



Determinação da Bioacumulação de Cobre em *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819)

**Domingues, Nuno nº 24178; Olejua, Alejandro nº 23448; Viana, Mafalda nº 23608;
Vieira, Teresa nº 24124.**

Resumo: Os poluentes são acumulados nos organismos nos tecidos ao longo do tempo (bioacumulação), podendo atingir valores de concentrações tóxicos para os organismos. Com este trabalho experimental pretendeu-se testar a toxicidade do cobre por bioacumulação em *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), medindo-se para esse efeito a mortalidade a várias concentrações do tóxico ao longo do tempo, e determinando-se a concentração do cobre nos tecidos por espectrofotometria de absorção atômica (AAS). Concluiu-se que *M. Galloprovincialis* é uma espécie bioindicadora para o cobre, pois a sua acumulação está correlacionada com a concentração disponível no meio.

1. Introdução

Os poluentes são acumulados nos tecidos ao longo do tempo (bioacumulação), de tal forma que podem atingir níveis considerados perigosos para os organismos (Abel, 1989). A contaminação por metais pesados altera a fisiologia dos organismos, já que afecta aspectos importantes do metabolismo celular, como as funções mitocondriais, actividade lisossomal, enzimas do metabolismo intermediário e alterações na arquitectura das células (Silva, 1997). Assim, tendo em conta que muitos organismos aquáticos são utilizados para consumo humano, a importância das substâncias tóxicas acumuladas nos tecidos é muito grande para a saúde pública (Abel, 1989).

A biomonitorização de descargas de metais tem sido elaborado usando organismos sedentários com uma vasta distribuição geográfica e que acumulem metais de forma representativa das condições ambientais (Machado et al., 1999). Deste modo, os bivalves são muito conhecidos como bioindicadores de poluição por metais pesados das zonas costeiras porque sabe-se que acumulam estes elementos, expondo ainda uma indicação de tempo da contaminação ambiental (Otchere, 2003). Em comparação com

peixes e crustáceos, os bivalves têm um nível de actividade enzimática muito baixo capaz de metabolizar poluentes orgânicos (Otchere, 2003), assim as concentrações dos contaminantes nos tecidos dos bivalves nomeadamente os *Mytilus galloprovincialis* (Machado *et al.*, 1999) reflectem a magnitude da contaminação ambiental (Phillips, 1977, 1980, 1990 in Otchere, 2003).

A concentração de metais nos moluscos parece, inicialmente, relacionado apenas com a biodisponibilidade e tempo de exposição (Mauri & Baraldi, 2003), contudo também varia com outros factores como tamanho, taxa de crescimento, sexo, condições de reprodução, posição na zona do intertidal, salinidade e a presença de outros poluente no meio (Phillips, 1976a,b; Boyden, 1977; Cossa *et al.*, 1980; Lobel and Wright, 1982; Popham and D'Auria, 1983 in Mauri & Baraldi, 2003).

O cobre (Cu) é um dos metais mais importantes do ponto de vista da poluição aquática (Hamza-Chaffai *et al.*, 1998). É um elemento essencial para os organismos, nos tecidos normalmente sob a forma catião bivalente, contudo tóxico em concentrações elevadas, de tal modo que são usados como algicidas ou na agricultura (Hamza-Chaffai *et al.*, 1998). Na água do mar, a concentração de cobre pode variar de 1 a 20 µg/L. Em águas costeiras são encontradas concentrações superiores a 1 mg/L, no entanto, em áreas poluídas é frequente ultrapassar o valor de 11 mg/L (Machado, 1995). Os desperdícios industriais e domésticos são as principais fontes de cobre (Abel, 1989).

Este trabalho prático teve como objectivo verificar a bioacumulação do composto metálico sulfato de cobre nos tecidos dos mexilhões, *Mytilus galloprovincialis* e determinar de que modo este processo é influenciado pela concentração de exposição ao composto.

2. Material e Métodos

Conjuntos de 5 mexilhões *Mytilus galloprovincialis* de tamanho uniforme, foram expostos durante 3 dias, em aquários de 4L de água do mar, a concentrações de sulfato de cobre crescentes: 0; 0,3; 1; 3; 10; 30 mg/L.

De modo a determinar a incorporação do sulfato de cobre nos tecidos dos mexilhões, retirou-se a parte edível dos mesmos e recorrendo a um almofariz, macerou-se, isoladamente, cerca de três indivíduos por concentração até se adquirir uma pasta homogénea com não mais de 8g por concentração de exposição (peso foi registado).

As pastas obtidas foram colocadas em copos de vidro e adicionou-se em cada um 4 mL de ácido nítrico a 65%. Posteriormente, os copos foram colocados numa placa quente, a aproximadamente 80° C, até se obter um resíduo seco de tom amarelo. Antes deste ter sido alcançado foi necessário adicionar mais cerca 6mL, no máximo.

Para a retoma do resíduo utilizou-se 10mL de ácido nítrico a 5%, por concentração, e o líquido obtido foi transferido para balões volumétricos de 25 mL onde se fez o restante volume com ácido nítrico a 5%.

Por último para determinação da concentração de metal bioacumulada nos tecidos, utilizou-se um espectrofotómetro de absorção atómica (AAS), com atomização em chama. A concentração foi então conhecida a partir das absorvâncias da recta de calibração, obtida através de soluções padrão.

3. Resultados

A percentagem de organismos mortos durante a experiência está representada na figura 1. No controlo sobreviveram todos os 5 organismos, enquanto para 1 mg/l morreu 1. As mortalidades mais elevadas corresponderam às concentrações de exposição de 10 e 30 mg/l (40%). Como as mortalidades no controlo não atingiram os 10%, então o teste é válido.

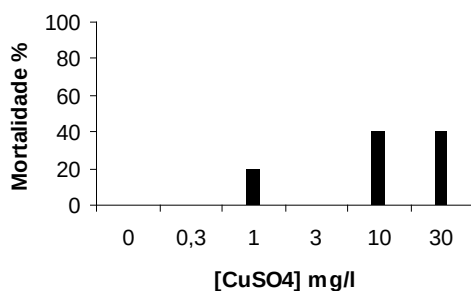


Figura 1 – Mortalidade, em percentagem, de *Mytilus galloprovincialis*, expostos a diferentes concentrações de CuSO₄.

Os resultados da concentração de cobre nos tecidos edíveis de *M. galloprovincialis*, expostos a diferentes concentrações de CuSO₄ (0, 0.3, 1, 3, 10, 10 mg/l), encontram-se representados na figura 2.

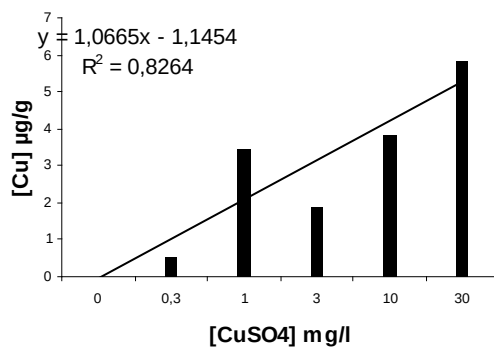


Figura 2 – Concentração de Cu, em µg/g peso húmido, em *Mytilus galloprovincialis*, expostos a diferentes concentrações de CuSO₄.

As concentrações de cobre encontradas nos tecidos variaram entre 0,0249 e 5,8125 µgCu/g peso húmido, correspondendo a primeira concentração ao controlo e a última aos organismos expostos à concentração maior (30 mg CuSO₄/l). A concentração de cobre nos tecidos edíveis aumentou em função da concentração de exposição, excepto para a concentração de 1 mg/l de CuSO₄, em que foi observada uma maior bioacumulação do que na concentração de 3 mg/l. A análise da correlação linear entre as concentrações de exposição e a bioacumulação indicam que existe uma boa correlação ($R^2 = 0,8264$).

4. Discussão

A análise dos resultados revela que as concentrações de cobre nos tecidos edíveis de *M. galloprovincialis* e a concentração presente no meio, estão linearmente correlacionadas. Os metais são incorporados nos invertebrados marinhos e acumulados nos seus tecidos em concentrações superiores àsquelas existentes no ambiente circundante (Morgado, 2001). A elevada sensibilidade e bioacumulação de metais por parte dos moluscos é devida à sua fraca habilidade em regular a concentração de metais nos seus tecidos, mas o cobre pode ser facilmente eliminado pelos mexilhões (Morgado & Bebianno, 2005).

No entanto, a bioacumulação correspondente à concentração de 1 mg/l de CuSO₄ observada foi maior à concentração esperada. Tendo em conta que foram utilizados organismos do mesmo tamanho, pensa-se que a taxa de bioacumulação tenha sido sobrestimada devido à proporção dos diferentes tecidos utilizados para medir a bioacumulação. Segundo Zorita *et al.* (2006) a taxa de bioacumulação de cobre medida em *M. galloprovincialis* é maior na glândula digestiva do que nos outros tecidos. Desta

forma a amostra poderia conter uma maior proporção de tecido da glândula digestiva, na qual existiria para além da concentração bioacumulada uma fracção de cobre ingerido, que poderia ser excretada sem chegar a ser bioacumulada. O valor pode também ter sido sobrestimado, devido à presença de água na amostra, no caso desta não ter sido devidamente descongelada. Assim a concentração de cobre calculado corresponderia à fracção bioacumulada mais a fracção presente na água.

Foi observado que à medida que a concentração de CuSO_4 no meio aumentou a bioacumulação foi maior, pelo que é possível afirmar que *M. galloprovincialis* integra as condições do seu meio envolvente, revelando a biodisponibilidade deste metal no seu habitat. Esta capacidade de bioacumulação observada em *M. galloprovincialis*, e outras espécies de mexilhões, tem sido utilizada nas últimas décadas, por diferentes programas, de modo a avaliar a contaminação de ecossistemas marinhos, em que os mexilhões são utilizados como organismos sentinela, entre estes o programa *Mussel Watch* (Morgado & Bebianno, 2005).

Tendo em conta que nesta experiência, de modo a medir a bioconcentração, foram utilizados todos os tecidos edíveis em conjunto (brânquias, glândula digestiva, gónadas e outros), não foi feita a análise da relação entre tipo de tecido e bioacumulação. Uma vez que a bioacumulação de metais pode variar em função do tecido (Ferreira, 1994), propõem-se um estudo futuro que tenha em conta este factor, de modo a avaliar a importância ecotoxicológica dos diferentes tecidos.

5. Referências Bibliográficas

Abel P. D. (1989) *Water Pollution Biology*, Ellis Horwood Limited 231pp.

Clark R. B. (1997) *Marine Pollution*, 4ª Ed. Clarendon Press – Oxford 161 pp.

Ferreira, C.A (1994) Determinação de Níveis de Cd, Fe e Mn Nos Tecidos de Mexilhões, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), Provenientes Do Estuário do Rio Guadiana. Relatório de estágio de licenciatura em Biologia Marinha e Pescas, Universidade do Algarve, Faro, 51 pp.

Hamza-Chaffai A., Roméo M., Gnassia-Barelli M., El Abed A. (1998) Effect of Copper and Lindane on Some Biomarkers Measured in the Clam *Ruditapes decussatus*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **61**:397-404.

Machado, L.M. (1995) Estudo dos Níveis de Alguns Metais Pesados ao Longo da Costa Algarvia em Mexilhões, *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), Relatório de estágio de licenciatura em Biologia Marinha e Pescas, Universidade do Algarve, Unidade de Ciências e Tecnologias dos Recursos Aquáticos, Faro.

Machado L. M., Bebianno M. J., Boski T., Moura D. M. (1999) Trace metals on the Algarve coast, II: Bioaccumulation in mussels *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819), *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* **15** (1-4): 465-471.

Mauri M., Baraldi E. (2003) Heavy Metal Bioaccumulation in *Mytilus galloprovincialis*: a Transplantation Experiment in Venice Lagoon, *Chemistry and Ecology*, **19**(2–3): 79–90.

Morgado, M.E. (2001) "Mussel Watch" na Ria Formosa. Relatório de estágio de licenciatura em Biologia Marinha e Pescas, Universidade do Algarve, Faro, 55 pp.

Morgado, M.E.; Bebianno, M.J. (2005) *A Mussel Watch in the Ría Formosa Lagoon*, *Ciencias Marinas* **31**: 231-241.

Otchere F.A. (2003) Heavy Metals Concentrations and Burden in the Bivalves (*Anadara (Senilia) senilis*, *Crassostrea tulipa* and *Perna perna*) from Lagoons in Ghana: Model to Describe Mechanism of Accumulation/Excretion, *African Journal of Biotechnology*, **2**(9): 280-287.

Silva, D.A. (1997) Efeito do Cobre em Peixes (*Halobatrachus didactylus*) e Moluscos (*Crassostrea angulata*): Quantificação e Efeitos Histopatológicos, Relatório de Estágio de Biologia Marinha e Pescas da Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências do Mar e Ambiente.

Zorita I., Ortiz-Zarragoitia M., Soto M., Cajaraville M. P. (2006) Biomarkers in mussels from a copper site gradient (Visnes, Norway): An integrated biochemical, histochemical and histological study, *Aquatic Toxicology* **78**: 109–116.

6. Anexos

Tabela 1 - Concentrações de Cu no tecido edível, concentração de retoma por (AAS) e concentrações de CuSO_4 e peso húmido utilizados:

[CuSO ₄] (mg/l)	[Retoma] [*] (mg/l)	Peso húmido (g)	[Cu] tecido edível (µg/g) [*]
0	0,008	8,03	0,025
0,3	0,155	7,50	0,517
1	0,926	6,70	3,455
3	0,6	8,00	1,875
10	1,152	7,50	3,840
30	1,86	8,00	5,813

* [Cu] tecido edível (µg/g) = ([Retoma] * 25 ml / 1000 ml) / (Peso húmido)

* [Retoma] = Concentração de Cu obtida por (AAS), com atomização em chama em forno de grafite.