contaminadas por esgotos domésticos, pois possuem elevado número de microrganismos. Conseqüentemente, os bivalves que nelas habitam podem ser facilmente afetados por diversos patógenos (LOGULLO, 2005). Nesse caso, esses organismos podem se tornar agentes transmissores, afetando a saúde de quem os consome.

A Resolução n° 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente – CONAMA determina que para o cultivo de bivalves destinados à alimentação humana, a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes (45°C) seja de um mínimo de 15 amostras coletadas no mesmo local, não excedendo a 43/100 mL. No presente estudo, não foi possível adotar este padrão e nem também pôde ser calculada a média geométrica da densidade de coliformes termotolerantes (45°C), como determina a referida Resolução, devido ao fato do número de amostragens ter sido menor do que o exigido.

Porém, nas amostras de água analisadas, os valores obtidos para o Número Mais Provável (NMP) de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL, principalmente na estação chuvosa, se comparados ao número exigido pela legislação vigente, podem indicar uma considerável contaminação.

Para as amostras de *Tagelus plebeius*, os valores do NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/g também se mantiveram elevados no mesmo período chuvoso, se comparados aos outros meses da presente pesquisa.

A análise estatística revelou uma correlação elevada, embora não significativa, entre o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL da água e o NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/g do molusco. Portanto, é provável que não exista uma real simultaneidade entre a amostra de água e a amostra do bivalve. Segundo Mendes (2001), a água fornece resultados da massa d'água no momento da coleta, enquanto que a amostra dos moluscos corresponde à integração total ou parcial destes organismos às características microbiológicas e ambientais de massas d'água que se sucederam antes da coleta. Vale ainda ressaltar que fatores como a resistência bacteriana à degradação enzimática e a adaptação ao meio, são, possivelmente, essenciais para a seleção bacteriana pelos bivalves.

Segundo a Resolução n° 274 (CONAMA/2000), para os valores de salinidade encontrados no presente estudo, a água do estuário do Rio Ceará estaria classificada como salobra (0,5 a 30), porém, mostrando-se salina (> 30) em alguns meses do ano, já que os valores variaram de 5 a 40 durante o período amostrado. Como a salinidade é um fator relevante em áreas estuarinas, variando diariamente com as marés, mudanças drásticas podem ocorrer durante as estações do ano (ESCOUTO, 1996). A ampla variação encontrada para essa variável ambiental confirma que os valores maiores coincidem com os menores índices pluviométricos (estação seca) e os valores menores aconteceram no período de alta precipitação (estação chuvosa).

Os elevados valores de NMP de coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL obtidos para as amostras de água, principalmente na estação chuvosa, sugerem que a contaminação bacteriológica relacionada aos fatores abióticos atuantes na área de estudo, como a precipitação pluviométrica, as marés, a salinidade e a temperatura, pode influenciar diferentemente nos níveis de bactérias entéricas no ambiente aquático, pois com o aumento das chuvas ocorre uma diminuição da salinidade da água, resultando diretamente na dispersão de partículas. Nos meses da estação chuvosa, as precipitações mensais observadas para a área de estudo (335,5 e 226,0 mm) possivelmente influenciaram nessa contaminação. Esse fenômeno já foi constatado em outras pesquisas, como a de Mendes (2001), que avaliou os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos das amostras de água provenientes do Canal de Santa Cruz/Itapissuma-PE e verificou que a sazonalidade influenciou no NMP de vibrios e de coliformes totais e termotolerantes.

Atayde (2007) avaliou a qualidade microbiológica da água do cultivo de ostras no estuário do Rio Pacoti, bem como a destes bivalves, em relação aos coliformes totais e termotolerantes. Segundo a autora, as amostras de água analisadas estavam dentro dos limites permitidos pela legislação em vigor e o molusco apto para o consumo. O maior valor encontrado de coliformes na água do cultivo coincidiu com o dia em que ocorreu precipitação, comprovando a interferência da chuva no índice da qualidade microbiológica da água.

Resultados diferentes foram encontrados por Barros et al. (2005) ao estimarem o NMP de coliformes termotolerantes e de *Vibrio* em amostras de ostras *Crassostrea rhizophorae*, comercializadas em duas barracas da Praia do Futuro, em Fortaleza – CE. Pelo elevado índice de *Vibrio* detectado nas amostras analisadas e pelos altos valores de coliformes

termotolerantes apresentados, o consumo dessas ostras *in natura* não se mostrou recomendável, sendo consideradas prejudiciais à saúde do consumidor.

Baldez et al. (2003) detectaram altos índices de contaminação por coliformes termotolerantes (100%) em amostras de sururu (*Mytella falcata*) comercializadas em uma feira do município de São Luís – MA, avaliando este bivalve como sendo também de potencial risco à saúde do consumidor por apresentar baixa qualidade higiênico-sanitária.

Barreto et al. (2006) observaram que tanto na contagem de coliformes totais quanto de termotolerantes, *Tagelus plebeius* apresentou número superior ao encontrado em *Crassostrea rhizophorae*, no Rio Cachoeira e Rio Santana, ambos em Ilhéus – BA. Porém, todas as amostras de água e bivalves analisados, apresentaram contagens de coliformes totais e termotolerantes dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, sendo compatíveis para o cultivo.

Ainda no Estado da Bahia, Wetler et al. (2005) avaliaram a presença e o NMP/g de coliformes termotolerantes e totais nos exemplares de *Tagelus plebeius* coletados no Rio Cachoeira. Segundo os autores, as amostras analisadas encontravam-se dentro dos níveis aceitáveis para o consumo humano *in natura*. No entanto, quando comparado às exigências impostas nos estados da Comunidade Européia, listadas na Diretiva do Conselho de 15 de julho de 1991 (91/492/CEE), estes valores ficam muito acima do valor máximo permitido (3 coliformes termotolerantes por grama de molusco cru). Os valores do NMP/g para coliformes termotolerantes (45°C) obtidos para os exemplares de *Tagelus plebeius* provenientes do estuário do Rio Ceará também se classificariam da mesma maneira, já que a RDC n° 12/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), no item 7 (pescados e produtos de pesca), alínea a, não regula coliformes termotolerantes (45°C) para os moluscos bivalves *in natura*, resfriados ou congelados, não consumidos crus.

No presente estudo, o aumento da contaminação por coliformes termotolerantes nas amostras de água e de *T. plebeius* verificado na estação chuvosa, pode estar relacionado aos efeitos da sazonalidade sobre a sua contaminação. Em períodos de chuvas intensas, o fluxo de efluentes despejados na água é maior, resultando em um maior aporte de água doce ao rio, com uma conseqüente diminuição da salinidade associada a uma maior contaminação bacteriológica.

A elevada correlação entre a salinidade e as amostras analisadas na presente pesquisa, embora não significativa, se comparada às outras variáveis ambientais atuantes na área de

estudo, também está relacionada, embora inversamente, aos valores de precipitação pluviométrica observados, corroborando resultados semelhantes encontrados por Galvão (2004) em uma pesquisa com a água de cultivo do bivalve *Perna perna*, no município de Ubatuba – SP, em que o índice pluviométrico interferiu no aumento da contagem microbiana nesta água.

Vieira et al. (2007) quantificaram *Vibrio*, coliformes totais e termotolerantes, através do NMP em amostras de água e ostras provenientes do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim – CE, revelando concentrações significativamente maiores nas ostras para as duas análises, confirmando o potencial acumulador desses organismos.

Resultados semelhantes foram encontrados na pesquisa de Galvão (2004) realizada em Ubatuba - SP, em que a contagem de coliformes termotolerantes encontrada por esta autora foi maior em mexilhões *Perna perna* do que na água de cultivo. Mendes (2001) também verificou que a contaminação nas ostras utilizadas em seu estudo foi maior do que na água. Estes resultados diferem dos obtidos no presente estudo, cujo valor do NMP para coliformes termotolerantes (45°C)/g nas amostras de *Tagelus plebeius* foram menores que os da água do estuário do Rio Ceará, nos quatro meses analisados.

A metodologia para a análise de coliformes termotolerantes (45°C), empregada no presente estudo, utilizando um único valor de NMP para cada amostra observada e desconsiderando réplicas para os testes de correlação, aliada ao insuficiente número de amostragem, pode ter sido uma das causas influenciadoras das baixas significâncias nas correlações estatísticas. Embora esses valores de correlação não tenham mostrado um bom nível de significância ($p < 0,05$), observou-se uma tendência positiva para as relações entre o NMP/100 mL ou g das amostras de água e de *Tagelus plebeius* e as variáveis ambientais atuantes no local de estudo.

5.2. *Staphylococcus* coagulase positiva

A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva não foi detectada no presente estudo.

A Resolução RDC nº 12/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001) estipula que o limite máximo para a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos consumidos crus seja de 5×10^3 UFC/g. Segundo esta

Resolução, a enumeração dessa bactéria tem por objetivo substituir a determinação de *Staphylococcus aureus*.

Embora a atual legislação para alimentos (ANVISA/2001) abranja somente *Staphylococcus* coagulase positiva (teste da coagulase), existem cepas de *S. coagulase* negativa (ECN) que também são patogênicas ao homem. Em humanos, é sabido que doses ínfimas da chamada enterotoxina estafilocócica já são suficientes para desencadear sintomas (PEREIRA, 2005). Pesquisas no Brasil e no exterior comprovaram que há espécies de *S. coagulase* positiva que não produzem toxina, assim como há espécies coagulase negativas produtoras. Já foram relatados surtos causados por *Staphylococcus cohnii*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* e *S. xylosum*, espécies coagulase negativas (BAUTISTA et al., 1988).

De acordo com Cunha et al. (2002), durante a última década, devido ao progresso na classificação sistemática dos estafilococos e ao desenvolvimento de métodos para a identificação dos mesmos, *S. coagulase* negativa (ECN) são considerados como agentes etiológicos de muitos processos infecciosos estudados pela Microbiologia Clínica. Atualmente, são reconhecidos como essencialmente oportunistas, que se prevalecem de inúmeras situações orgânicas. Porém, os fatores de virulência presentes nos ECN não estão claramente estabelecidos como em *S. aureus* (TERASAWA, 2006).

5.3. *Salmonella* spp.

A presença de *Salmonella* em 50% das amostras de *T. plebeius* é preocupante, já que a legislação vigente impõe ausência total dessa bactéria para qualquer amostra aleatória de 25 g (BRASIL, 2001). Nesse caso, o molusco estudado não estaria apto para o consumo, já que no presente estudo esta bactéria foi detectada.

Resultados semelhantes foram encontrados por Galvão (2004) ao detectar a presença de *Salmonella* spp. nas amostras de mexilhões *Perna perna* comercializadas em Ubatuba - SP, sugerindo que medidas preventivas devem ser tomadas, pois indicam um risco em potencial para os consumidores. Mendes (2001) também constatou a presença de *Salmonella* spp. em amostras de ostras provenientes do Canal de Santa Cruz/Itapissuna - PE.

Furlan (2004) caracterizou, sob os aspectos físico-químicos e microbiológicos, os mexilhões *Perna perna*, cultivados e comercializados em Ubatuba -SP, visando a segurança

do consumidor, encontrando resultados positivos para *Salmonella* spp. em 6,7 % das amostras analisadas.

Logullo (2005), em um estudo com a ostra *Crassostrea gigas* proveniente de duas fazendas marinhas, detectou a presença de *Salmonella* spp. em três amostras analisadas.

Valores semelhantes foram obtidos por Silva et al. (2003), ao investigarem a presença de *Salmonella* em ostras *Crassostrea rhizophorae* originárias de um criadouro natural no estuário do Rio Cocó, em Fortaleza – CE. Na referida pesquisa, a presença da bactéria foi confirmada em 21 (70%) das 30 amostras analisadas, sendo consideradas, portanto, impróprias para o consumo humano.

Os resultados da presente pesquisa diferem dos obtidos por Fontanez-Barris (2005) que, avaliando as condições microbiológicas dos bivalves *Crassostrea rhizophorae* e *Lucina pectinata* em Porto Rico, não detectou a presença de *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras analisadas. Porém, a autora sugere em seu estudo que essa bactéria poderia estar presente nas amostras em níveis tão baixos que o método utilizado para a análise (metodologia estabelecida no *Bacteriological Analytical Manual* - BAM) não conseguiu detectar. Foi comprovado que diversas cepas virulentas de *Salmonella* têm a capacidade de sobreviver por longos períodos em rios, lagos, águas residuais, escoamento de chuvas e em sedimentos, adaptando-se aos mesmos. Assim, a ausência desta bactéria não pode ser interpretada como uma baixa capacidade de sobrevivência da mesma.

Henriques (2004), observando mexilhões *Perna perna* provenientes de bancos naturais da Baixada Santista – SP, também não constatou a presença de *Salmonella* em nenhum mês durante o período de sua pesquisa.

É provável que exista uma relação direta entre os níveis de coliformes termotolerantes e *Salmonella* na carne de bivalves. Galvão (2004) obteve em sua pesquisa resultados que confirmaram esta relação. Em mexilhões cultivados em Ubatuba - SP, a presença de *Salmonella* foi detectada no mês em que o índice de coliformes termotolerantes foi o mais alto dentre as amostras analisadas. Estes resultados diferem dos obtidos por Mendes (2001), em um estudo com ostras provenientes de Itapissuma - PE, uma vez que os três dos quatro isolamentos de *Salmonella* ocorreram quando o nível de coliformes estava baixo.

Em relação aos exemplares de *Tagelus plebeius* provenientes do estuário do Rio Ceará, não foi possível fazer essa relação, pois durante os quatro meses analisados, a presença da referida bactéria foi confirmada.

Os resultados obtidos no presente estudo podem indicar uma possível relação entre a contaminação microbiológica das amostras analisadas e a precipitação pluviométrica observada nos meses de março e abril de 2007 (período chuvoso). Segundo Logullo (2005), a poluição por coliformes termotolerantes pode crescer consideravelmente após chuvas intensas. Em locais onde a renovação das águas é mais lenta, devido à baixa intensidade da corrente marinha, o risco de contaminação aumenta.






Vale ressaltar que a contaminação bacteriológica do ambiente estuarino, principalmente em regiões de alta densidade demográfica, além de colocar em risco a saúde humana, pode causar danos às espécies presentes no habitat, como por exemplo, prejudicar a resistência dos bivalves a fatores abióticos, tais como exposição ao ar e variação da temperatura e salinidade ou fatores bióticos como a predisposição ao parasitismo (HENRIQUES et al., 2003).

Verificou-se neste estudo que as variáveis ambientais, já referidas anteriormente, podem influenciar nos níveis de contaminação microbiológica da água do estuário do Rio Ceará e de *Tagelus plebeius*.

Apesar do presente trabalho se tratar apenas de uma prospecção das condições microbiológicas de *Tagelus plebeius* e da água onde a espécie vive e é capturada, e do fato do referido molusco não ser consumido cru, as análises realizadas procuraram verificar a presença de patógenos nas amostras, bem como em que condições higiênico-sanitárias estariam ambos. No caso do molusco, cuidados devem ser tomados também quanto ao seu armazenamento e a forma de consumo após a sua comercialização *in natura*, pois o mesmo pode posteriormente ser ingerido levemente ou precariamente cozido.

6. CONCLUSÕES

Considerando a análise das condições microbiológicas do molusco bivalve *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786), realizada no estuário do Rio Ceará, em Fortaleza-CE, foi possível concluir que:

-  Há contaminação por coliformes termotolerantes (45°C)/100 mL e g nas amostras da água e do molusco, respectivamente, embora o número de amostras analisadas tenha sido inferior ao exigido pela legislação vigente;
-  Verificou-se contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva em *Tagelus plebeius*;
-  Há contaminação de *Tagelus plebeius* por *Salmonella*;
-  A presença de *Salmonella* nas amostras do molusco é preocupante, já que a legislação impõe ausência obrigatória em 25g de tecido mole na pesquisa dessa bactéria;
-  O aumento da contaminação por coliformes termotolerantes (45°C) na estação chuvosa pode estar relacionado ao aporte de água doce no rio, com uma conseqüente diminuição da salinidade associada a uma maior contaminação bacteriológica.



ABRAHÃO, J. R.; AMARAL, A. C. Z. Tamanho, densidade e distribuição de *Tagelus plebeius* (Veneroidea, Psammobiidae) em uma praia arenosa, São Paulo, Brasil. **Iheringia. Ser. Zool**, Porto Alegre (87): 181-190, nov., 1999.

AGUIAR, J. E. **Geoquímica de metais-traço em sedimentos superficiais nos estuários dos rios Ceará e Pacoti, CE**. 2005. 62f. Monografia (Graduação em Geologia), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

AGUIRRE, M. L., FARINATI, E. A. Taphonomic processes affecting late quaternary molluscs. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, Special Publication (Taphonomy)**, **149** (1-4): 283-304. Amsterdam, 1999.

ALCÂNTARA-FILHO, P. Contribuição ao estudo da biologia e ecologia do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea: Decapoda: Brachyura), no manguezal do Rio Ceará (Brasil). **Arq. Ciên. Mar**, 18(1/2): 1-41, Fortaleza, Ceará, 1978.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA; AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION – AWWA; WATER ENVIRONMENT FEDERAL – WEF. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, D. C.: APHA, 1995.

ARAÚJO, C. M. **Biologia Reprodutiva do Berbigão *Anomalocardia brasiliana* (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) na Reserva Extrativista de Pirajubaé (REMAPI), Estado de Santa Catarina**. 2001. 203f. Dissertação (Doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina, 2001.

ARAÚJO, M. L. R.; ROCHA-BARREIRA, C. A. Distribuição espacial de *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) na Praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Bol. Técn. Cient. CEPENE**, v. 12, n. 1, p. 9-21, 2004.

ARAÚJO, M. L. R. **Ciclo reprodutivo e distribuição populacional de *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia: Veneridae) na praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará**. 2004. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais), Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC), Fortaleza, 2004.

ARAÚJO, M. V.; FREIRE, G. S. S. Análise ambiental da APA do estuário do rio Ceará: Educação Ambiental x Preservação. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS DO MAR, 12., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Associação Brasileira de Oceanografia, 2007. p. 402.

ARAÚJO, M. L. R.; ROCHA-BARREIRA, C. A. Ocorrência de *Bucephalus* sp. (TREMATODA: BUCEPHALIDAE) em *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791) (MOLLUSCA: VENERIDAE) na Praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, v. 37, n. 1, p. 35-37, 2004.

ASSIS, R. C. F. Maturação sexual de *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791) (Mollusca-Bivalvia). **Universitas. Ciência**. Salvador, (34): 77-92, out./dez., 1985.

ATAYDE, M. A. **Bacteriologia da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água do entorno no estuário do Rio Pacoti (Eusébio-Ceará)- Identificação de *Escherichia coli* e sua**

susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. 2007. 35f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

BÁEZ, M.; SEVEREYN, Y. G.; SEVEREYN, H. Ciclo reproductivo de *Geukensia demissa* (Bivalvia: Mytilidae) en la Playa de Nazaret, El Moján, Estado Zulia, Venezuela. **Ciencias Marinas**, vol 31, n° 1A, 111-118, 2005.

BALDEZ, A. M. *et al.* Qualidade higiênico-sanitária da carne de sururu (*Mytella falcata*) pré-cozida e resfriada comercializada em uma feira do município de São Luis – MA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 13., 2003, Porto Seguro/BA, **Anais...** Porto Seguro, 2003.

BARARDI, C. R. M.; SINCERO, T. C. M.; CORREA, A. A. Contaminação de moluscos bivalves por patógenos humanos. In: **Sanidade de organismos aquáticos no Brasil.** SILVA-SOUZA, A. T. (Org). ABRAPOA, Maringá, PR, 2006. 387p.

BARÓN, P. J. *et al.* Morphometry, growth and reproduction of an atlantic population of the razor clam *Ensis macha* (Molina, 1782). **Sci. Mar.**, 68 (2): 211-217, 2004.

BARREIRA, C. A. R.; ARAÚJO, M. L. R. Ciclo Reprodutivo de *Anomalocardia brasiliana* (GMELIN, 1791) (MOLLUSCA: BIVALVIA: VENERIDAE) na Praia do Canto da Barra, Fortim, Ceará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, 31 (1): 9-20, 2005.

BARRETO, L. S. *et al.* Avaliação da qualidade das águas e moluscos dos rios Cachoeira e Santana quanto à presença de bactérias do grupo coliformes totais e fecais. Seminário de Iniciação Científica da UESC, 12, p 208-209, 2006.

BARROS, L. M. O. **Avaliação bacteriológica de ostra, *Crassostrea rhizophorae*, comercializada em Fortaleza – Ceará.** 2004. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais) do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal (LABOMAR/UFC), 2004.

BARROS, L. M. O. *et al.* Contaminante fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, n.3, p. 285-289, 2005.

BAUTISTA, L. *et al.* A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. **Applied and Environmental Microbiology**, Vol. 54, No. 2, p. 566-569, 1988.

BISPO, E. S. *et al.* Aproveitamento industrial de marisco na produção de lingüiça. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 24(4): 664-668, out.- dez. 2004.

BLOOMER, H. H. On the anatomy of *Tagelus gibbus* and *T. divisus*. **Proc. Malacolog. Soc. London**, 7: 218-233, 1907.

BOEHS, G. **Ecologia Populacional, Reprodução e Contribuição em Biomassa de *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) (Bivalvia-Veneridae) na Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil.** 2000. 201f. Tese (Doutorado em Zoologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2000.

BOFFI, A. V. **Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico**. Ed. FAPESP-HUCITEC, São Paulo, 1979. 182p.

BORGES, J. F. **A história negada: em busca de novos caminhos**. Coleção Grandes Textos, Fundação de Apoio Cultural do Piauí-FUNDAPI, Teresina, 2004. 134p.

BORZONE, C. A. *et al.* Aspectos da reprodução e dinâmica populacional de *Chione pubera* (Bory Saint-Vicent) (Bivalvia, Veneridae) no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, 18 (2): 333-349, 2001.

BRASIL. Ministério da Marinha. Diretoria de Hidrologia e Navegação. **Tábuas das Marés**, Rio de Janeiro, 2006.

BRASIL. Ministério da Marinha. Diretoria de Hidrologia e Navegação. **Tábuas das Marés**, Rio de Janeiro, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Legislação**: Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Brasília. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov/legis/resol/1201redc.htm>>. Acesso em: 19/10/2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). **Resoluções**: Resolução nº 20, de 18 de junho de 1986. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res86.html>>. Acesso em: 21/10/2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). **Resoluções**: Resolução nº 274, de 29 de novembro de 2000. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br/Agua/praias/res_conama_274_00.pdf>. Acesso em: 05/05/2007.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA). **Resoluções**: Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.crq4.org.br/downloads/resolucao357.pdf>>. Acesso em: 10/11/2007.

BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2ª edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2007. ISSN 85 277-1258-X.

CARDONHA, A. M. S. *et al.* Monitoramento da poluição da água das galerias pluviais e do mar por meio de avaliações físico-químicas e microbiológicas. **Arq. Ciên. Mar** 38: 71-78. Fortaleza, 2005.

CARPES-PATERNOSTER, S. **Ciclo reprodutivo do marisco-do-mangue *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) no manguezal do Rio Tavares – Ilha de Santa Catarina/SC**. 2003. 30f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis - SC, 2003.

CARSTENSEN, D.; HERRMANN, M.; LAUDIEN, J. Similitud morfológica de espermatozoides de *Donax marincovichii* e *Donax obesulus* (Bivalvia: Donacidae). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE MALACOLOGIA, 20., 2007, Rio de Janeiro. **Anais ...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Malacologia, 2007. p. 205.

- CARVALHO, F. C. T. **Influências exógenas na qualidade bacteriológica da água, solo e camarão (*Litopenaeus vannamei*), em quatro fazendas de camarão do estado do Ceará.** 2006. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais), Laboratório de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC), Fortaleza, 2006.
- CASTAGNA, M.; CHANLEY, P. Salinity tolerance of some bivalves from inshore and estuarine environments in Virginia waters on the western mid-atlantic coast, **Malacologia**. Philadelphia, 12 (1): 47-96, 1973.
- CEUTA, L. O. **Reprodução, Ecologia Populacional e Simbiontes Associados com o Bivalve *Tagelus plebeius* (LIGHTFOOT, 1786) no Estuário do Rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia.** 2007. 47f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2007.
- CHANLEY, P.; CASTAGNA, M. Larval Development of the Stout Razor Clam, *Tagelus plebeius* Solander (Solecurtidae: Bivalvia). **Chesapeake Science** Vol. 12. No. 3, p. 167-172 September, 1971.
- CHRISTIANSEN, H. E.; BRODSK, R. S.; CABRERA, M. E. La microscopia aplicada con criterio poblacional en el estudio de las gónadas de los vertebrados e invertebrados marinos. **Physis, sec. A**, v. 32, n° 35, p. 467-480, 1973.
- CHRISTO, S. W. **Biologia reprodutiva e ecologia de ostras do gênero *Crassostrea* Sacco, 1897, na Baía de Guaratuba (Paraná – Brasil): um subsídio ao cultivo.** 2006. 146f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- CLEDÓN, M. *et al.* Reproductive cycle of the stout razor clam *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) in the Mar Chiquita Coastal Lagoon, Argentina. **Journal of Shellfish Research**, Vol. 23, n. 2, 2004.
- COE, W. R. Development of the primary gonads differentiation of sexuality in *Teredo navalis* and other pelecypod mollusks. **Biol. Bull. Woods Hole**, v. 84, p. 178-186, 1943.
- CUNHA, M. L. R. S. *et al.* Significância clínica de estafilococos coagulase-negativa isolados de recém-nascidos. **Jornal de Pediatria** - Vol. 78, N°4, 2002.
- CUNHA NETO, A. da; SILVA, C. G. M. da; STAMFORD, T. L. M. Enterotoxigenic *Staphylococcus* in nature and processed foods in state of Pernambuco, Brazil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** , Campinas, v. 22, n. 3, 2002.
- DANTAS, M. C. S. *et al.* Patógenos bacterianos emergentes e reemergentes na cadeia alimentar: aspectos epidemiológicos e diagnóstico laboratorial – **apostila Fiocruz**, Florianópolis/SC, 2006.
- DARRIBA, S.; SAN JUAN, F.; GUERRA, A. Gametogenic cycle of *Ensis siliqua* (Linnaeus, 1758) in the Ría de Corcubión, Northwestern Spain. **J. Moll. Stud.** 71: 47-51, 2005.
- DEFEO, O. Marine invertebrate fisheries in sandy beaches: an overview. **Journal of Coastal Research**, Special Issue, 35, 56–65, 2003.

DELFINO, A. C. S. **Estudos Complementares da Dinâmica de População de *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791), no Ecossistema de Manguezal de Garapúa - Cairu – Bahia.** 2005. 65f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

DÍAZ, O. *et al.* Influencia de variables estacionales, espaciales, biológicas y ambientales en la bioacumulación de mercurio total y metilmercurio en *Tagelus dombeii*. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, **36** (1): 15-29, 2001.

DUNGAN, C. F. *et al.* Two epizootic diseases in Chesapeake Bay commercial clams, *Mya arenaria* and *Tagelus plebeius*. **Dis Aquat Org** **50**: 67-78, 2002.

ESCOUTO, F. M. B. **Análise de nutrientes presentes nas águas e sedimentos do estuário do Rio Ceará.** 1996. 87f. Dissertação (Mestrado em Saneamento Ambiental), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1996.

EUROPEAN COMMUNITIES. Council Directive of 15th of July 1991 laying down the health conditions for the production and placing on the market of live bivalve molluscs (91/492/EEC). **Off. J. Eur. Communities**, **L268**: 1-14, 1991.

EVERSOLE, A. G. Gametogenesis and spawning in north american clam population for culture. In: MANZI, J. J.; CASTAGNA, M. (eds). **Clam Mariculture in North America. Developments in Aquaculture and Fisheries Science.** Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam, p. 75-109, 1989.

FAGUNDES, L. *et al.* Perfil sócio-econômico dos mitilicultores do litoral paulista. **Informações Econômicas**, SP, v.34, n.5, 2004.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS & WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of the Twenty-Seventh Session of the Joint FAO/WHO Codex Alimentarius Commission.** Geneva: FAO/WHO, 2004.

Disponível em:

<http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/y5549e/y5549e00.htm>

Acesso em: 25/04/2007.

FOLK, R. L.; WARD, W. C. Brazos river bar: a study in the significance of grain size parameters. **J. Sediment. Petrology**, Tulsa, **27** (1): 3-27, 1957.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Bacteriological analytical manual on line. FDA/Center for Food Safety and Applied Nutrition - CFSAN.** Disponível em <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam/bam-toc.html>. Acesso: 10/06/2002.

FONTANEZ-BARRIS, Y. **Determinación del perfil microbiológico de la almeja (*Lucina pectinata*, Gmelin, 1791), del ostión de mangle (*Crassostrea rhizophorae*, Guilding 1828) y las aguas de extracción de bivalvos de la zona suroeste de Puerto Rico.** 2005. 83f. Tesis (Maestría en Ciencias y Tecnología de Alimentos), Universidad de Puerto Rico, Puerto Rico, 2005.

FRANCO, B. D. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, Atheneu, p. 43-46, 1996.

FRANCO, B. D. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo, 1999. p. 182.

FRASER, T. N. Contributions to the biology of *Tagelus divisus* (Tellinacea: Pelecypoda) in Biscayne Bay. **Florida. Bull. Mar. Sci.** 17: 111-132, 1967.

FUNDAÇÃO CEARENSE DE METEOROLOGIA E RECURSOS HÍDRICOS (FUNCEME). Monitoramento Hidroambiental (Chuvas). Disponível em: <<http://www.funceme.br>>. Acesso em: 20/06/2007.

FURLAN, E. F. **Vida útil dos mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo: aferição dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos**. 2004. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, São Paulo, 2004.

GALVÃO, J. A. **Qualidade microbiológica da água de cultivo e de mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) comercializados em Ubatuba, SP**. 2004. 109f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2004.

GALVÃO, J. A. *et al.* Características físico-químicas e microbiológicas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) da água e dos mexilhões cultivados na região de Ubatuba, SP. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1124-1129, 2006.

GARTHRIGHT, W. E. Appendix 2: most probable number from serial dilutions, In: FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Bacteriological analytical manual online**. FDA/CFSAM, 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-a2.html>>. Acesso em: 01/08/2007.

GASPAR, M. B.; FERREIRA, R.; MONTEIRO, C. C. Growth and reproductive cycle of *Donax trunculus* L., (Mollusca: Bivalvia) off Faro, southern Portugal. **Fisheries Research**, v. 41, p. 309-316, 1999.

GIL, G. M.; THOMÉ, J. W.; TRONCOSO, J. S. Alometria do crescimento em *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791). In: ENCONTRO BRASILEIRO DE MALACOLOGIA, 20., 2007, Rio de Janeiro. **Anais ...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Malacologia, 2007. p. 163.

GIL, G. M.; THOMÉ, J. W. Descrição do ciclo reprodutivo de *Donax hanleyanus* (Bivalvia, Donacidae) no sul do Brasil. **Iheringia, Sér. Zool.**, Porto Alegre, v. 94, n° 3, p. 271-276, 2004.

GIL, G.M.; TRONCOSO, J. S.; THOMÉ, J. W. **Manual para manejo e otimização da exploração comercial de moluscos bivalves**. Porto Alegre, 2007. 48p.

GILLES, R. Osmoregulatory process in mollusks and crustaceans from media with fluctuating salinity regime. **Bolm. Fisiol. Animal Univ. São Paulo**, n° 6, p. 1-36, 1982.

GUTIÉRREZ, J.; IRIBARNE, O. The occurrence of juveniles of the grapsid crab *Chasmagnathus granulata* in siphon holes of the stout razor clam *Tagelus plebeius*. **Journal of Shellfish Research**, v. 17, n° 4, p. 925-929, 1998.

GUTIÉRREZ, J.; IRIBARNE, O. Role of Holocene beds of the stout razor clam *Tagelus plebeius* in structuring present benthic communities. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** v. 185, p. 213-228, 1999.

GUTIÉRREZ, J. L.; IRIBARNE, O. O. Conditional responses of organisms to habitat structure: an example from intertidal mudflats. **Oecologia** 139: 572–582, 2004.

GUTIÉRREZ, J.; VALERO, J. La almeja navaja *Tagelus plebeius* y su participación en mecanismos ecológicos de comunidades intermareales mediante la producción de valvas. In: **Reserva de Biosfera Mar Chiquita: características físicas, biológicas y ecológicas**, IRIBARNE, O. (ed), Editorial Martin, Mar del Plata, p.121-128, 2001.

HARTMANN, T. **Bivalve Seashells of Florida – an identification guide to the common species of Florida and the Southeast**. Anadara Press, Flórida, 2006.

HENRIQUES, M. B. **Resistência do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) proveniente de bancos naturais da Baixada Santista, a variações de temperatura, salinidade, tempo de exposição ao ar e determinação da incidência de parasitismo**. 2004. 103f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas / Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2004.

_____. *et al.* Influência da contaminação bacteriológica sobre a resistência do mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) à exposição ao ar. **Arq. Ciên. Mar**, **36**: 95-99, Fortaleza, 2003.

HOLLAND, A. F.; DEAN, J. M. The Biology of the Stout Razor Clam *Tagelus plebeius*: I. Animal-Sediment Relationships, Feeding Mechanism, and Community Biology. **Chesapeake Science** Vol. 18, No. 1, p. 58-66 March, 1977a.

HOLLAND, A. F.; DEAN, J. M. The Biology of the Stout Razor Clam *Tagelus plebeius*: II. Some Aspects of the Population Dynamics. **Chesapeake Science** Vol. 18, No. 2, p. 188-198 June, 1977b.

INTROÍNI, G. O. Morfologia de espermatozóides de algumas espécies de bivalves marinhos: aspectos com relevância taxonômica e ecológica. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE MALACOLOGIA, 20., 2007, Rio de Janeiro. **Anais ...** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Malacologia, 2007. p. 36-37.

ITIS - **Integrated Taxonomic Information** (System ou Sistema Integrado de Informação Taxonômica). Disponível em: <<http://www.itis.gov>>. Acesso em: 25/05/2007.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. Livraria e Editora Santos, São Paulo, 1983.110p.

KLOOS, W. E. Systematics and natural history of staphylococci. **Journal of Applied Bacteriology**, v.69, S25-S37, (Supplement) Oxford, 1990.

LIRA, G. M. *et al.* Perfil de ácidos graxos, composição centesimal e valor calórico de moluscos crus e cozidos com leite de coco da cidade de Maceió - Al. **Rev. Bras. Cienc. Farm. Braz. J. Pharm. Sci.** vol. 40, n. 4, 2004.

LOGULLO, R. T. **A influência das condições sanitárias sobre a qualidade das águas utilizadas para a maricultura no Ribeirão da Ilha – Florianópolis, SC.** 2005. 140 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 2005.

LOMOVASKY, B. J.; GUTIÉRREZ, J. L.; IRIBARNE, O. O. Identifying repaired shell damage and abnormal calcification in the stout razor clam *Tagelus plebeius* as a tool to investigate its ecological interactions. **Journal of Sea Research**, v. 54, p. 163–175, 2005.

_____. *et al.* The effect of the SW Atlantic burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* on the intertidal razor clam *Tagelus plebeius*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 337, p. 19–29, 2006.

MAGALHÃES-NETO, E. O. Determinação, por Titulação Biológica, de Toxinas em Moluscos. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, v. 32, n. 1, p. 123-128, 1999.

MAIA, C. B.; ALMEIDA, A. C. M.; MOREIRA, F. R. Avaliação do Teor de Chumbo em Mexilhões da Espécie *Perna perna* na Região Metropolitana da Cidade do Rio de Janeiro. **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v. 1, n. 2, 195-198, 2006.

MARQUES, C. G. **Aspectos reprodutivos do berbigão *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia, Veneridae) na Enseada de Caraguatatuba, São Paulo – Brasil.** 2004. 67f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Centro Universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos, São João da Boa Vista, São Paulo, 2004.

MARTINEZ, J. *et al.* Identification of *Salmonella* serovars isolated from live molluscan shellfish and their significance in the marine environment. **J. Food Protect.** 66: 226-232, 2003.

MARTINS, V. S.; SOUTO, F. J. B. Uma análise biométrica de bivalves coletados por marisqueiras no manguezal de Acupe, Santo Amaro, Bahia: uma abordagem etnoconservacionista. **Sitientibus Série Ciências Biológicas 6 (Etnobiologia):** 98-105, 2006.

MATOS, E. *et al.* Estrutura fina do espermatozóide de *Tagelus plebeius* (Lightfoot) (Mollusca, Bivalvia) do litoral norte do Brasil. **Revta. Bras. Zool.** 14 (3): 595-600, 1997.

MENDES, E. S. **Avaliação microbiológica de ostras consumidas na Grande Recife – PE.** 2001. 102f. Tese (Doutorado em Biologia Tropical), Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu – SP, 2001.

MESQUITA, E. F. M.; ABREU, M. G.; LIMA, F. C. Aspectos gametogênicos de *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck) (Bivalvia, Donacidae) da Lagoa de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 18 (2): 523-528, Curitiba, 2001.

METAXATOS, A. Population dynamics of the venerid bivalve *Callista chione* (L.) in a coastal area of the eastern Mediterranean. **J. Sea Res.** 52, 293-305, 2004.

MIRANDA, P. T. C. *et al.* Comunidades bentônicas em raízes de *Rhizophora mangle* Linnaeus, no manguezal do Rio Ceará (Ceará – Brasil). **Arq. Ciên. Mar.** 27: 101-110, Fortaleza, Ceará, 1988.

MILHEIRA, R. G. **Arqueoistoriografia e identidade no contexto das pesquisas arqueológicas em sambaquis.** Disponível em: <<http://www.cph.ipt.pt/angulo2006/img/01-02/sambaquis.pdf>>. Acesso em: 15/07/2007.

MORSAN, E. M. Spatial analysis and abundance estimation of the southernmost population of purple clam, *Amiantis purpurata* in Patagonia (Argentina). **J. Mar. Biol. Ass. U.K.**, v. 83, p. 4241/1-10, 2003.

MORSAN, E. M.; KROECK, M. A. Reproductive cycle of purple clam, *Amiantis purpurata* (Bivalvia: Veneridae) in northern Patagonia (Argentina). **J. Mar. Biol. Ass. U.K.**, v. 85, 367-373, 2005.

MORTON, B. The life cycle and sexual strategy of *Grafrarium pectinatum* (Bivalvia: Veneridae) in a Hong Kong mangrove. **Malacological Rev.**, 23: 53-62, 1990.

MOURA, P.; GASPAR, M. B.; MONTEIRO, C. C. Gametogenic cycle of the smooth clam *Callista chione* on the south-western coast of Portugal. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 88(1), 161–167, 2008.

MURATORI, M. C. S. **Avaliação higiênico-sanitária de *Curimatus ciliatus* “in natura” salgado artesanalmente em Teresina, PI.** 1991. 116f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária), Escola de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, 1991.

NARCHI, W. Ciclo anual da gametogênese de *Anomalocardia brasiliiana* (Gmelin, 1791) (Mollusca: Bivalvia). **Bolm. Zool. Univer.** São Paulo, v.1, p. 331-350, 1976.

NISHIDA, A. K.; LEONEL, R. M. V. Dados Preliminares Sobre a Ecologia de *Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819) (Mollusca – Bivalvia) da Ilha da Restinga, Estuário do Rio Paraíba do Norte, Estado da Paraíba, Brasil. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE GERENCIAMENTO COSTEIRO, 2, **Anais...**, 1985.

NISHIDA, A. K.; NORDI, N. Catadores de Moluscos do Litoral Paraibano I – Estratégias de Coleta e Processamento. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ETNOBIOLOGIA E ETNOECOLOGIA – PRESERVAÇÃO DA DIVERSIDADE BIOLÓGICA E CULTURAL, 2, **Anais...**, 1998.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA AGRICULTURA E ALIMENTAÇÃO (FAO). **The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic – Bivalves**, 2006, p. 86. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/y4160e/y4160e07.pdf>>. Acesso em: 06/09/2007.

OSORIO-RUIZ, C. Moluscos Marinos en Chile, Especies de importancia económica Edit. Salesianos S.A. , Chile, 2002, 211p.

PEDROSA, L. F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Composição centesimal e de minerais de mariscos crus e cozidos da cidade de Natal/RN. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 21, n. 2, p. 154-157, 2001.

PEREIRA, C. S. **A cultura de mexilhões na Baía de Guanabara e suas implicações para a saúde pública – Contexto político-social e microbiológico.** 2003. 177f. Tese (Doutorado em Saúde Pública), Escola Nacional de Saúde Pública – ENSP (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, 2003.

PEREIRA, J. L. Estudo atesta qualidade de salame industrializado. In: Sugimoto, L. **Jornal da Unicamp**, Universidade Estadual de Campinas, 26 de setembro a 2 de outubro de 2005.

PIRES-SANTOS, F.; PESO-AGUIAR, M. C.; POGGIO, C. A. Escala de maturidade gonadal para *Lucina pectinata* (Gmelin, 1791) (Mollusca-Bivalvia) no manguezal de Garapuá (Cairu-BA). In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS DO MAR, 12., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Associação Brasileira de Oceanografia, 2007. p. 230.

QUAYLE, D. B. Sex, gonad development and seasonal gonad changes in *Paphia staminea* Conrad. **J. Fish. Res. Bd. Can.**, Canada, v.6, n.2, p. 140-151, 1943.

RAMOS, S.; PARANAGUÁ, M. N. Exploração de *Tagelus plebeius* (Lighfoot, 1786, Mollusca: Pelecypoda) no Estuário do Rio Cachoeira é fonte de Sustento das Populações Ribeirinhas de Ilhéus, Bahia. In: ENCONTRO REGIONAL DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL EM ÁREAS DE MANGUEZAIS – NORDESTE II, 4., 2005, Recife. **Anais ...** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. p. 69.

RIBEIRO, F. A. **Análise do efeito de diferentes métodos de conservação na determinação da contaminação da carne do molusco bivalve *Tivela mactroides* por coliformes totais e fecais.** 2004. 54f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas), Centro Universitário da Fundação de Ensino Otávio Bastos, São João da Boa Vista, SP, 2004.

RIOS, E. C. **Seashells of Brazil.** Editora da Fundação Universidade do Rio Grande, 2ª edição, Rio Grande, 1994, 492p.

ROJAS, J. *et al.* Tamanho, densidad y reproducción de la barba de hacha *Tagelus peruvianus* (Bivalvia: Solecurtidae) en el estero de Puntarenas, Costa Rica. **Rev Biol. Trop**, **36**: 479-483, 1988.

SASTRY, A. N. Pelecypoda (excluding Ostreidae). In: **Reproduction of marine invertebrates, 5. Molluscs: pelecypods and lesser classes** (A. C. Guiese; J. S. Pearse, eds.), Academic Press, London, 113-192, 1979.

SILVA, C. M. **Salmonella e Staphylococcus coagulase positiva em sushis e sashimis comercializados na cidade de Fortaleza, Ceará.** 2006. 40f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

SILVA, C. F. **Morfometria, Crescimento e Reprodução de *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) (Bivalvia: Solecurtidae)**. Projeto (Monografia de Graduação), Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas - SP, 2007.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997, 295 p.

SILVA, A. I. M. *et al.* Bactérias fecais em ostras, *Crassostrea rhizophorae*. **Arq. Ciênc. Mar**, 36: 63-66, Fortaleza, 2003.

SILVA, S. C. *et al.* Análise da situação filogenética do bivalve estuarino *Tagelus plebeius* (Lightfoot, 1786) a partir de seqüências parciais do gene 16S mitocondrial. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS DO MAR, 12., 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Associação Brasileira de Oceanografia, 2007. p. 56.

SIQUEIRA, G. W. *et al.* Determinação da matéria orgânica e razões C/N e C/S em sedimentos de fundo do estuário de Santos – SP, Brasil. **Arq. Ciênc. Mar**, Fortaleza, 2006, 39: 18-27.

SOUZA, M. J. N; LIMA, L. C.; MORAIS, J. O. **Compartimentação Territorial e Gestão Regional do Ceará**. Fortaleza: Editora FUNCEME, 2000. 268p.

SUGUIO, K. **Introdução à Sedimentologia**. E. Bluncher/EDUSP, São Paulo, 1973, 317p.

SUPERINTENDÊNCIA ESTADUAL DO MEIO AMBIENTE – CEARÁ (SEMACE). Disponível em: <<http://www.semace.ce.gov.br/>> Acesso em: 16/12/2006.

TERASAWA, L. B. **Caracterização da resistência à oxacilina em estafilococos coagulase negativa isolados no hospital de clínicas de Curitiba – Paraná**. 2006. 109f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia, Parasitologia e Patologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

TORRENS, B. M. O. **Estimativa da matéria sólida orgânica produzida por mexilhões *Perna perna* em áreas de produção na Baía da Babitonga –SC**. 2005. 73f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

VAISMAN, A. G. **Caracterização da Ostra de Mangue, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) como Biomonitor de Poluição por Mercúrio em Estuários Cearenses**. 2003. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2003.

VALENTE, A. M. **Efeito da Radiação sobre Mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758): Coliformes Termotolerantes e *Enterococcus*; Ação Antimicrobiana e Análise Sensorial das Amostras**. 2004. 85f. Dissertação (Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal), Universidade Federal Fluminense, Niterói – RJ, 2004.

VAZQUEZ, N. N. *et al.* Parasites of the stout razor clam *Tagelus plebeius* from the Southwestern Atlantic Ocean. **Journal of Shellfish Research**, v. 25, n° 3, p. 877-886, 2006.

VIÉGAS, O. Crescimento e produção de *Tagelus plebeius* (Solecurtidae: Bivalvia) no Canal do Calunga, Maceió-Alagoas. **Atlântica**, Rio Grande, 5 (2): 124-125, 1982.

_____. **Dinâmica populacional e produção de *Tagelus plebeius* (Solecurtidae: Bivalvia) no Canal do Calunga, Maceió-Alagoas.** 1981. 86f. Dissertação (Mestrado em Ecologia), Universidade de Brasília, Distrito Federal, 1981.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado** – teoria e prática. Livraria Varela, São Paulo, 2004, 380p. ISBN 85-85519-72-X.

_____. *et al.* Colimetria da água da Praia da Barra do Ceará- Fortaleza- Ceará. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, v.32, n.1, p. 119-122, 1999.

_____. *et al.* Aspectos microbiológicos de águas estuarinas nos estados do Rio Grande do Norte e Ceará. **Arq. Ciên. Mar**, Fortaleza, Ceará, 40 (1): 89-95, 2007.

_____.; VASCONCELOS, R. F.; CARVALHO, E. M. R. Quantificação de víbrios, de coliformes totais e termotolerantes em ostra nativa *Crassostrea rhizophorae*, e na água do estuário do Rio Jaguaribe, Fortim CE. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n° 1, p. 1-13, jan./jun. 2007.

VILANOVA, M. F. V.; CHAVES, E. M. B. Contribuição para o conhecimento da viabilidade do cultivo de ostra-do-mangue, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Mollusca: Bivalvia), no estuário do Rio Ceará, Ceará, Brasil. **Arq. Ciên. Mar**, 27: 111-125, Fortaleza – CE, 1988.

WETLER, R. M. C. *et al.* Coliformes em moapen *Tagelus plebeius* (Bivalvia: Psammobiidae) no Rio Cachoeira, Ilhéus, Bahia. In: VIII SIMBIO - SIMPÓSIO DE BIOLOGIA DO SUL DA BAHIA, 2005, Ilhéus. **CD Rom de resumos**, 2005.



Apêndice A - Teste χ^2 para a proporção sexual observada (O) e proporção sexual esperada (E) de machos (σ) e fêmeas (φ) de *Tagelus plebeius* durante o período de abril de 2006 a junho de 2007. Graus de liberdade=1, χ^2 crítico = 3,8415 e $\alpha=0,05$.

MESES	σ	φ	O	E	(O-E) ² /E	X^2 calculado
abr/06	14	15	0,93	1	0,00	0,03
mai/06	13	14	0,92	1	0,01	0,04
jun/06	12	7	1,71	1	0,50	1,32
jul/06	11	13	0,84	1	0,03	0,17
ago/06	14	14	1	1	0,00	0,00
set/06	12	14	0,85	1	0,02	0,15
out/06	18	9	2	1	1,00	3,00
nov/06	12	15	0,8	1	0,04	0,33
dez/06	13	12	1,08	1	0,01	0,04
jan/07	18	9	2	1	1,00	3,00
fev/07	19	11	1,72	1	0,52	2,13
mar/07	8	17	0,47	1	0,28	3,24
abr/07	12	7	1,71	1	0,50	1,32
mai/07	11	11	1	1	0,00	0,00
jun/07	9	5	1,8	1	0,64	1,14



ANEXOS

Procedimentos para Análise Histológica Utilizados pelo Laboratório de Zoobentos do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará (LABOMAR/UFC)

PROCEDIMENTO DE PREPARAÇÃO DAS GÔNADAS DE *Tagelus plebeius* PARA ANÁLISE HISTOLÓGICA

Desidratação em álcool etílico (após a fixação com solução de Bouin e preservação em álcool 70%):

Álcool 80% por 1 hora;

Álcool 90% por 1 hora;

Álcool 95% por 1 hora;

Álcool Absoluto P. A. por 1 hora (primeira passagem);

Álcool Absoluto P. A. por 1 hora (segunda passagem);

Diafanização em Xilol P. A. por 20 minutos;

Impregnação em parafina:

Parafina a 60°C por 1 hora (primeiro banho);

Parafina a 60°C por 1 hora e 30 minutos (segundo banho);

Inclusão (emblocamento).

PROCEDIMENTO DE COLORAÇÃO DAS LÂMINAS HISTOLÓGICAS, UTILIZANDO-SE HEMATOXILINA DE HARRIS E EOSINA (JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983)

Retirada da Parafina:

Xilol P. A. por 10 minutos (primeira passagem);

Xilol P. A. por 10 minutos (segunda passagem);

Rehidratação:

Álcool Absoluto P. A. por 3 minutos (primeira passagem);

Álcool Absoluto P. A. por 3 minutos (segunda passagem);

Álcool 95% por 3 minutos;

Álcool 80% por 3 minutos;

Álcool 70% por 3 minutos;

Lavagem em água corrente por 5 minutos.

Coloração:

Hematoxilina por 30 segundos;

Lavagem em água corrente por 5 minutos;

Eosina alcoólica 1% por 1 minuto.

Desidratação:

Álcool 70% por 30 segundos;

Álcool 80% por 30 segundos;

Álcool 95% por 30 segundos;

Álcool P. A. por 30 segundos (primeira passagem);

Álcool P. A. por 30 segundos (segunda passagem).

Diafanização:

Xilol por 3 minutos (primeira passagem);

Xilol (descanso);

Montagem da lâmina permanente (entellan).

**Metodologias Para o Preparo de Meios de Cultura e Reagentes
Utilizados pelo Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado
do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará
(LABOMAR/UFC)**

MEIOS DE CULTURA

Coliformes

1 – SOLUÇÃO SALINA 0,85%

Cloreto de Sódio	8,5 g
Água destilada	1.000 mL

Após a dissolução do ingrediente, a solução é distribuída em volumes de 9 mL, em tubos de 15 x 160 mm e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Posteriormente, os mesmos são resfriados e mantidos em geladeira até sua utilização.

2 – CALDO LAURIL-SULFATO TRIPTOSE – CLS (MERCK)

O meio é preparado de acordo com as instruções do fabricante, 35,5 g do meio desidratado são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada. O meio é distribuído em volumes de 10 mL em tubos de ensaio contendo em seu interior tubinhos de Durhan invertidos. A esterilização é feita em autoclave à temperatura de 121°C durante 15 minutos.

3 – MEIO EC MEDIUM (DIFCO)

O meio é preparado de acordo com as instruções do fabricante, 37 g do meio são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada. O meio é distribuído em volumes de 10 mL em tubos de ensaio contendo em seu interior tubinhos de Durhan invertidos. A esterilização é feita em autoclave à temperatura de 121°C durante 15 minutos.

4 – PREPARO DO MEIO ÁGAR TRIPTONA SOJA - TSA (DIFCO)

De acordo com as instruções do fabricante são dissolvidos 40 g em 1.000 mL de água destilada sendo então distribuídos em volumes de 3 mL em tubos de 12 x 120 mm, sendo logo após esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Logo após a esterilização, os tubos, ainda quentes são inclinados para posterior utilização.

5 – PREPARO DO MEIO DE VOGES-PROSKAUER - VP (DIFCO)

Segundo as orientações do seu fabricante, 17 g do meio MR-VP desidratados (DIFCO) e 10 g de cloreto de sódio são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada em porções de 5 mL em tubos de 15 x 150 mm e, em seguida são esterilizados a 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento são estocados em geladeira a 4°C. O p H final deste meio é de 7,8 +/- 0,2.

6 – PREPARO DO MEIO SIM (DIFCO)

São dissolvidos por aquecimento, 36 g de meio SIM desidratado em 1.000 mL de água destilada. Em seguida, o meio é distribuído em porções de aproximadamente 4 mL em tubos de 12 x 120 mm seguindo-se à esterilização em autoclave por 121°C por 15 minutos. Após a autoclavação os tubos são mantidos em temperatura ambiente em posição vertical, até a solidificação do meio. Em seguida, mantido em geladeira até sua utilização. Após a incubação por 24 h a 35°C, adiciona-se ao meio 2 a 3 gotas do reativo Kovacs.

7 – PREPARO DO MEIO CITRATO DE SIMMONS (MERCK)

De acordo com as instruções do fabricante são dissolvidos 22,5 g em 1.000 mL de água destilada sendo então distribuídos em volumes de 3 mL em tubos de 12 x 120 mm, sendo logo após esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Logo após a esterilização, os tubos, ainda quentes são inclinados para posterior utilização.

REAGENTES

1 – Reagentes para o teste de Voges-Proskauer (VP)

A – Solução alcoólica de alfa-naftol a 5% (solução Barrit I)

São dissolvidos 5,0 g de alfa-naftol (Merck) em 100 mL de álcool absoluto. O reagente é então acondicionado em frasco escuro e mantido à temperatura ambiente.

B – Solução aquosa de hidróxido de potássio a 40% (solução Barrit II)

São dissolvidos 40,0 g de hidróxido de potássio (Merck) em 100 mL de água destilada. O reagente é acondicionado em frasco escuro e conservado à temperatura ambiente.

C – PREPARO DO REATIVO DE KOVACS

p-dimetil-aminobenzaldeído	5,0 g
Álcool amílico	75 mL
Ácido clorídrico	25 mL

De acordo com as instruções do fabricante o p-dimetil-aminobenzaldeído é dissolvido em álcool amílico, sendo o ácido clorídrico adicionado lentamente à solução.

***Salmonella* sp.**

1 – PREPARO DO MEIO CALDO LACTOSADO (CL)

O meio é preparado de acordo com as instruções do fabricante, 13 g do meio são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada e a solução é aquecida até completa dissolução. O meio é distribuído em um erlenmeyer de 225 mL. A esterilização é feita em autoclave à temperatura de 121°C durante 15 minutos.

2 – PREPARO DO MEIO CALDO TETRATIONATO (TT)

O meio é preparado de acordo com as instruções do fabricante, 4,6 g do meio são dissolvidos em 100 mL de água destilada e a solução é aquecida até completa dissolução. O meio é então distribuído em volumes de 10 mL, em tubos de ensaio esterilizados.

3 – PREPARO DO MEIO CALDO RAPPAPORT-VASSILIADS (RV)

O meio é preparado de acordo de acordo com as instruções do fabricante, 40 g do meio são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada e a solução é aquecida até completa dissolução. O meio é então distribuído em volumes de 10 mL em tubos de ensaio esterilizados. Seguindo-se à esterilização em autoclave a 115°C por 15 minutos.

4 – PREPARO DO ÁGAR ENTÉRICO HECKTOEN (HE)

O meio é preparado de acordo com as instruções do fabricante, 76 g do meio são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada e a solução é aquecida até completa dissolução. O meio é distribuído em erlenmeyer de 250 mL. A esterilização é feita em autoclave à temperatura de 121°C durante 15 minutos. Resfria-se o meio para uma temperatura de 50-60°C e então se distribui em placas de Petri (15 x 100 mm), previamente esterilizadas, em torno de 15 mL por placa.

4 – PREPARO DO ÁGAR MACCONKEY

O meio é preparado de acordo com as instruções do fabricante, 50 g do meio são dissolvidos em 1.000 mL de água destilada e a solução é aquecida até completa dissolução. O meio é distribuído em erlenmeyer de 250 mL. A esterilização é feita em autoclave à temperatura de 121°C durante 15 minutos. Resfria-se para uma temperatura de 50-60° C e então se distribui em placas de Petri (15 x 100 mm), previamente esterilizadas, em torno de 15 mL por placa.

5 – PREPARO DO ÁGAR TRÍPLICE AÇÚCAR-FERRO (TSI)

De acordo com as instruções do fabricante são dissolvidos 65 g em 1.000 mL de água destilada sendo então distribuídos em volumes de 4 mL em tubos de 12 x 120 mm, sendo logo após esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Logo após a esterilização, os tubos, ainda quentes são inclinados para posterior utilização.

6 – PREPARO DO ÁGAR FERRO LISINA (LIA)

De acordo com as instruções do fabricante são dissolvidos 34 g em 1.000 mL de água destilada sendo então distribuídos em volumes de 4 mL em tubos DE 12 x 120 mm, sendo logo após esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos. Logo após a esterilização, os tubos ainda quentes são inclinados para posterior utilização.

Staphylococcus sp.

1 – CALDO INFUSÃO DE CÉREBRO E CORAÇÃO - BHI (DIFCO)

A preparação deste meio foi realizada conforme as instruções do fabricante. Assim, 37 g do produto desidratado foram pesados e adicionados a 1.000 mL de água destilada. A seguir, após a dissolução completa, o meio foi distribuído em volumes de 5 mL em tubos 15 x 160 mm e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos, sendo o pH final 7,4. Decorrida a esterilização, e o meio já resfriado, o mesmo foi mantido em geladeira.

2 – ÁGAR BAIRD-PARKER (MERCK)

No preparo deste meio foi seguida a técnica recomendada pelo fabricante. Assim, 63 g do meio desidratado foram adicionados a 1.000 mL de água destilada e a seguir aquecido até a ebulição, a fim de se obter a dissolução completa dos ingredientes. Em seguida, o meio foi esterilizado em autoclave a 121°C por 15 minutos e, posteriormente, resfriado a $\pm 50^\circ\text{C}$, quando então, eram adicionados em 50 mL de emulsão de gema de ovo e 3 mL de solução de telurito de potássio a 1%. Em seguida, o meio era distribuído em placas de Petri esterilizadas, em volumes de aproximadamente

15 mL, e após sua solidificação eram depois mantidas em geladeira a 4°C por um período não superior a 48 horas.

3 - PREPARO DA EMULSÃO DE GEMA DE OVO

Ovos frescos de galinha eram lavados e imersos por algum tempo (não menos que três minutos) em álcool a 70%. Posteriormente os ovos eram retirados da solução de álcool, flambados e, uma vez abertos assepticamente, as claras eram separadas das gemas e então com o auxílio de uma pipeta de 10 mL estéril, as gemas eram transferidas para um erlenmeyer também estéril, adicionando-se-lhe igual volume de solução salina a 0,85% estéril e, em seguida, homogeneizada com movimentos rotatórios. Para cada 95 mL do meio basal são adicionados 5 mL da emulsão de gema de ovo.

4 - PLASMA DE COELHO LIOFILIZADO (COAGU-PLASMA LB)

Segundo o fabricante, o plasma de coelho liofilizado foi diluído em 3 mL de solução fisiológica (NaCl 0,85%) estéril.