

BIOACUMULAÇÃO DE METAIS EM MOLUSCOS BIVALVES: ASPECTOS EVOLUTIVOS E ECOLÓGICOS A SEREM CONSIDERADOS PARA A BIOMONITORAÇÃO DE AMBIENTES MARINHOS

GALVÃO, P.M.A.; REBELO, M.F.; GUIMARÃES, J.R.D.; TORRES, J.P.M. & MALM, O.

Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Av. Carlos Chagas Filho no. 373. CCS-BI.G sala 061ss, CEP. 21941-902, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. e-mail: mgpetrus@yahoo.com.br

ABSTRACT

Galvão, P.M.A.; Rebelo, M.F.; Guimarães, J.R.D.; Torres, J.P.M. & Malm, O. 2009. Metals bioaccumulation in bivalve mollusks: evolutive and ecological aspects to be concerned in marine biomonitoring. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.* 13(2):59-66. ISSN 1808-7035. The knowledge on the contaminants agents' bioaccumulation dynamic in bivalve tissues is important because shell fish consumption may represent a toxic risk to humans. By looking at the selective pressure to which the bivalve mollusks were submitted along their evolutionary process, a better understanding on bivalves as a biologic model for environmental contamination assessments can be achieved. The capacity to control toxic elements by bivalves is especially important to environment toxicology. Bivalves that are able to accumulate high contaminant levels with no apparent toxic effect exhibit special potential as "sentinel species". Different strategies of metal distribution through the organs result in different bioaccumulations patterns in each organ/tissue. Along the last fifty years the bivalves have been widely used as environmental matrix, and their potentiality and limitations for environment toxicology are still under debate. In this review we intend to discuss the principles of bivalve's applicability as a tool for environmental biomonitoring and the present paradigms and future perspectives of bivalves as a model in environment toxicology.

Key words: Biological model, contaminants, ecotoxicology, environmental toxicology, sentinel.

INTRODUÇÃO

O cultivo de moluscos bivalves marinhos cresceu mais de 200% de 1990 a 2001 (Borghetti *et al.*, 2003), e só em 2006 movimentou um volume de 72 milhões de dólares (FAO, 2009). No entanto, a regulamentação da qualidade deste pescado o Brasil ainda é incipiente. Apenas algumas poucas substâncias tóxicas já dispõem de níveis de segurança estabelecidos para as concentrações de contaminantes orgânicos e inorgânicos na carne de bivalves (ex.: ANVISA, portaria nº 685, limite de $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de cádmio em pescado).

Ao se determinar as concentrações de contaminantes na carne de bivalves marinhos, pode-se avaliar de forma direta a exposição humana a estes agentes tóxicos, além de informar quanto à distribuição destas substâncias no ambiente. Na década de 60 os moluscos bivalves foram apresentados como um modelo biológico para se avaliar a dinâmica de metais no ambiente (Brooks & Rumsby, 1967).

Em 1975, os bivalves foram apontados como possíveis biomonitores para o programa internacional de monitoramento de poluentes no ambiente marinho: o "Mussel Watch", da agência americana "National Oceanic and Atmospheric Administration" (NOAA) (Goldberg, 1975). Em 2004, o "Programa de meio

ambiente das Nações Unidas" (UNEP), também recomenda o emprego de bivalves para o mesmo fim (UNEP, 2004). Algumas características fazem dos moluscos bivalves marinhos animais interessantes para avaliar as concentrações ambientais dos contaminantes: ocorrem em estuários e zonas costeiras; são sésseis, o que não lhes permite escapar da poluição se deslocando para outras áreas; possuem tempo de vida relativamente longo, o que permite estudos de longo prazo; ampla distribuição geográfica, o que facilita a intercomparação dos dados obtidos de regiões diferentes; aparecem freqüentemente em alta densidade e são de fácil coleta; acumulam concentrações de contaminantes em seus tecidos acima do encontrado na fonte de contaminação, sem que apresentem efeitos tóxicos; etc. (Cunningham, 1979). Mas é o hábito alimentar destes animais que os torna suscetíveis à incorporação de contaminantes, tanto pelo que o animal ingere, como pela fração solúvel na água (Rainbow, 2002).

Conhecer a estrutura e o papel de cada órgão é o primeiro passo para se rastrear a(s) possível(is) via(s) de incorporação/intoxicação, excreção/detoxificação, bem como a ação dos agentes tóxicos nos sistemas biológicos.

Ao se conhecer as propriedades físico-químicas dos contaminantes e dos ecossistemas onde estes são lançados, podemos prever a formação dos complexos entre os agentes químicos e os compartimentos abióticos (sedimento, água, ar e etc.). Por outro lado, dados sobre a ecologia das espécies, como o hábito alimentar e uso do habitat, são fundamentais para se buscar os alvos (espécies) dos contaminantes no ambiente. Por isso, ciências básicas como zoologia e botânica subsidiam a toxicologia ambiental informando as características de cada organismo, as quais serão consideradas na seleção das potenciais “espécies biomonitoras”.

Diante de toda a literatura produzida sobre a bioacumulação de metais por moluscos bivalves para o entendimento da dinâmica de contaminantes no ambiente, temos como objetivo nesta revisão, resgatar a relação entre o porquê da escolha deste grupo nos estudos toxicológicos, e como estes organismos vêm sendo utilizados neste contexto. Com isso, é possível abrir espaço para questionamentos da validade destes animais enquanto modelo para a monitoração ambiental, assim como re-alinhar as metas e os atuais paradigmas desta abordagem.

BREVE DESCRIÇÃO DO CAMINHO EVOLUTIVO PERCORRIDO PELO GRUPO

Bivalves coletores de depósitos

Os bivalves evoluíram a partir da colonização dos depósitos de areia do sublitoral no período Pré-Cambriano. Dois eventos evolutivos tiveram grande destaque neste momento: a perda da cabeça e da estrutura cefálica (tentáculos, olhos, massa bucal, e rádula) e o ligamento da concha com o manto. Este último foi essencial para a proteção lateral do tecido mole contra as substâncias tóxicas e também, contra a abrasão causada pela movimentação dos indivíduos pelo substrato. Assim, estes animais puderam manter-se parcialmente enterrados em um substrato não consolidado, enquanto se alimentavam da matéria orgânica contida na camada superficial do mesmo (Purchon, 1968). Este aspecto é muito importante, pois revela o contato direto entre os bivalves e o meio externo, o sedimento marinho. Este compartimento abiótico (sedimento) é reconhecido como estoque e fonte de contaminantes para o ambiente (Föstner, 1983).

O bivalve primitivo, assim como seu ancestral, era consumidor seletivo do material depositado no sedimento, coletando as partículas do substrato através dos tentáculos palpareis (Purchon, 1968), como ilustrado na figura 1. Por isso, esta estratégia de captar alimento constitui uma via de exposição direta às substâncias tóxicas associadas ao substrato (sedimento).

Transição para o hábito filtrador suspensívoro

As brânquias no seu estado mais primitivo tinham função respiratória, e minoritariamente alimentar (Purchon, 1968). A característica mais marcante na evolução dos bivalves é a modificação da estrutura deste órgão, o que permitiu o desempenho de outras funções. A brânquia dos moluscos consiste de um septo mediano com lamelas triangulares e são denominadas ctenídios (Ruppert, 1996). Quatro importantes modificações nesta estrutura devem ser mencionadas: 1) Alongamento dos filamentos branquiais, o que reduziu sua área superficial, permitindo assim que uma alta densidade de partículas na corrente ventilatória não levasse as lamelas branquiais à colmatação; 2) Aumento do número de filamentos branquiais, até que estes se estendessem para a porção anterior do animal, encostando no palpo labial; 3) Dobramento dos filamentos branquiais em forma de “U”, ocupando uma posição lateral no corpo (Figura 2); 4) Os cílios que se dedicavam à limpeza das brânquias passam a transportar as partículas aderidas pelo muco na superfície branquial, para o palpo labial e à boca.

À medida que o novo sistema branquial se desenvolve, a corrente ventilatória passa a filtrar partículas em suspensão, incorporando-as como alimento. Mais uma vez, chamamos a atenção para o fato de que a fonte de alimento destes animais é reconhecida como substrato de adsorção para os contaminantes. Por isso, o material particulado em suspensão na coluna d’água (MPS), definido como a fração de sólidos maior que 0,45 mm, atua como uma via de transferência de compostos tóxicos para a biota (Phillips, 1995).

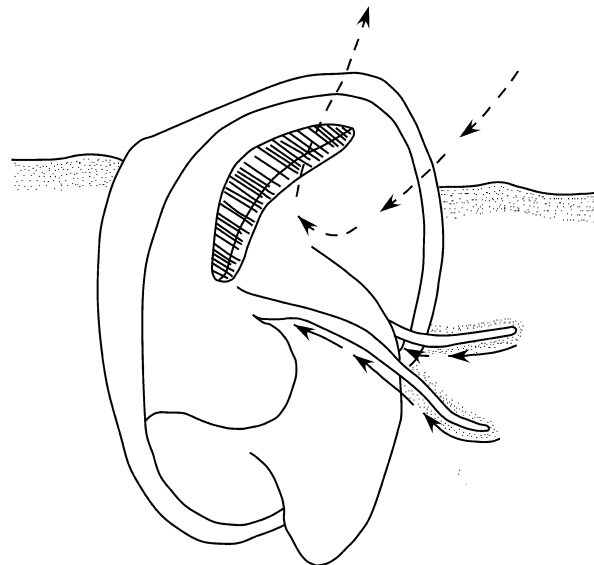


Figura 1 - Ilustração de um representante da Subclasse Protobranchia, as setas maiores indicam a trajetória da corrente hídrica, e as menores o trajeto das partículas alimentares. Adaptado de Ruppert (1996).

O plano corporal dos bivalves filtradores observado atualmente lhes permite não só capturar seu alimento na coluna d'água, como também manipulá-lo. A seleção de partículas se dá em diferentes órgãos (ctenídio, palpo labial e estômago), podendo ser feita pré ou pós-ingestão, passiva ou ativamente. Com o propósito de otimizar a aquisição energética, a seleção é feita não apenas mecanicamente (tamanho das partículas), mas também por critérios bioquímicos e de palatabilidade. Pode-se resumir que a retenção de partículas alimentares é decorrente de três mecanismos que ocorrem paralelamente: retenção preferencial pelo ctenídeo, triagem no ctenídeo e/ou palpo labial e rejeição de partículas via pseudofeces (Ward *et al.*, 1998).

Os espaços existentes na lamela branquial por onde o alimento é filtrado (óstio) varia de diâmetro entre os bivalves. Como isso, o tamanho da partícula é um fator importante na etapa de retenção da partícula, levando à exploração de nichos alimentares distintos. Isto deve ser considerado no entendimento da

incorporação de contaminantes via alimentação, para cada espécie de bivalve. Um exemplo deste fato é o trabalho que relaciona uma maior concentração de mercúrio orgânico em uma espécie de bivalve que se alimenta preferencialmente de zooplâncton, em relação à outra que capta fitoplâncton (Kehrig *et al.*, 2001).

A capacidade de explorar a coluna d'água como nicho alimentar proporcionou aos moluscos bivalves o início de uma nova explosão adaptativa. Este advento resultou em uma larga variedade de bivalves filtradores, chamados Lamelibrânquios (Ruppert, 1996). Estes colonizaram costões rochosos e recifes de coral, em paralelo ao aumento da eficiência dos ctenídios como órgão coletor de alimento (Purchon, 1968). Hoje se observa a presença de bivalves em regiões estuarinas, utilizando, por exemplo, as fundações de pontes e alicerces de cais como substratos consolidados. Este fato merece menção, pois em muitos casos podem ser estes os pontos de coletas dos bivalves em amostragens ambientais.

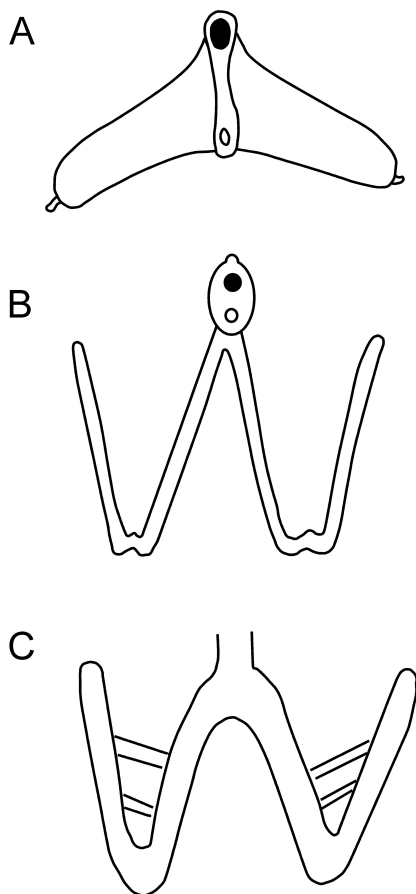


Figura 2 - Representações esquemáticas dos estágios de dobramento dos filamentos das brânquias dos moluscos bivalves. A) brânquia de um Protobranchia. B) brânquia filibrânquia. C) brânquia eulamelibrânquia. Adaptado de Coan e colaboradores (2000). Na forma pseudolamelibrânquia, os filamentos conjugam-se a algumas junções teciduais interfilamentosas não extensas.

Captura de alimento e incorporação de metais

Com uma dieta de partículas heterogêneas e relativamente dispersas na coluna d'água, um mexilhão chega a filtrar 5 L de água por hora (Anandraj *et al.*, 2002) para concentrar em suas brânquias o seu alimento. Como substâncias/elementos potencialmente tóxicos podem estar associados ao MPS, o ganho energético de sua alimentação pode ser comprometido, uma vez que há um desvio de energia para o metabolismo dos contaminantes (Toro *et al.*, 2003).

Os bivalves filtradores podem acumular contaminantes nos seus tecidos em concentrações de 1.000 a 10.000 vezes superior às verificadas na fonte de exposição (UNEP, 2004). Desta forma, os bivalves filtradores são mais expostos a agentes tóxicos presentes no meio que outras espécies. Assim, a adoção destes animais como um modelo biológico para se estimar a exposição da biota a contaminantes, pode ser qualificada como uma opção mais "conservadora" para o monitoramento ambiental.

Dentre as substâncias presentes no ambiente que podem causar efeito tóxico aos organismos, destacamos os elementos da classe dos metais. Isto porque são elementos constitutivos da crosta terrestre, de forma que as formas de vida coevoluíram com estes elementos. As concentrações basais de metais na crosta terrestre são variáveis. O que pode ser representado pelos casos extremos de elementos pouco abundantes como o cádmio ($0,02 \text{ mg.g}^{-1}$), e os mais frequentes como o manganês (600 mg.g^{-1}) (Salomons & Forstner, 1984). Porém, as atividades de origem antrópica têm mobilizado estes elementos em proporção igual ou maior que a ação erosiva (Groot *et al.*, 1976). Apresentaremos em seguida uma breve discussão

sobre as características dos metais, alguns exemplos de participações destes elementos nas organizações biológicas, e como a toxicologia ambiental tem aplicado este conhecimento em estudos de biomonitoramento ambiental com moluscos bivalves.

METAIS

A classe dos metais compreende o maior grupo dos elementos químicos, sendo o termo “metal” referente à característica de boa condutividade elétrica e térmica (Wittmann, 1981).

A água oceânica é considerada como a última etapa do ciclo hidrológico dos metais aonde chega por três vias: contribuição continental pelos rios, entrada atmosférica e fontes hidrotermais (Salomons & Forstner, 1984). Uma vez na coluna d’água, os metais tendem a associar-se ao MPS, que posteriormente, precipita-se e deposita-se no sedimento (Föstner, 1983). Por outro lado, processos de re-mobilização abióticos e/ou bióticos (bioturbação), podem disponibilizar os metais do sedimento novamente para a coluna d’água (Chapman *et al.*, 1998). Assim, o MPS e o sedimento representaram, ao longo do caminho evolutivo dos bivalves, duas vias de exposição aos metais, durante a transição do hábito alimentar de coletor seletivo para suspensívoro filtrador. Desta forma, pode-se propor que houve uma seleção das linhagens que, ou inseriram os metais em suas funções biológicas, ou desenvolveram mecanismos para excreção/detoxificação destes elementos.

Os metais essenciais (micronutrientes), constitutivos de proteínas e enzimas como o zinco (carbopeptidase A e B e anidrase carbônica), são bioacumulados em concentrações extremamente altas (80.000 mg.g⁻¹) em tecidos de ostra (Rebelo *et al.*, 2003), sem que o organismo indique sinal de toxicidade aparente. Já para os metais sem função biológica conhecida, como o cádmio, as elevadas concentrações encontradas estão em três ordens de grandeza abaixo da observada para zinco (30 mg.g⁻¹) (Rebelo *et al.*, 2003).

A formação de grânulos mineralizados no espaço extracelular e intracelular (lâmina basal e lisossomos), e a complexação com metaloproteínas, constitui uma estratégia para a estocagem e/ou detoxificação de metais por bivalves (Marigomez *et al.*, 2002). No caso de estocagem, entende-se que o organismo faça um investimento metabólico para regular a concentração de alguns metais (“reguláveis”), conforme é a sua demanda metabólica de um dado elemento, e a sua biodisponibilidade no ambiente (Depledge & Rainbow, 1990). O zinco pode ser citado como exemplo de metal regulado por bivalves (Regoli & Orlando, 1994), o que

dificulta avaliar a contaminação ambiental através dos dados de bioacumulação deste elemento em bivalves.

Como cada tecido assumiu um papel diferenciado no metabolismo dos metais, a Toxicologia Ambiental irá direcionar suas pesquisas tomando como referência as funções dos órgãos na manipulação destes elementos pelo organismo.

Uma vez que o metal se acumula nos tecidos do organismo, esta concentração expressa uma medida integrada do tempo ao qual o animal ficou efetivamente exposto ao elemento (Bryan *et al.*, 1980). Determinar as concentrações dos contaminantes na biota significa monitorar os níveis da fração “biodisponível” destes nos ecossistemas.

Cinética de Metais nos Moluscos Bivalves

A distribuição dos metais nos tecidos de invertebrados marinhos resulta em uma diferença nas concentrações observadas em cada órgão. Os níveis destes contaminantes também variam de elemento para elemento, ou mesmo entre indivíduos de uma mesma espécie (Depledge & Rainbow, 1990).

Uma vez incorporados aos tecidos dos bivalves, os metais são transportados pelo seu interior para suprir o requerimento dos diferentes tecidos. A hemolinfa é o meio pelo qual esses elementos são carreados pelo corpo do animal. Os metais estão principalmente associados à proteínas citosólicas (Renwranz & Werner, 2007), e dentro de lisossomos dos hemócitos, mas também podem estar diluídos na hemolinfa (Marigomez *et al.* 2002). A concentração de metal observada em uma amostra de hemolinfa pode apresentar correlação significativa e positiva com a da brânquia e a do hepatopâncreas, porém em valores 10 a 20 vezes inferiores (Cherkasov *et al.*, 2007). O aumento no número total de hemócitos, bem como a mudança nas proporções dos tipos celulares (granulócitos e hialinos), já foi relacionado com o efeito à exposição por metal em bivalves (Pipe *et al.*, 1999; Gagnairea *et al.*, 2004).

A concha pode servir como um depósito de metais na forma de grãos amorfos, atingindo concentrações três ordens de grandeza superior à encontrada no meio aquoso (Simkiss, 1993), o que potencializa sua aplicação na biomonitoração ambiental. Apesar de ser pouco utilizada em estudos da dinâmica de metais no ambiente, a concha apresenta algumas vantagens com relação aos tecidos moles dos bivalves: integra as concentrações ambientais dos elementos, uma vez que são depositados nas linhas de crescimento da concha ao longo da vida do animal; quando incorporados a este tecido, os metais são dificilmente mobilizados novamente, o que reduz a variabilidade de suas concentrações; e as amostras

são mais facilmente preservadas e estocadas (Bellotto & Miekeley, 2007).

Há mais de trinta anos já se tem registro da transferência de metais de outros tecidos para o bisso, o que caracteriza este tecido como uma via de excreção destes elementos nos bivalves (George *et al.*, 1976). Constituído de componentes protéicos (colágeno), resíduos de glicina e prolina, o bisso também apresenta sítios de ligação em sua superfície para metais presentes na água (Bdolah & Keller, 1976), o que também possibilita a incorporação destes elementos. Estes aspectos nos auxiliam a interpretar as maiores concentrações de metais (Fe, Cu e Zn) encontradas no bisso em relação aos demais tecidos, observada em estudo prévio (Kádár *et al.*, 2006). Apesar de ser um ponto de acúmulo dos metais, o bisso, como a concha, tem sido alvo de poucos estudos com propósitos de monitoramento ambiental.

O manto é um tecido conjuntivo ligado por um epitélio. A superfície interior é composta por colágeno, células ciliadas, e células secretoras de muco (mucócitos), que são dedicadas ao acúmulo e transporte dos rejeitos da cavidade do manto (Coan *et al.*, 2000). O muco participa na captação de alimento, sendo também uma via de incorporação de metais (Marigomez *et al.*, 2002). A determinação das concentrações destes elementos por microanálise de raios-X em microscopia eletrônica nos grânulos extracelulares, potencializa o uso da biópsia do manto como amostragem não destrutiva das populações de bivalves para monitoração ambiental (Vesk & Byrne, 1999).

Assim como o manto, as brânquias estão em contato direto com os metais presentes no meio circundante, sendo a principal interface para a incorporação destes elementos dissolvidos na água (Viarengo, 1989). Este processo é facilitado pelo muco presente na superfície do tecido, que concentra o metal e favorece a incorporação por um gradiente de difusão. Ao serem incorporados, os metais são ligados à metalotioneína, inseridos em lisossomos, e liberados para a hemolinfa e os hemócitos circulantes (Marigomez *et al.*, 2002). Estas características fazem deste tecido um alvo para se avaliar a bioconcentração relacionada à exposição recente (aguda) (Choi *et al.*, 2007).

O tecido que mais se tem focado para estimar o impacto ambiental é o divertículo digestivo (ou glândula digestiva). Enquanto as brânquias refletem exposições recentes (agudas), a glândula digestiva integra um tempo maior de exposição (crônica) (Hamza-Chaffai *et al.*, 2000), sendo assim o mais recomendável para o biomonitoramento ambiental (Soto *et al.*, 1997).

O músculo também é um tecido de estocagem de metais (Cunningham, 1979), porém em menores proporções (Bustamante & Miramand, 2005; Nørum *et al.*, 2005). Este tecido ganha mais relevância em estudos

toxicológicos, uma vez que o músculo é a parte comestível de moluscos bivalves como o *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), podendo ser um vetor de transferência de contaminantes para os humanos.

Aparatos bioquímicos e moleculares para a manipulação de metais em bivalves

Vias bioquímicas e moleculares viabilizam a distribuição e a compartimentalização de metais incorporados pelos organismos. Diversos parâmetros têm sido adotados como biomarcadores para a exposição de bivalves aos metais em ambientes aquáticos costeiros. Como biomarcadores de exposição, podemos citar: expressão de metalotioneína (MT) (Amiard *et al.*, 2006) e de proteínas de estresse ("heat shock protein") (Moraga *et al.*, 2005).

No Brasil algumas enzimas tem sido empregadas para se caracterizar a resposta bioquímica de bivalves no biomonitoramento de ecossistemas marinhos. Pereira e colaboradores (2007) observaram que a variabilidade das concentrações dos metais em mexilhões *Perna perna* (Linnaeus, 1758) foi o principal parâmetro para se explicar as alterações verificadas na atividade das enzimas catalase, relacionada com a proteção contra radicais oxidativos, a glutathione S-transferase, esta envolvida com a biotransformação de contaminantes, e a colinesterase, que atua na manutenção da atividade do sistema nervoso.

Quantificar a expressão de genes relacionados com o sistema de detoxificação de metais em bivalves, como o da MT, é mais uma ferramenta de que a Toxicologia Ambiental dispõe para rastrear estes contaminantes no ambiente. Com esta, é possível se caracterizar a exposição biológica aos metais, em um tempo mais curto que o necessário para se observar a bioacumulação destes elementos no organismo. Para este propósito, já se tem sequenciado um fragmento do ácido ribonucleioco mensageiro (RNA_m) de MT da chamada ostra do mangue, ou nativa, *Crassostrea rizhophorae* (Guilding, 1828) (Rebelo *et al.*, 2003b).

Paradigmas e perspectivas no uso de bivalves como organismo sentinela

A expressiva expansão do cultivo de moluscos bivalves marinhos abre possibilidade de se consorciar as atividades de malacocultura e monitoramento ambiental, com retorno positivo para ambas as áreas. Os dados gerados pela ecotoxicologia conferem certificado de qualidade ao pescado produzido, e o cultivo provê estrutura logística (ex.: área segura para experimento de campo e organismos com idade conhecida) para o desenvolvimento de pesquisas em diversas áreas.

A produção de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758), conhecido como Vieira ou Coquille de Saint-

Jacques, vem crescendo expressivamente no Estado do Rio de Janeiro, saltando de 0,5 t em 2003 para 15,5 t em 2006. Esta espécie ocorre da região do Caribe até a Ilha de Santa Catarina, e em alguns pontos da África (São Tomé e Príncipe, Golfo do Gabão e Ilha Ascensão) (Rios, 1994). Não encontramos na literatura dados sobre a utilização desta espécie na monitoração ambiental. Desta forma, o crescimento do cultivo desta espécie abre a possibilidade da toxicologia ambiental usá-la como “sentinela”.

As espécies “sentinelas” são aquelas que possibilitam o estabelecimento de uma relação estatística simples entre a concentração encontrada na fonte de contaminantes (sedimento, água, particulado em suspensão, etc.), e a observada em seu tecido. Esta relação informa o “poder de resolução” do sentinela, e permite avaliar em que escala de tempo/espaço a espécie responde à variação das concentrações ambientais dos contaminantes (Beeby, 2001). Então, o foco da discussão em torno do uso de moluscos bivalves como modelo biológico é justamente saber se o poder de resolução da espécie analisada atende os propósitos do estudo. Organismos com baixo poder de resolução não informarão sobre um gradiente de contaminação mais tênue, uma vez que não será possível verificar alterações nas suas concentrações teciduais.

Experimentos do tipo “transplante” constituem uma ferramenta que auxilia na determinação do poder de resolução do organismo. Estes consistem em levar animais de um local para outro, acompanhando a dinâmica das concentrações bioacumuladas e das fontes de exposição. Neste caso, tem-se uma melhor interpretação dos resultados destes experimentos quando se utiliza animais provenientes de cultivo. Isto porque, estes animais apresentam o mesmo *pool* gênico e tempo de exposição (mesma idade), o que favorece uma redução na variabilidade da resposta interindividual.

O programa “Mussel Watch” é bem sucedido em sua proposta, com uma boa abrangência territorial e de contaminantes. As espécies de bivalves utilizadas neste programa não apresentam ocorrência natural na América Latina, e os pontos regularmente monitorados se restringem à América do Norte e Central. Assim, esta experiência deve ser tomada como incentivo para se implementar um programa de biomonitoramento ambiental no âmbito da América Latina.

Vemos que o entendimento da dinâmica dos poluentes nas diferentes condições climáticas do continente Sul Americano é uma importante meta a se alcançar. O primeiro passo neste sentido é se escolher uma(s) espécie(s) com uma ampla ocorrência na região, como *Aulacomya ater* (Molina, 1782), de forma que seja possível avaliar a dispersão continental dos

contaminantes. Para tal, há a necessidade de se padronizar e adequar as metodologias de coleta, extração e determinação dos contaminantes na matriz em questão (molusco bivalve). A elaboração de materiais certificados de referência dentro de um programa destes, em paralelo a realização de exercícios interlaboratoriais para análises de contaminantes, é mais uma etapa a ser realizada. Como frutos deste processo, podemos citar: a acreditação dos laboratórios e validação dos resultados pela própria rede dos participantes do programa; um melhor entendimento da dinâmica ambiental dos contaminantes no continente; e maior segurança no consumo humano de bivalves.

A precisa “calibração” das respostas obtidas das espécies sentinelas utilizadas é essencial para uma consistente intercomparação dos dados encontrados na literatura. Assim, deve-se investir em estudos continuados de longo prazo, avaliando as possíveis variáveis biológicas (ex.: idade, sexo e tempo de exposição) que influenciem na cinética de bioacumulação dos contaminantes pelos bivalves.

REFERÊNCIAS

- Amiard, J. C.; Amiard-Triquet, C.; Barka, S.; Pellerin, J. & Rainbow, P. S. 2006. Metallothioneins in aquatic invertebrates: Their role in metal detoxification and their use as biomarkers. *Aquat Toxicol.* 76: 160-202.
- Anandraj, A., Marshall, D. J., Gregory, M. A. & McClurg, T. P. 2002. Metal accumulation, filtration and O₂ uptake rates in the mussel *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia) exposed to Hg²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺. *Comp Biochem Physiol Part C*: 132: 355-363.
- Bdolah, A. & Keller, P. J. 1976. Isolation of collagen granules from the foot of the sea mussel, *Mytilus californianus*. *Comp Biochem Physiol Part B*: 55: 171-174.
- Beeby, A. 2001. What do sentinels stand for? *Environ Pollut.* 112: 285-298.
- Bellotto, V. R. & Miekeley, N. 2007. Trace metals in mussel shells and corresponding soft tissue samples: a validation experiment for the use of *Perna perna* shells in pollution monitoring. *Anal Bioanal Chem.* 389: 769-776.
- Borghetti, N. R. B., Ostrensky, A. & Borghetti, J. R. 2003. AQUICULTURA – Uma visão Geral Sobre a Produção de Organismos Aquáticos no Brasil e no Mundo. Curitiba, 129 p
- Brooks, R. R. & Rumsby, M. G. 1967. Studies on the uptake of cadmium by the oyster, *Ostrea sinuata* (Lamarck). *Aust J Mar Fresh Res.* 15: 53-61.
- Bryan, G. W., Langston, W. J. & Hummertone, L. G. 1980. The use of biological indicators of heavy metal

- contamination in estuaries: with special reference to an assessment of biological availability of metals in estuarine sediments from south-west Britain. Occ. Publ. Mar. Biol. Ass. UK. 1: 1-73.
- Bustamante, P. & Miramand, P. 2005. Evaluation of the variegated scallop *Chlamys varia* as a biomonitor of temporal trends of Cd, Cu, and Zn in the field. Environ Pollut. 138: 109-120.
- Chapman, P. M., Wang, G. F., Janssen, C., Perssone, G. & Allen, H. E. 1998. Ecotoxicology of Metals in Aquatic Sediments: binding and release, bioavailability, risk assessment and remediation. Can J Fish Aquat Sci. 55: 2221-2243.
- Cherkasov, A. S., Grewal, S. & Sokolova, I. M. 2007. Combined effects of temperature and cadmium exposure on haemocyte apoptosis and cadmium accumulation in the eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin). J Therm Biol. 32: 162-170.
- Choi, H. J., Ji, J., Chung, K.-H. & Ahn, I.-Y. 2007. Cadmium bioaccumulation and detoxification in the gill and digestive gland of the Antarctic bivalve *Laternula elliptica*. Comp Biochem Physiol Part C: 145: 227-235.
- Coan, E. V., Valentich-Scott, P., Bernard, F. R. & Sadeghian, P. S. 2000. Introduction. In: E. V. COAN, P. V. SCOTT, *et al* (ed.) Bivalve Seashells of Western North America - Marine Bivalve Mollusks from Arctic Alaska to Baja California. Santa Barbara Museum of Natural History. 9-40 pp.
- Cunningham, P. A. 1979. The use of bivalve mollusks in heavy metal pollution research. In: W. C. VERNBERG, A. CALABRESE, *et al* (ed.) Marine pollution: functional responses. Academic Press Inc. 183-221 pp.
- Depledge, M. H. & Rainbow, P. S. 1990. Models of regulation and accumulation of trace metals in marine invertebrates. Comp Biochem Physiol Part C: 97: 1-7.
- FAO. World aquaculture production of fish, crustaceans, molluscs, etc., by principal species in 2006. <ftp://ftp.fao.org/fi/stat/summary/a-6.pdf>. 2009.
- Föstner, U. 1983. Metal transfer between solid and aqueous phases. In: U. FORSTNER e G. T. W. WITTMANN (ed.) Metal Pollution in the Aquatic Environment. Springer-Verlag. 197-269 pp.
- Gagnairea, B., Thomas-Guyonb, H. & Renault, T. 2004. In vitro effects of cadmium and mercury on Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg), haemocytes. Fish Shellfish Immun. 16: 501-512.
- George, S. G., Pirie, B. J. S. & Coombs, T. L. 1976. The kinetics of accumulation and excretion of ferric hydroxide in *Mytilus edulis* (L.) and its distribution in the tissues. J Exp Mar Biol Ecol. 23: 71-84.
- Goldberg, E. D. 1975. The mussel watch — A first step in global marine monitoring. Mar Pollut Bull. 6: 111.
- Groot, A. J., Salomons, W. & Allersma, E. 1976. Processes Affecting Heavy Metals in Estuarine Sediments. In: J. D. BURTON e P. S. LISS (ed.) Estuarine Chemistry. Academic Press. 131-153 pp.
- Hamza-chaffai, A., Amiard, J. C., Pellerin, J., Joux, L. & Berthet, B. 2000. The potential use of metallothionein in the clam *Ruditapes decussatus* as a biomarker of in situ metal exposure. Comp Biochem Physiol. 127: 185-197.
- Kádár, E., Costa, V., Santos, R. S. & Powell, J. J. 2006. Tissue partitioning of micro-essential metals in the vent bivalve *Bathymodiolus azoricus* and associated organisms (endosymbiont bacteria and a parasite polychaete) from geochemically distinct vents of the Mid-Atlantic Ridge. J Sea Res. 56: 45-52.
- Kehrig, H. D. A., Costa, M., Moreira, I. & Malm, O. 2001. Methylmercury and total mercury in estuarine organisms from Rio de Janeiro, Brazil. Environ Sci Pollut R. 8: 275-279.
- Marigomez, I., Soto, M., Cajaraville, M. P., Angulo, E. & Giamberini, L. 2002. Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. Micros Res Techniq. 56: 358-392.
- Moraga, D.; Meistertzheim, A.; Tanguy-Royer, S.; Boutet, I.; Tanguy, A. & Donval, A. 2005. Stress response in Cu²⁺ and Cd²⁺ exposed oysters (*Crassostrea gigas*): An immunohistochemical approach. Comp Biochem Physiol Part C: 141: 151-156.
- Nørum, U., Lai, V. W.-M. & Cullen, W. R. 2005. Trace element distribution during the reproductive cycle of female and male spiny and Pacific scallops, with implications for biomonitoring. Mar Pollut Bull. 50: 175-184.
- Pereira, C. D. S., Abessa, DmDsBainy, A. C. D.; Zaroni, L. P.; Gasparro, M. R.; Bicego, M. C.; Taniguchi, S.; Furley, T. H. & de Sousa, E. C. M. 2007. Integrated assessment of multilevel biomarker responses and chemical analysis in Mussels from Sao Sebastiao, Sao Paulo, Brazil. Environ Toxicol Chem. 26: 462-469
- Phillips, D. J. H. 1995. The fate chemistries and environmental fates of trace metals and organochlorines in aquatic ecosystems. Mar Pollut Bull. 31: 193-200.
- Pipe, R. K., Coles, J. A., Carissan, F. M. M. & Ramanathan, K. 1999. Copper induced immunomodulation in the marine mussel, *Mytilus edulis*. Aquat Toxicol. 46: 43-54.
- Purchon, R. D. 1968. Feeding methods and evolution in the bivalvia. In: G. A. KERKUT (ed.) The biology of the Mollusca. Pergamon Press. 102-145 pp.
- Rainbow, P. S. 2002. Trace metals concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? Environ Pollut. 120: 497-507.

- Rebello, M. d. F., do Amaral, M. C. R. & Christian Pfeiffer, W. 2003. High Zn and Cd accumulation in the oyster *Crassostrea rhizophorae*, and its relevance as a sentinel species. *Mar Pollut Bull.* 46: 1354-1358.
- Rebello, M. F.; Pfeiffer, W. C.; da Silva, H. & Moraes, M. O. 2003b. Cloning and detection of metallothionein mRNA by RT-PCR in mangrove oysters (*Crassostrea rhizophorae*). *Aquat Toxicol.* 64: 358-362.
- Regoli, F. & Orlando, E. 1994. Seasonal-Variation of Trace-Metal Concentrations in the Digestive Gland of the Mediterranean Mussel *Mytilus-Galloprovincialis* - Comparison between a Polluted and a Non-Polluted Site. *Arch Environ Con Tox.* 27: 36-43.
- Renwranz, L. & Werner, I. 2007. Origin of a Metal-Binding Protein in Serum of *Mytilus Edulis*. *J Moll Stud Advance Access.* 2: 1-7.
- Rios, E. C. 1994. Seashell of Brazil. 7^o Edição: Fundação Universidade do Rio Grande, Museu Oceanográfico Prof. E.C. Rios, Rio Grande, 432 p
- Ruppert, E. E. 1996. Zoologia dos Invertebrados. 6^o Edição: Roca, São Paulo, 1029 p
- Salomons, W. & Forstner, U. 1984. Metals in the Hydrocycle. 2^o Edição: Springer-Verlag, Berlin, 486p.
- Simkiss, K. 1993. Amorphous minerals in biology. *Bull. Inst. Oceanogr.* 14: 49-54.
- Soto, M., Ireland, M. P. & Marigomez, I. 1997. The contribution of metal/shell-weight index in target-tissues to metal body burden in sentinel marine molluscs 2. *Mytilus galloprovincialis*. *Sci Total Environ.* 198: 149-160.
- Toro, B., Navarro, J. M. & Palma-Fleming, H. 2003. Relationship between bioenergetics responses and organic pollutants in the giant mussel, *Choromytilus chorus* (Mollusca: Mytilidae). *Aquat Toxicol.* 63: 257-269.
- UNEP. 2004. Guidance for a Global Monitoring Programme for Persistent Organic Pollutants. Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. Geneva, Switzerland.
- Vesk, P. A. & Byrne, M. 1999. Metal levels in tissue granules of the freshwater bivalve *Hyridella depressa* (Unionida) for biomonitoring: the importance of cryopreparation. *Sci Total Environ.* 225: 219-229.
- Viarengo, A. 1989. Heavy metals in marine invertebrates: Mechanisms of regulation and toxicity at cellular level. *Rev. Aquat. Sci.* 1: 295-317.
- Ward, J. E., Levinton, J. S., Shumway, S. E. & Cucci, T. 1998. Particle sorting in bivalves: in vivo determination of the pallial organs of selection. *Marine Biology.* 131: 283-292.
- Wittmann, G. T. W. 1981. Toxic Metals. In: W. FORSTNER e G. T. W. WITTMANN (ed.) *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag. 3-68 pp.

Received: July 23, 2009
Accepted: November 27, 2009