

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E QUALIDADE DOS
MOLUSCOS BIVALVES ATRAVÉS DO MONITORAMENTO
MICROBIOLÓGICO E GENÉTICO

ANA CLEUSA SANTANA DALTRO

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

MAIO – 2013

**ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E QUALIDADE DOS
MOLUSCOS BIVALVES ATRAVÉS DO MONITORAMENTO
MICROBIOLÓGICO E GENÉTICO**

ANA CLEUSA SANTANA DALTRO

Médica Veterinária

Universidade Estadual de Santa Cruz, 2007

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Norma Suely Evangelista-Barreto

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a. Soraia Barreto Aguiar Fonteles

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

MAIO – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

D152a

Daltro, Ana Cleusa Santana.

Aspectos socioeconômicos e qualidade dos molucos bivalves através do monitoramento microbiológico e genético / Ana Cleusa Santana Daltro. Cruz das Almas, BA, 2013. 117f.; il.

Orientadora: Norma Suely Evangelista Barreto.

Coorientadora: Soraia Barreto Aguiar Fonteles.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.

1. Alimentos – Bivalves. 2. Bivalves – Microbiologia. 3. Aspectos sociais. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

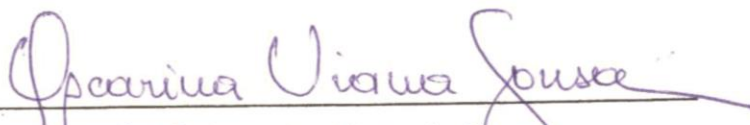
Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ANA CLEUSA SANTANA DALTRO



Profª Drª. Norma Suely Evangelista Barreto
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB
(Orientadora)



Profª Drª. Oscarina Viana de Sousa
Universidade Federal do Ceará – UFC



Prof. Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
MAIO – 2013

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho principalmente a Deus, aos amigos de luz, a minha família, ao meu namorado, aos meus amigos e colegas, enfim, a todas as pessoas que estiveram ao meu lado durante este curso.

AGRADECIMENTOS

A Deus, sempre! Que possibilitou o transpor de tantos obstáculos e representou a minha fortaleza, meu tudo, principalmente nos momentos mais difíceis.

A minha mãe, por ser incansável em seu zelo, em seu amor, por ser a pessoa mais importante em minha vida. Obrigada por ser minha mãe! A minha família, especialmente a minha irmã Pâmela, vocês são minha base, obrigada pelo apoio.

Ao meu namorado Leonardo, pelas tantas vezes que procurou compreender minha ausência ao seu lado e ainda assim, me acolhia, acolhe e ama. Você faz parte do meu coração, te amo. A sua família, agradeço o apoio e todo o auxílio.

Aos meus amigos queridos do Obreiros da Fraternidade, principalmente a Marcos Paulo, obrigada por ter me escutado sempre que eu necessitava, por ter me dado apoio, conselhos, broncas, por ter me feito rir das suas piadas, obrigada pela sua amizade! Ao Grupo Estrela Guia, Luz e Caridade, obrigada pelo apoio, por sempre me receber de braços abertos!

As amigas e colegas do NEPA, que fizeram parte da minha vida tão intensamente durante estes dois anos, Irana e Sandra, obrigada pelo auxílio e pela amizade de vocês! Carla, Aliane, André, Adriana Pereira, Marly, Jeferson, Margarete, Camila, Rebeca, Gleyde, Lais, Wilma, Patricia, Gustavo, obrigada pela ajuda no laboratório, pela convivência, pelas conversas. Agradeço a Leon pela foto cedida e a Jackson pela elaboração do mapa.

A minha orientadora, a Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto, agradeço a atenção, a paciência, a compreensão e a disponibilidade, principalmente a oportunidade de ter sua orientação e trabalhado com a senhora, isso me fez crescer como ser humano e profissional. Desejo mais sucesso!

A minha co-orientadora, a Prof^a. Dr^a. Soraia Barreto Aguiar Fonteles, pela disposição em ajudar e esclarecer, bem como pela paciência e interesse.

Às meninas que trabalham ou trabalhavam no NEPA, Beatriz, Fátima, Dona Clarisse e Ana Paula, agradeço pelas conversas, pelo entendimento, por ter convivido um pouco com vocês, pois, realmente, vocês são pessoas maravilhosas e especiais.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
INTRODUÇÃO	01
Capítulo 1	05
REVISÃO DE LITERATURA	05
Capítulo 2	
PERFIL SOCIOECONÔMICO DOS PESCADORES E MARISQUEIRAS DE SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA	22
Capítulo 3	
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS MOLUSCOS BIVALVES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA	49
Capítulo 4	
VARIABILIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES DE OSTRAS COLETADAS NO ESTUÁRIO DO RIO SUBAÉ, SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA	72

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPITULO 2	
Tabela 1. Índices socioeconômicos dos entrevistados de São Francisco do Conde – BA, no ano de 2012.	29
Tabela 2. Índices socioeconômicos relacionados à renda dos pescadores e marisqueiras de São Francisco do Conde – BA, no ano de 2012.	33
Tabela 3. Índices socioeconômicos relacionados às condições de moradia dos entrevistados de São Francisco do Conde – BA, no ano de 2012.	34
Tabela 4. Perfil dos aspectos de saúde pública dos entrevistados no município de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.	36
Tabela 5. Índices de saúde pública relacionados ao consumo de pescado dos entrevistados do município de São Francisco do Conde – Bahia no ano de 2012.	40
Tabela 6. Percepção sobre o ambiente dos entrevistados do município de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.	42
Tabela 7. Percentagem de entrevistados e sua respectiva opinião sobre a quantidade de pescado capturado na região de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.	43
CAPITULO 3	
Tabela 1. Esquema para identificação das espécies de <i>Enterococcus</i> sp.	56
Tabela 2. Quantificação de coliformes a 35°C, a 45°C, <i>Enterococcus</i> sp. e presença de <i>Salmonella</i> sp. em amostras de ostra e sururu in natura coletadas no município de São Francisco do Conde – Bahia, durante o período de outubro de 2010 a janeiro de 2012.	59
Tabela 3. Classificação dos moluscos bivalves extraídos no estuário	60

do rio Subaé, São Francisco do Conde – Bahia, conforme Instrução Normativa Interministerial (PNCMB) (BRASIL, 2012)

Tabela 4. Quantificação de coliformes a 35°C, a 45°C, *Enterococcus* sp. e presença de *Salmonella* sp. em amostras de sururu processado coletadas no município de São Francisco do Conde – Bahia, durante o período de outubro de 2010 a janeiro de 2012. 63

CAPITULO 4

Tabela 1. Georreferenciamento dos pontos de coleta dos espécimes amostrados no estuário do rio Subaé, São Francisco do Conde - Bahia, durante o período de outubro de 2010 a janeiro de 2012. 77

Tabela 2. Distância entre os pontos de coleta de ostras no estuário do rio Subaé no município de São Francisco do Conde – Bahia. 78

Tabela 3. Indivíduos amostrados por ponto de coleta no estuário do rio Subaé, no município de São Francisco do Conde – Bahia. 80

Tabela 4. Programa de amplificação do DNA para o *primer* (GGAT)₄ 81

Tabela 5. Programa de amplificação do DNA para o *primer* (GGAC)₄ e (AACC)₄ 81

Tabela 6. Programa de amplificação do DNA para o *primer* (GACA)₄ 81

Tabela 7. Relação dos grupos de indivíduos coletados no estuário do rio Subaé, no município de São Francisco do Conde, definidos pela matriz de agrupamento dos dados quantitativos. 89

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO	Página
Figura 1. Produção de pescado (t) marinho por região brasileira no ano de 2010 (BRASIL, 2012).	08
CAPITULO 2	
Figura 1. Localização geográfica da cidade de São Francisco do Conde na Baía de Todos os Santos, Bahia.	26
Figura 2. Colônia de pescadores Z-05 do município de São Francisco do Conde – Bahia.	28
Figura 3. Percentual do local de nascimento dos entrevistados em São Francisco do Conde – Bahia.	29
CAPITULO 3	
Figura 1. Percentual de espécies de <i>Enterococcus</i> spp. Identificadas em amostras de ostras, sururu in natura e processado coletadas no município de São Francisco do Conde – Bahia.	65
CAPITULO 4	
Figura 1. Mapa do município de São Francisco do Conde – Bahia, com os pontos de coleta das ostras.	78
Figura 2. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (GCAT) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.	84
Figura 3. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (GCAT) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.	84
Figura 4. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (GGAC) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.	85

Figura 5. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (GGAC) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.	85
Figura 6. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (AACC) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.	86
Figura 7. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (AACC) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.	86
Figura 8. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (GACA) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.	87
Figura 9. Produto da amplificação de DNA utilizando o <i>primer</i> (GACA) ₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.	87
Figura 10. Dendrograma construído com base nas medidas de dissimilaridades genéticas de dados moleculares de 46 indivíduos de <i>Crassostrea</i> sp. obtido pelo método UPGMA com base na distância generalizada de Jaccard.	88

ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E QUALIDADE DOS MOLUSCOS BIVALVES ATRAVÉS DO MONITORAMENTO MICROBIOLÓGICO E GENÉTICO

Autor: Ana Cleusa Santana Daltro

Orientador: Prof^a Dr^a. Norma Suely Evangelista-Barreto

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a. Soraia Barreto Aguiar Fonteles

Resumo: Objetivou-se delinear o perfil dos pescadores e marisqueiras do município de São Francisco do Conde, bem como analisar a qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp.), sururu in natura e sururu processado (*Mytella guyanensis*) extraídos do estuário do rio Subaé e comercializados no mercado municipal, além da caracterização genética das ostras de mangue. Foram entrevistadas 31 pessoas, 29% mulheres e 71% homens, a maioria com idade variando entre 30 a 50 anos, baixo nível de escolaridade, moradia própria com energia elétrica, água, esgotamento sanitário e coleta pública de lixo. O sistema de saúde pública, hospital e/ou posto de saúde é utilizado por 41,9% e 93,5% dos entrevistados. Casos de diarreia foram relatados em 10% dos adultos e 14% das crianças. Preocupação com a preservação ambiental foi observado em 100% dos entrevistados, enquanto 97% vêem a necessidade de realização de projetos ambientais nos rios da cidade. Os moluscos analisados apresentam alta carga microbiana com valores de coliformes a 35°C de 10^3 a $>10^8$ NMP.g⁻¹, a 45°C de 10^2 a 10^7 NMP.g⁻¹, *Enterococcus* sp. $<3,0$ a $>10^5$ NMP.g⁻¹ e presença de *Escherichia coli* (64%) e *Salmonella* sp (22%). No estudo molecular foi observado elevada variabilidade genética entre os indivíduos de ostras, favorecendo a atividade de ostreicultura na região. Os moluscos coletados apresentaram baixa qualidade microbiológica, podendo servir de veículo para surtos alimentares. Este fato é preocupante uma vez que a atividade de mariscagem serve de fonte de renda para a população. A elevada variabilidade genética dos indivíduos é fator decisivo na adaptação dos indivíduos ao habitat.

Palavras-chave: micro-organismos, perfil socioeconômico, variabilidade genética, *Salmonella*.

SOCIO-ECONOMIC ASPECTS AND QUALITY OF BIVALVE MOLLUSCS THROUGH MONITORING MICROBIAL AND GENETIC

ABSTRACT: This study aimed to define the profile of fishermen and shellfish collectors woman in São Francisco do Conde, as well as analyze the microbiological quality of oysters (*Crassostrea* sp.), fresh mussels and mussels processed (*Mytella guyanensis*) extracted estuary of the Subaé river and marketed in the municipal market and genetic characterization of mangrove oysters. 31 people were interviewed, 29% women and 71% men, most aged between 30 to 50 years, low level of education, proper housing with electricity, water, sewage and trash public collection. The public health system, hospital and / or health center is used by 41.9% and 93.5% of respondents. Cases of diarrhea were reported in 10% of adults and 14% of children. Concern for environmental preservation was observed in 100% of respondents, while 97% see the need to conduct environmental projects in the city rivers. Molluscs analyzed showed high microbial load values of coliforms at 35°C of 10^3 to $>10^8$ NMP.g⁻¹, 45 °C of 10^2 to 10^7 NMP.g⁻¹, *Enterococcus* sp. $<3,0$ to $>10^5$ NMP.g⁻¹ and presence of *Escherichia coli* (64%) and *Salmonella* sp. In the molecular study observed high genetic variability among oyster individuals, favoring the activity of oyster farming in the region. Molluscs collected presented low microbiological quality and can serve as a vehicle for outbreaks. This is alarming since the activity of shellfish serves as a source of income for the population. The high genetic variability of subjects is a decisive factor in the adaptation of individuals to habitat.

Keywords: micro-organisms, socioeconomic profile, genetic variability, *Salmonella*.

1. INTRODUÇÃO

Na região da Baía de Todos os Santos, na costa da Bahia, uma grande parcela da população sobrevive do extrativismo de moluscos e crustáceos, os quais representam um dos grupos de maior relevância econômica (BISPO et al., 2004). A coleta desses animais se constitui na principal fonte de renda das famílias ou complementa a renda oriunda de atividades assalariadas (ARAÚJO et al., 2009).

No Brasil, a maioria do pescado consumido é proveniente da pesca artesanal (SILVA, 2009; FUZETTI; CORREA, 2009). O pescador artesanal constitui-se naquele que utiliza a pesca para a sua subsistência e de sua família, e determina a comercialização de uma parte do pescado a terceiros. Ao contrário da pesca industrial, esta atividade procura se manter em harmonia com os limites impostos pelo ecossistema, já que se fundamenta em técnicas primárias de captura, extraindo uma espécie por vez, consistindo em uma atividade muito menos impactante ao ambiente natural (SILVA; ANDRADE, 2010).

A principal ameaça à sustentabilidade dos recursos marinhos e costeiros é o crescente aumento da pressão antrópica, acarretando na sobre-exploração das espécies e conseqüentemente destruição dos habitat's (HOGUANE, 2007).

A produção e a emissão de poluentes são normalmente causadas por assentamentos humanos, uso e intervenções dos recursos, por meio, das atividades agrícolas, de construções e urbanização, do desenvolvimento industrial e do turismo (ISLAM; TANAKA, 2004). Os esgotos, resultantes dessa ação antrópica, são um dos principais responsáveis pela descarga de resíduos no ambiente marinho, podendo carrear micro-organismos patogênicos, substâncias tóxicas, metais pesados e tantos outros resíduos orgânicos e inorgânicos (JUSTINO, 2009).

Os moluscos bivalves presentes neste ambiente refletem diretamente essas condições, devido a sua capacidade filtrante, a qual retém micro-organismos

patogênicos como bactérias, vírus e protozoários, que podem posteriormente ser encontrados em altas concentrações no seu intestino (LAU et al., 1998; BATISTA et al., 2010). Além disso, as espécies capturadas no ambiente marinho são tolerantes a diversos poluentes acumulados também em seus tecidos (LAU et al., 1998).

Os moluscos bivalves caracterizam-se como uma fonte rica de proteínas e minerais, além de possuírem baixo valor calórico (BISPO et al., 2004). O perigo da ingestão de moluscos in natura sem cozimento prévio é preocupante, por não se conhecer quais os patógenos e em que níveis quantitativos estes micro-organismos estão presentes no animal. A contaminação desses alimentos também pode ocorrer na etapa de processamento, caso não sejam implementadas práticas adequadas de higiene no seu manuseio e armazenamento (FARIAS et al., 2010), assim como, o descuido com o tempo e a temperatura durante as etapas de colheita e armazenamento (IWAMOTO et al., 2010).

O pescado pode servir de veículo para as doenças transmitidas por alimentos (DTA's), destacando-se como um problema de saúde pública. Embora a maioria dos casos não seja relatada, todo ano, milhões de pessoas adoecem por causa das DTA's (CETINKAYA, 2008). Diversas estratégias tem sido utilizadas visando o controle de doenças associadas ao consumo de moluscos bivalves, tais como o monitoramento das águas de cultivo, identificação e implementação de medidas de controle no processamento, além da educação do consumidor (IWAMOTO et al., 2010).

Em geral, o monitoramento do ambiente é realizado utilizando a avaliação de micro-organismos indicadores. Os principais micro-organismos indicadores utilizados são os coliformes a 35°C e a 45°C, *Escherichia coli*, e *Enterococcus* sp. (ORTEGA et al., 2009). As análises microbiológicas são de grande importância, uma vez que a contaminação por micro-organismos no ambiente estuarino, principalmente em regiões de alta densidade demográfica, além de pôr em risco a saúde humana, pode causar danos às espécies presentes no habitat (FARIAS et al., 2010).

Com o intuito de preservar as espécies, vem se destacando a utilização da identificação molecular, inclusive na identificação de populações de ostras, onde

deve proporcionar facilidade na monitorização, a fim de saber como as espécies nativas e exóticas estão distribuídas, seja no ambiente selvagem ou na cultura (MELO et al., 2010).

De acordo com a literatura, há muita discussão quanto ao número real de espécies nativas dentro do gênero *Crassostrea*, que ocorre na costa leste da América do Sul. Relatos de diferentes taxas de crescimento e morfologia larval entre simpátricas linhagens de *Crassostrea* na costa sul do Brasil, sugere a ocorrência de duas espécies biológicas distintas: *Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea brasiliiana*, embora referenciadas como sendo semelhantes (IGNACIO et al., 2000; VARELA et al., 2007).

A sobrevivência de uma espécie depende de sua variabilidade genética, enquanto a quantificação dessa variabilidade pode ser um parâmetro predominante na caracterização dos animais. A análise de DNA possibilita detectar a existência de marcadores genéticos polimórficos que podem ser utilizados em estudos evolutivos, mapeamento genético, taxonomia molecular, introgressão de genes, diagnóstico genético precoce e seleção assistida por marcadores (ALBUQUERQUE et al., 2006). Esses marcadores também podem ser empregados para estimativas dos coeficientes de endocruzamento e parentesco. Além disso, sua utilização aliada ao manejo reprodutivo adequado pode contribuir para a redução da endogamia em programas de melhoramento genético (MOREIRA et al., 2007).

Desta forma, o cultivo de ostras tem potencial para gerar renda para as comunidades costeiras, bem como diminuir a pressão sobre as populações naturais e sobre-explotadas (BUIRAGO et al., 2005).

2. OBJETIVO GERAL

Delinear o perfil dos pescadores e marisqueiras do município de São Francisco do Conde, bem como analisar a qualidade microbiológica de ostras (*Crassostrea* sp.), sururu in natura e sururu processado (*Mytella guyanensis*) extraídos do estuário do rio Subaé e comercializados no mercado municipal e a caracterização genética de ostras.

2.1. Objetivos Específicos

- Coletar dados socioeconômicos, de saúde e ambientais junto às marisqueiras e pescadores do município de São Francisco do Conde, Bahia.
- Quantificar a presença de coliformes a 35°C, coliformes a 45°C e *Enterococcus* sp. em amostras de ostra e sururu extraídos no estuário do Rio Subaé.
- Quantificar a presença de coliformes a 35°C, a 45°C e *Enterococcus* sp. em amostras de sururu beneficiado e comercializado no mercado municipal de São Francisco do Conde, Bahia.
- Pesquisar a presença de bactérias dos gêneros *Salmonella* sp. e *Enterococcus* sp. nas amostras de ostra e sururu in natura e sururu processado no município de São Francisco do Conde, Bahia.
- Caracterizar geneticamente ostras no estuário do Rio Subaé.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Pescado

Em muitos países o pescado se destaca como fonte de emprego, renda e captação de moeda externa, além do seu elevado valor proteico fazendo parte da dieta da população (SANTOS, 2006). Dentre os produtos da pesca, o consumo de moluscos bivalves tem se destacado, principalmente quando se trata de ostras (*Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828)) e sururu (*Mytella guyanensis* (Lamarck, 1819)) (SILVA; SILVA, 2007).

A ostra (*C. rhizophorae*) pertence à família Ostreidae, podendo ser encontrada em águas costeiras rasas, desde o Caribe ao Atlântico sulamericano até o Brasil, ocorrendo principalmente fixada às raízes aéreas do mangue vermelho, *Rhizophora mangle* ou sobre zonas entremarés e costões rochosos (DUÉ et al., 2010). Já o sururu (*Mytella guyanensis*), também conhecido como mexilhão de estuário constitui uma das quatro espécies (*Mytella falcata*, *Perna perna* e *Mytilus edulis platensis*) de maior destaque comercial no Brasil (PEREIRA; HENRIQUES; MACHADO, 2003). Sua distribuição vai do México ao Peru, no Oceano Pacífico, e da Venezuela ao Brasil, no Atlântico, habitando as regiões entremarés de manguezais (RIOS, 2009).

Estes moluscos são responsáveis pelo sustento de inúmeras famílias nas regiões litorâneas, sendo o seu consumo realizado de forma in natura ou passando por tratamento térmico. O consumo de moluscos bivalves marinhos é uma prática crescente em todas as regiões litorâneas do Brasil, devido às riquezas dos recursos naturais dos ecossistemas aquáticos (PEREIRA; VIANA; RODRIGUES, 2007).

Com relação ao seu valor nutricional os moluscos são referidos como fonte alimentar de proteínas com elevado valor biológico, minerais e ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, que têm sido relacionados com a prevenção de

doenças cardiovasculares, hipertensão, arritmias, desordens autoimunes e câncer (AVEIRO; BARRERA-ARELLANO; TRAMONTE, 2009).

Os moluscos bivalves são organismos filtradores que possuem a capacidade de absorver toxinas, poluentes químicos e biológicos, inclusive metais pesados e micro-organismos presentes na água, filtrando de 19 a 50 litros de água por hora, com pouca ou nenhuma capacidade seletiva (SANDE et al., 2010; NASCIMENTO et al., 2011).

Um grande percentual das bactérias ingeridas sobrevivem aos processos digestivos, aos mecanismos de resistência associados à degradação enzimática e podem utilizar o ambiente intestinal do hospedeiro como fonte nutricional (SANDE et al., 2010). Do ponto de vista microbiológico, a qualidade dos mariscos algumas vezes apresenta-se duvidosa e sua comercialização é realizada em condições cujo controle sanitário é bastante precário, apontando a necessidade de investigação do aspecto da saúde pública (BARROS et al., 2005).

1.2. Produção Pesqueira

A atividade pesqueira sempre foi utilizada pelo homem para o seu sustento e de sua família. Por ano, são capturados e consumidos milhões de toneladas de frutos do mar (BUTT; ALDRIDGE; SANDERS, 2004).

O consumo per capita mundial de pescado e produtos derivados da pesca vem crescendo gradualmente nas últimas décadas, atingindo 16,4 kg per capita em 2005 e 17,1 kg em 2008 (NOMURA, 2010). No Brasil, o consumo per capita aparente de pescado em 2010 foi de 9,75 Kg/hab./ano, com crescimento de 8% em relação ao ano anterior (BRASIL, 2012).

No ano de 2009, foram produzidas aproximadamente 146 milhões de toneladas de pescado. Cinco países se destacaram como os maiores produtores, a China com aproximadamente 60,5 milhões de toneladas, a Indonésia com 9,8 milhões de toneladas, a Índia com 7,9 milhões de toneladas e o Peru com cerca de 7 milhões de toneladas (FAO, 2010).

O Brasil obteve uma representatividade de 0,86% na produção mundial de pescado, com 1.240.813 t em 2009 e ocupando o 18º lugar no ranking geral dos maiores produtores de pescado do mundo. Em 2010, a Região Nordeste foi a que mais produziu pescado no país, com 410.532 t, representando 32,5% da

produção nacional. As regiões sul, norte, sudeste e centro-oeste, respectivamente produziram 311.700 t (24,6%), 274.015 t (21,7%), 185.636 t (14,7%) e 82.881 t (6,6%) (Figura 1). Com relação á produção da pesca marinha extrativa por espécie, o grupo dos peixes representou 86,8% da produção total, os crustáceos 10,6% e os moluscos 2,6% (BRASIL, 2012).

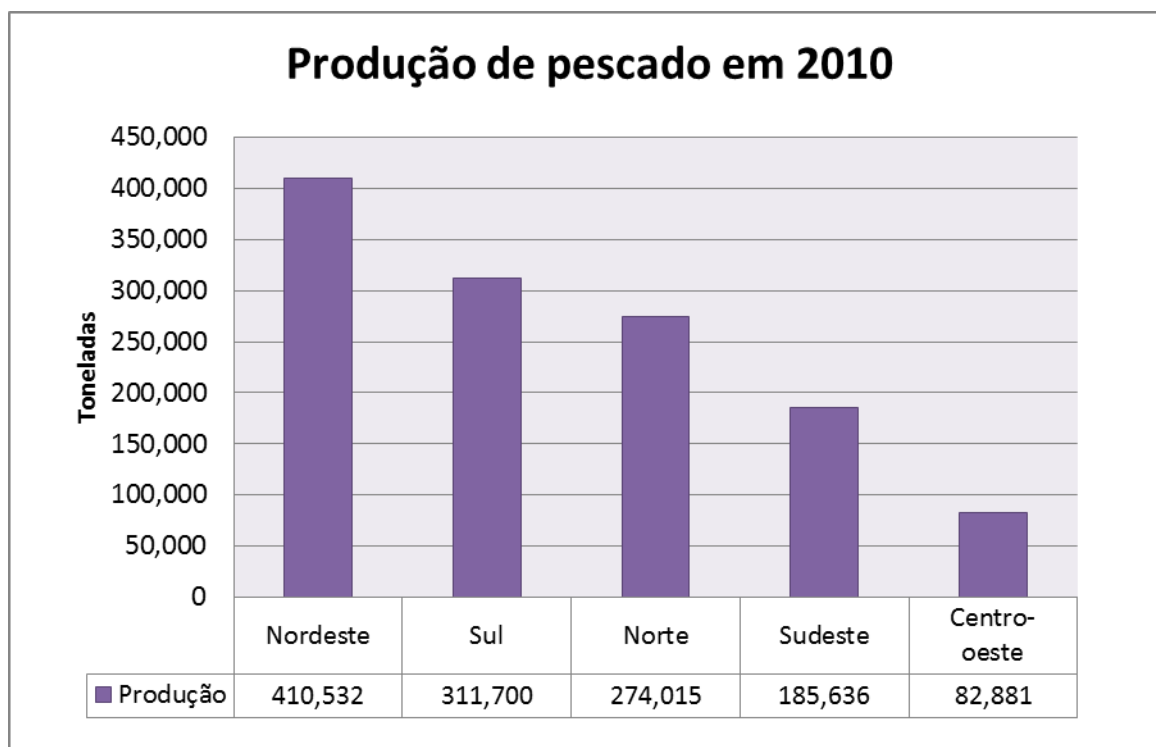


Figura 1. Produção de pescado (t) marinho por região brasileira no ano de 2010 (BRASIL, 2012).

A Bahia ocupa a terceira posição no ranking nacional da produção de pescado e a segunda do Nordeste, produzindo cerca de 115 mil toneladas/ano (Bahia, 2013).

1.3. Pescadores e Marisqueiras

Os manguezais são ecossistemas de extrema importância para a subsistência e renda de muitas populações ribeirinhas situadas no litoral brasileiro. Esses ambientes permitem a vida de muitas espécies que necessitam de condições favoráveis á alimentação, reprodução e proteção (SOUTO; MARTINS, 2009).

A pesca marítima, costeira e continental constituem importante fonte de renda, geração de trabalho e alimento para comunidades tradicionais, permitindo a fixação do homem no seu local de origem (BRASIL, 2011). A pesca artesanal é executada somente de forma manual pelo pescador quando o objetivo é comercial. Geralmente, os insumos e equipamentos são adquiridos na própria cidade onde habita e as embarcações utilizadas são de pequeno e médio porte. É uma atividade cujo conhecimento normalmente é passado de pai para filho ou dentro da família pelos mais velhos (BAHIA, 2013).

A mariscagem se insere na pesca artesanal e é considerada uma atividade que não agride as espécies que explora (JESUS; PROST, 2011). É o tipo de pesca mais exercida no estado da Bahia, utilizando técnicas simples para a aquisição de pescado, que pode ser totalmente ou parcialmente comercializado (BAHIA, 2013). Diversas dificuldades permeiam a pesca artesanal, dentre elas o desafio de inserir os pescadores em organizações sociais, o elevado grau de analfabetismo e a baixa escolaridade, assim como a falta de conhecimento acerca de seus direitos (BRASIL, 2011). No Brasil, cerca de 970 mil pescadores são registrados, sendo que os pescadores e pescadoras artesanais atingem o número de 957 mil pessoas. Do total de pescadores artesanais no Brasil, 47% se concentram nos estados do Nordeste, enquanto que na Bahia, 36.851 pessoas estão registradas na atividade de pesca artesanal (BRASIL, 2011; PENA; FREITAS; CARDIM, 2011). No Recôncavo da Bahia, a pesca artesanal possui grande destaque e espécies de moluscos bivalves de manguezais e estuários como *Crassostrea rhizophorae*, *Mytella falcata* e *Anomalocardia brasiliiana* são bastante capturadas (SOUTO; MARTINS, 2009).

1.4. Variabilidade genética dos moluscos

O uso de técnicas moleculares para a caracterização de espécies é uma ferramenta confiável e eficaz. Permitindo a resolução de problemas taxonômicos de espécies cultivadas que são de difícil separação (como é o caso das ostras *Crassostrea*); monitoramento dos níveis de variabilidade genética das populações cultivadas ao longo de gerações; identificação de ovos, larvas e matrizes de reprodutores, de forma a minimizar a mistura de estoques para o melhoramento genético e aumentar os ganhos de produção. Um dos fatores limitantes para a

consolidação do cultivo de ostras nativas no Brasil é a necessidade de diferenciar as espécies *C. rhizophorae* e *C. brasiliiana*, pois possuem características morfológicas semelhantes, taxas de crescimento distintas e diferenças ecológicas e fisiológicas não tão bem estabelecidas (LEGAT et al., 2008).

As ostras de mangue nativas do Brasil são geralmente referidas como *C. rhizophorae*. Nas regiões do norte e nordeste do Brasil, essas ostras são cultivadas ou extraídas pelas comunidades pesqueiras e a correta identificação dessa espécie e sua distribuição se faz necessária para o manejo efetivo da atividade (NASCIMENTO, 1991).

A ostreicultura é um sistema de cultivo ecológico simples, rentável economicamente, geradora de empregos, que permite a manutenção e a preservação dos recursos naturais marinhos, possibilitando a fixação de comunidades ribeirinhas nos locais de origem, contribuindo para o desenvolvimento local sustentável. Devido a isso, possui grande potencial como atividade socioeconômica para as regiões Norte e Nordeste do Brasil (LEGAT et al., 2009).

Baseado nessa necessidade, diversas técnicas de biologia molecular estão hoje disponíveis para a detecção de polimorfismos genéticos. Estas técnicas permitem a obtenção de um número virtualmente ilimitado de marcadores moleculares que cobre todo o genoma do organismo (ANTONINI; MENECHIN; URASHIMA, 2004).

1.5. Doenças Transmitidas por Alimentos

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) são síndromes clínicas que podem ser ocasionadas por parasitos (protozoários e helmintos patogênicos), produtos químicos e micro-organismos ou produtos resultantes do seu metabolismo (toxinas e aminas biogênicas). Esses agentes são veiculados por alimentos que em geral não apresentam alterações perceptíveis (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008). Estes alimentos geralmente são contaminados pela manipulação incorreta dos alimentos, falta de cuidado higiênico-sanitário na manipulação, produção, armazenagem, processamento e conservação (IWAMOTO et al., 2010).

As DTA's podem ser definidas por episódios nos quais duas ou mais pessoas apresentam, em um mesmo período de tempo, sinais e sintomas semelhantes, após a ingestão de um determinado alimento de mesma origem considerado contaminado. A incidência de doenças relacionadas ao consumo de alimentos cresce anualmente, no entanto, a maioria dos casos de DTA's não é notificada, uma vez que a doença é autolimitada e a vítima não busca auxílio médico (MARCHI et al., 2011).

Nos Estados Unidos, durante o período de 2009-2010, ocorreu um total de 1.527 surtos de DTA's (675 em 2009 e 852 em 2010), resultando em 29.444 casos da doença, 1.184 hospitalizações e 23 mortes. A *Salmonella* foi o segundo agente etiológico mais envolvido em casos de DTA's, sendo responsável por 30% dos surtos (CDC, 2013).

No Brasil, entre os anos de 1999 a 2008, as bactérias foram identificadas como o agente etiológico responsável por 84% dos surtos, enquanto no estado do Rio Grande do Sul, que possui um dos serviços de vigilância sanitária e epidemiológica mais ativos do Brasil, 3.200 surtos foram notificados de 1998 a 2006, sendo a maioria causada por bactérias como *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e coliformes a 45°C (OLIVEIRA et al., 2010).

A incidência das DTA's poderia ser reduzidas com melhorias nos métodos de processamento dos alimentos, bem como na adoção e aplicação de programas de Boas Práticas de Manipulação, além da educação dos responsáveis pelo fornecimento de alimentos (AMSON; HARACEMIV; MASSON, 2006).

1.5.1. Micro-organismos bioindicadores

Os micro-organismos indicadores vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água há muito tempo e mais recentemente nos alimentos, devido às dificuldades encontradas na detecção de bactérias patogênicas. São grupos ou espécies de micro-organismos que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições

sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Um bom indicador deve ter associação com a fonte do patógeno e estar ausente em áreas não poluídas, ocorrer em maior número que o agente patogênico, apresentar maior resistência que o patógeno à inativação natural e artificial, permitir detecção rápida e ser de baixo custo, além de não oferecer patogenicidade (BOSCH, 1998).

A maioria dos micro-organismos indicadores das condições sanitárias, bem como patógenos entéricos transmitidos pela água, são bactérias cujo ambiente natural é o intestino do homem e animais de sangue quente (CHANDRAN; HATHA, 2005). Os micro-organismos indicadores mais utilizados são as bactérias do gênero *Enterococcus*, os coliformes a 35°C e a 45°C, especialmente a *Escherichia coli* (ORTEGA et al., 2009). Os coliformes a 45°C possuem uma correlação direta da poluição por material fecal (BATISTA et al., 2010), especialmente a *Escherichia coli*, cuja presença é considerada indicadora de possíveis agentes patogênicos (CHANDRAN; HATHA, 2005).

O grupo dos coliformes a 35°C é formado por bactérias que podem ser encontradas em fezes, vegetais e solos, onde persistem por um tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como a *Salmonella*. Pertencem a família *Enterobacteriaceae*, cuja capacidade de fermentar a lactose é acompanhada pela produção de gás, quando incubados a 35-37°C, por 48 horas. São bacilos Gram-negativos e não formadores de esporos. Um subgrupo dos coliformes a 35°C são os coliformes a 45°C, anteriormente chamado de coliformes fecais. Caracterizam-se pela capacidade de fermentar a lactose com produção de gás a temperatura de 44-45,5°C em 24 horas, tendo como principal representante a *Escherichia coli* (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O grupo dos *Enterococcus*, anteriormente classificados como estreptococos fecais também é reconhecido como indicadores de contaminação fecal. Estes micro-organismos são encontrados no intestino de humanos e outros animais, bem como no solo, em plantas ou em produtos derivados de leite. São Gram-positivos, catalase negativa, anaeróbicos facultativos, crescem em 6,5% de NaCl e em pH de 9,6, podendo crescer a temperatura de 10° a 45°C. Sua utilização como micro-organismo indicador deve-se a abundância elevada nas fezes e a sua

longa sobrevivência no meio ambiente. Os enterococos também têm sido relacionados a doenças humanas, sendo descritos como os principais patógenos nosocomiais (MANERO; BLANCH, 1999).

O gênero *Salmonella* é um exemplo de patógeno humano transmitido pela água e mariscos. Frequentemente isolado no ambiente marinho pode permanecer viável durante várias horas. Uma grande porcentagem de casos de afecções gastrointestinais que ocorrem na população na maior parte dos países desenvolvidos é atribuída a infecções por *Salmonella* (EFSTRATIOU; MAVRIDOU; RICHARDSON, 2009). Tolerantes a condições adversas, sobrevivem em alimentos com baixa atividade de água por longos períodos (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012).

Os sorovares de *Salmonella* são comuns na natureza e podem ser encontrados no trato intestinal de animais, tanto domésticos quanto selvagens, acarretando diversas fontes de contaminação. Em geral, a ocorrência da salmonelose é propiciada quando suas células são veiculadas á ambientes onde é realizada a preparação de alimentos. Vários fatores são frequentemente implicados em surtos de salmonelose, tais como multiplicação em alimentos, devido à temperatura de armazenagem inadequada, insuficiente cozimento ou contaminação cruzada (CARRASCO; MORALES-RUEDA; GARCÍA-GIMENO, 2012).

A *Salmonella* é uma bactéria anaeróbia facultativa, não esporuladora e Gram-negativa. A maioria das cepas é móvel, mesófila, com temperatura de crescimento ótima entre 35° a 37°C. Inativadas pelo processo de pasteurização, são sensíveis ao pH baixo (< 4,5) e não se multiplicam em atividade de água de 0,94, especialmente quando combinadas com pH inferior a 5,5. As células são capazes de sobreviver ao processo de congelamento e á desidratação, multiplicando-se em diversos alimentos, sem afetar a qualidade de aceitação. Além disso, tem sido relatada a sua capacidade em sobreviver a concentrações elevadas de sal (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012).

2. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, M de S. M.; EGITO, A. A. do; MARQUES, J. R. F.; CIAMPI, A. Y.; MARIANTE, A. da S.; CASTRO, S. T. R.; COSTA, M. R.; PAIVA, S. R.; SILVA, A. M. da; CONTE, E. P. B. Variabilidade genética em búfalos estimada por marcadores RAPD. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 41, n. 4, p. 623-628, 2006.

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

AMSON, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) no estado do Paraná – Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.

ANTONINI, S. R. C.; MENEGHIN, S. P.; URASHIMA, A. S. **Técnicas básicas de biologia molecular**. São Paulo: Universidade Federal de São Carlos. 2004

ARAÚJO, A. R. da R.; SILVA, F. D.; SANTANA, R. F.; LOPES, D. F. C.; Gestão da pesca de *Mytella charruana* (D' ORBIGNY, 1846) no litoral do estado de Sergipe: indicadores de sustentabilidade. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, São Luís, v. 4, n. 2, p. 56-70, 2009.

AVEIRO, M. V.; BARRERA-ARELLANO, D.; TRAMONTE, V. L. C. G. Composição lipídica do molusco marinho berbigão *Anomalocardia brasiliana* (Gmelin, 1791) “in natura” e cozido. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 59, n. 3, 2009.

BAHIA. **Bahia Pesca**. 2013. Disponível em: <www.bahiapesca.ba.gov.br>. Acesso em: 15 abr. 2013.

BARROS, L. M. de O.; THEOPHILO, G. N. D.; COSTA, R. G.; RODRIGUES, D. dos P.; VIEIRA, R. H. S. dos F. Contaminante fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 285-289, 2005.

BATISTA, J. E. C.; VENTURA, R. F.; VAZ, R. V.; RALPH, M. T.; SILVA, A. F. B. da; INTERAMINENSE, J. R. de A.; LIMA FILHO, J. V. M. Determinação de Coliformes Totais e Fecais na Água Marinha e na Carne do Bivalve *Anomalocardia brasiliiana* (GMELIN, 1791) Extraídos para Consumo Humano na Praia de Nova Cruz – PE. In: Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX, 10., 2010, Recife. **Resumos...** Recife: UFRPE, out. 2010.

BISPO, E. da S.; SANTANA, L. R. de; CARVALHO, R. D. S.; LEITE, C. C.; LIMA, M. A. C. Processamento, estabilidade e aceitabilidade de marinado de vongole (*Anomalocardia brasiliiana*). **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 353-356, 2004.

BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Pesca Artesanal**. 2011. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/index.php/pescampa/artesanal>>. Acesso em: 05 abr. 2013.

BRASIL, 2012. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**, Brasília, 2012. 128p.

BOSCH, A. Human enteric viruses in the water environment: a minireview. **International Microbiology**, Barcelona, v. 1, p. 191–196, 1998.

BUITRAGO, J.; RADA, M.; HERNÁNDEZ, H.; BUITRAGO, E. A Single-Use Site Selection Technique, Using GIS, for Aquaculture Planning: Choosing Locations for Mangrove Oyster Raft Culture in Margarita Island, Venezuela. **Environmental Management**, New York, v. 35, n. 5, p. 544-556, 2005.

BUTT, A. A.; ALDRIDGE, K. E.; SANDERS, C. V. Infections related to the ingestion of seafood. Part I: viral and bacterial infections. **The Lancet Infectious Diseases**, Baltimore, v. 4, n. 4, p. 201-212, 2004.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 545–556, 2012.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. **Morbidity And Mortality Weekly Report**, Atlanta, v. 62, n. 3, 2013.

CETINKAYA, F.; CIBIKA, R.; G. SOYUTEMIZA, G. E.; OZAKINB, C.; KAYALIC, R.; LEVENTC, B. *Shigella* and *Salmonella* contamination in various foodstuffs in Turkey. **Food Control**, Guildford, v. 19, p. 1059–1063, 2008.

CHANDRAN, A.; HATHA, A. A. M. Relative survival of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in a tropical estuary. **Water Research**, New York, v. 39, p. 1397–1403, 2005.

DUÉ, A.; COSTA, M. M. da S.; SILVA FILHO, E. A.; GUEDES, E. A. C. Itens alimentares de *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (Bivalvia: Ostreidae) cultivadas em um estuário tropical, no Nordeste do Brasil. **Bioikos**, Campinas, v. 24, n. 2, p. 83-93, 2010.

EFSTRATIOU, M. A.; MAVRIDOU, A.; RICHARDSON, C. Prediction of *Salmonella* in seawater by total and faecal coliforms and Enterococci. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v.58, p. 201–205, 2009.

FAO. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010**. Roma, FAO. 2010. 219p. Disponível em: < www.fao.org/docrep/013/i1820s/i1820s.pdf>. Acesso em: 12 dez. 2012.

FARIAS, M. F. de.; ROCHA-BARREIRA, C. de A.; CARVALHO, F. C. T. de; SILVA, C. M.; REIS, E. M. F. dos; COSTA, R. A.; VIEIRA, R. H. S. dos F. Condições microbiológicas de *Tagelus plebeius* (LIGHTFOOT, 1786) (Mollusca: Bivalvia: Solecurtidae) e da água no estuário do rio Ceará, em Fortaleza – CE. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 135-142, 2010.

FRANCO, B. D. G. de M., LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

FUZETTI, L.; CORREA, M. F. M. Perfil e renda dos pescadores artesanais e das vilas da Ilha do Mel – Paraná, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 609-621, 2009.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008.

HOGUANE, A. M. Perfil Diagnóstico da Zona Costeira de Moçambique. **Revista de Gestão Costeira Integrada**, v. 7, n. 1, p. 69-82, 2007.

IGNACIO, B. L.; ABSHER, T. M.; LAZOSKI, C.; SOLÉ-CAVA, A. M. Genetic evidence of the presence of two species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) on the coast of Brazil. **Marine Biology**, v. 136, p. 987-991, 2000.

IWAMOTO, M.; AYERS, T.; MAHON, B. E.; SWERDLOW, D. L. . Epidemiology of Seafood-Associated Infections in the United States. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 2, p. 399–411, 2010.

ISLAM, M. S.; TANAKA, M. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 48, p. 624–649, 2004.

JESUS, R. S.; PROST, C. Importância da atividade artesanal de mariscagem para as populações nos municípios de Madre de Deus e Saubara, Bahia. **GEOUSP - Espaço e Tempo**, São Paulo, n. 30, p. 123 - 137, 2011.

JUSTINO, J de F. **Avaliação de coliformes e vírus entéricos na água e no mexilhão (*Mytella guyanensis*) em área de manguezal da Baía de Vitória (ES)**. 2009, 96 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) Centro Tecnológico, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2009.

LAU, S.; MOHAMED, M.; TAN CHI YEN, A.; SU'UT, S. Accumulation of heavy metals in freshwater molluscs. **The Science of the Total Environment**, v. 214, p. 113-121, 1998.

LEGAT, J. F. A.; PEREIRA, A. M. L.; LEGAT, A. P.; FOGAÇA, F. H. dos S. **Programa de Cultivo de Moluscos Bivalves da Embrapa Meio-Norte**. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2008. 20p.

LEGAT, A. P.; OLIVEIRA, J. A. de; LAZOSKI, C. V. da S.; SOLE-CAVA, A. M.; MELO, C. M. R. de; GALVÉZ, A. O. Caracterização genética de ostras nativas do gênero *Crassostrea* no Brasil: base para o estabelecimento de um programa nacional de melhoramento. Teresina : **Embrapa Meio-Norte**, 2009. 21 p.

MANERO, A.; BLANCH, A.R. Identification of *Enterococcus* spp. with a Biochemical Key. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 10, p. 4425-4430, 1999.

MARCHI, D. M.; BAGGIO, N.; TEO, C. R. P. A.; BUSATO, M. A. Ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Município de Chapecó, Estado de Santa Catarina, Brasil, no período de 1995 a 2007. **Epidemiologia e Serviço de Saúde**, Brasília, v. 20, n. 3, p. 401-407, 2011.

MELO, C. M. R.; SILVA, F. C.; GOMES, A. M.; SOLE´-CAVA, A. M.; LAZOSKI, C. *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. **Biological Invasions**, New York, v. 12, p. 441–449, 2010.

MOREIRA, A. A.; HILSDORF, A. W. S.; SILVA, J. V. da; SOUZA, V. R. de. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 521-526, 2007.

NASCIMENTO, I. A. *Crassostrea rhizophorae* (Guilding) and *C. brasiliiana* (Lamarck) in South and Central America. In: Menzel, W. (ed.). *Estuarine and marine bivalve mollusk culture*. **CRC Press**, Boston, USA, p.125-134. 1991.

NASCIMENTO, V. A.; MITTARAQUIS, A. S. P.; TRAVÁLIA, B. M.; SANTOS, R. C. A.; M. NUNES, M. L.; AQUINO, L. C. L. Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 7, n. 4, 2011.

NOMURA, I. O futuro da pesca e da aquicultura marinha no mundo. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 62, n. 3, 2010.

OLIVEIRA, A. B. A. de; PAULA, C. M. D. de; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M. R. de I.; TONDO, E. C. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 30, n. 3, p. 279-285, 2010.

ORTEGA, C.; SOLO-GABRIELE, H. M.; ABDELZAHERA, A.; WRIGHTA, M.; DENG, Y.; STARK, L. M. Correlations between microbial indicators, pathogens, and environmental factors in a subtropical Estuary. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 58, p. 1374–1381, 2009.

PENA, P. G. L. ; FREITAS, M. C. S. ; CARDIM, A. Trabalho artesanal, cadências infernais e lesões por esforços repetitivos: estudo de caso em uma comunidade de mariscadeiras na Ilha de Maré, Bahia. **Ciência saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 8, 2011.

PEREIRA, O. M. ; HENRIQUES, M. B. ; MACHADO, I. C. Estimativa da curva de crescimento da ostra *Crassostrea brasiliiana* em bosques de mangue e proposta para sua extração ordenada no estuário de Cananéia, SP, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 19-28, 2003.

PEREIRA, C. S. ; VIANA, C. M. ; RODRIGUES, D. Dos P. Vibrios patogênicos em ostras (*Crassostrea rhizophorae*) servidas em restaurantes no Rio de Janeiro: um alerta para a Saúde Pública. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 300-303, 2007.

RIOS, E. C. **Compendium of Brazilian Sea Shells**. Rio Grande, Porto Alegre, 2009. 668 p.

SANDE, D.; MELO, T. A.; OLIVEIRA, G. S. A.; BARRETO, L.; TALBOT, T.; BOEHS, G.; ANDRIOLI, J. L. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 190-196, 2010.

SANTOS, C. A. M. L. dos. A qualidade do pescado e a segurança dos alimentos. In: Simpósio de Controle do Pescado, 2., 2006, São Vicente. **Resumos...** São Vicente: Instituto de Pesca, 2006. Disponível em: <ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/qualidade_pescado.pdf>. Acesso em: 10 set. 2012.

SILVA, C. C.; SILVA, J. C., 2007. **Cultivo de ostras**. Rio de Janeiro: REDETEC - SBRT, 2007. 19p. Dossiê técnico. Disponível em: <<http://www.respostastecnica.org.br>>. Acesso em: 20 set. 2012.

SILVA, L. L.; ANDRADE, M. O. de. Pescadores artesanais da praia da Penha – PB: novos paradigmas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 10, n. 2, 2010.

SILVA, M. E. P. A. da; CASTRO, P. M. G. de; MARUYAMA, L. S.; PAIVA, P. de. Levantamento da pesca e perfil socioeconômico dos pescadores artesanais profissionais no reservatório Billings. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 531-543, 2009.

VARELA, E. S.; BEASLEY, C. R.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I; MARQUES-SILVA, N. do S.; TAGLIARO, C. H. Molecular phylogeny of mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil. **Journal of Molluscan Studies**, Oxford, v. 73, p. 229–234, 2007.

SOUTO, F. J. B.; MARTINS, V. S. Conhecimentos etnoecológicos na mariscagem de moluscos bivalves no manguezal do distrito de Acupe, Santo Amaro-BA. **Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 4, p. 207-218, 2009.

CAPÍTULO 2

PERFIL SOCIOECONÔMICO DOS PESCADORES E MARISQUEIRAS DE SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA

Artigo a ser submetido ao comitê editorial do periódico Boletim do Instituto de Pesca.

PERFIL SOCIOECONÔMICO DOS PESCADORES E MARISQUEIRAS DE SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA

RESUMO: O pescado consumido no Brasil é proveniente em sua maioria da pesca artesanal, geralmente realizada pelas famílias litorâneas. Dentre o pescado capturado pelos pescadores e marisqueiras de São Francisco do Conde, os moluscos bivalves se destacam como fonte de alimentação e renda. Baseado nisso, o objetivo deste estudo foi verificar o perfil socioeconômico dos pescadores e marisqueiras que realizam atividades de pesca extrativa no município de São Francisco do Conde, Bahia. A coleta dos dados foi realizada mediante entrevistas na colônia de pescadores Z-05, utilizando um questionário semiestruturado. Foram entrevistadas 31 pessoas, sendo 29% de mulheres e 71% de homens. A maioria dos entrevistados apresentava idade entre 30 a 50 anos e baixo nível de escolaridade, ou seja, 67,7% possuíam apenas o ensino fundamental incompleto. Renda variando de um a dois salários mínimos foi observada em 55% dos entrevistados, tendo 68% declarado que a pesca e/ou mariscagem não constituía a única fonte de renda. Moradia em casa própria foi citada por 94% dos entrevistados, destas, 100% apresentavam energia elétrica, 87% eram abastecidas com água da central de abastecimento, 74,2% apresentavam sistema de saneamento básico e 90,3% possuíam coleta pública de lixo. O sistema de saúde pública, hospital e/ou posto de saúde era utilizado por 41,9% e 93,5% dos entrevistados, respectivamente. Casos de diarreia foram relatados em 10% dos adultos e 14% das crianças. Com relação à preservação ambiental, 100% dos entrevistados responderam ser importante, enquanto 54% consideravam o lixo um poluente para a cidade e 71% compreendiam que o rio da cidade se encontrava poluído. Além disso, 97% possuíam a percepção e viam a necessidade de realização de projetos ambientais nos rios da cidade. Como conclusão, a pesca artesanal não tem cumprido a função de subsistência do pescador, impelindo-o a buscar por alternativas de renda.

Palavras-chaves: pesca artesanal, moluscos bivalves, renda familiar, preservação ambiental.

SOCIO-ECONOMIC PROFILE OF FISHERMEN AND SHELLFISH COLLECTORS WOMAN OF SÃO FRANCISCO DO CONDE - BA

ABSTRACT: The fish consumed in Brazil comes mostly from fishing, usually performed by coastal families. Among the fish caught by the fishermen and shellfish collector woman of São Francisco do Conde, the bivalve molluscs stand out as a source of food and income. Based on this, the objective of this study was to assess the socioeconomic profile of fishermen and shellfish collectors woman that perform extractive fishing activities in São Francisco do Conde, Bahia. Data collection was conducted through interviews in the colony of fishermen Z-05, using a semistructured questionnaire. 31 people were interviewed, 29% of women and 71% men. Most of the interviewed people presented age between 30-50 years and low level of education, in other words, 67.7% had only elementary education. Income ranging from one to two minimum wages was observed in 55% of respondents, and 68% stated that fish and / or shellfish is not the only source of income. Detached home itself was cited by 94% of interviewed people, these, 100% provide what electricity, 87% were supplied with water from the central supply, 74.2% had sanitation system and 90.3% had garbage collection. The public health system, hospital and / or health center was used by 41.9% and 93.5% of respondents respectively. Cases of diarrhea was reported in 10% of adults and 14% of children. With respect to environmental preservation, 100% of respondents to be important, while 54% considered a pollutant waste to the city and 71% understood that the river city was polluted. In addition, 97% had the perception and saw the need for conducting environmental projects in the city rivers. In conclusion artisanal fishing has not fulfilled the function of subsistence fisherman, urging him to seek income alternatives.

Keywords: fishing, shellfish, family income, environmental preservation.

1. INTRODUÇÃO

Uma grande parcela do pescado consumido no Brasil é proveniente da pesca artesanal, realizada principalmente pelas famílias da região litorânea, possuindo um importante papel no contexto social, econômico e cultural no país (SILVA et al., 2009). A pesca artesanal consiste em uma atividade simples, individual ou familiar. De maneira geral, as embarcações não possuem tecnologia avançada, é operada pelo proprietário ou com a ajuda de familiares. Esse tipo de pesca é utilizado para a subsistência do pescador e sua família, assim como para o abastecimento do comércio local (FAO, 2012).

Dentre os pescados capturados na região litorânea, os moluscos bivalves vêm se destacando como relevante fonte de renda ou na complementação de outras atividades extrativistas (DIAS; ROSA; DAMASCENO, 2007). A ostra (*Crassostrea rhizophorae*), o chumbinho (*Anomalocardia brasiliana*) e o sururu (*Mytella guyanensis*) são os moluscos mais extraídos nas áreas estuarinas e manguezais do Brasil. Eles são coletados principalmente pelas marisqueiras e alguns pescadores como forma de auxílio à renda e para a alimentação de suas famílias (FREITAS et al., 2012).

As marisqueiras e os pescadores geralmente possuem uma baixa renda, ocasionada na maioria das vezes pelo aumento populacional nas faixas litorâneas e falta de tecnologia para a captura dos recursos pesqueiros, além disso, eles não recebem apoio ou incentivos governamentais para desenvolverem suas atividades (FUZETTI; CORRÊA, 2009).

As atividades extrativistas têm sido afetadas também pela redução dos estoques marinhos e estuarinos, como consequência da crescente degradação do meio ambiente, originada pela sobre-exploração do pescado, pelo aterramento dos manguezais e efeito da poluição (DIAS; ROSA; DAMASCENO, 2007). Com isso, muitos pescadores abandonaram suas atividades na pesca artesanal em

busca de uma melhor renda em atividades de turismo (FUZZETTI; CORRÊA, 2009).

O presente estudo teve como objetivo verificar o perfil socioeconômico dos pescadores e marisqueiras que realizam atividades extrativistas de moluscos bivalves no município de São Francisco do Conde, Bahia.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de Estudo

O município de São Francisco do Conde localiza-se na região metropolitana de Salvador-Bahia, com uma área de 263.000 km², situado entre as coordenadas 12°62' S e 38°68' W. São Francisco do Conde (Figura 1) faz limite com as cidades de Santo Amaro, São Sebastião do Passé, Candeias e Salvador, apresentando uma população de 33.183 habitantes, bem como a taxa de urbanização de 80,22% (FONTOURA; ARAÚJO; SANCHES, 2009; IBGE, 2010).



Figura 1. Localização geográfica da cidade de São Francisco do Conde na Baía de Todos os Santos, Bahia (Fonte: <https://maps.google.com.br>).

São Francisco do Conde apresenta um clima quente-úmido e abundância de recursos hídricos, além de manguezais com alta biodiversidade. A vegetação de

restinga abriga espécies da fauna e da flora importantes ambientalmente para o equilíbrio ecológico, bem como remanescentes de Mata Atlântica (IBGE, 2010; BAHIA, 2012). Além disso, encontra-se em uma Área de Proteção Ambiental (APA), onde desemboca o rio Subaé, que associado ao rio Jaguaripe, dá origem a várias regiões estuarinas de grande importância biológica (FELIZZOLA, 2005).

2.2. Coleta e Análises de Dados

A coleta dos dados foi realizada mediante entrevistas com os pescadores e as marisqueiras, utilizando um questionário semiestruturado (Anexo A). Para participar da pesquisa, inicialmente todos os entrevistados liam o Termo de Consentimento Livre Informado (Anexo B) e assinavam. O projeto foi previamente aprovado pelo Conselho de Ética com o parecer de N^o: 021/2010 e registro no CEP 004/00.

As entrevistas ocorreram na colônia de pescadores Z-05 (Figura 2) do município de São Francisco do Conde, Bahia, no período de maio a agosto de 2012, sendo entrevistadas 31 pessoas, 22 pescadores e nove marisqueiras. Com o questionário buscou-se constituir um panorama a respeito da situação econômica e social desse grupo de pessoas, como por exemplo, a renda, tipo de moradia, faixa etária, a ocorrência de casos de diarreias, o conhecimento sobre hábitos de higiene e a relevância do saneamento básico, além da opinião e ações em favor do meio ambiente onde se encontram inseridos.



Figura 2. Colônia de pescadores Z-05 do município de São Francisco do Conde - Bahia (Foto cedida por Leon Leal).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Aspectos socioeconômicos

Dos 31 entrevistados na colônia Z-05, 29% (9/31) eram mulheres e 71% (22/31) homens. Desses, predominantemente, 68% (21/31) nasceram em São Francisco do Conde (Figura 3). A prevalência de indivíduos do sexo masculino foi relacionada ao seu retorno do mar (pescaria), enquanto as mulheres eram menos frequentes na colônia de pescadores por suas atividades serem realizadas nas imediações de casa ou nos mangues.

Estes dados são corroborados com Silva et al. (2009) ao estudarem a comunidade no Reservatório Billings em São Paulo e relatarem uma predominância de 77% para os homens e 23% para as mulheres.

A atividade de mariscagem é basicamente realizada por mulheres, por ser uma atividade que necessita de pouco tempo, sendo possível exercê-la em áreas próximas às residências. O beneficiamento dos mariscos ocorre geralmente na casa da marisqueira, permitindo a realização simultânea de suas atividades domésticas (DIAS; ROSA; DAMASCENO, 2007).

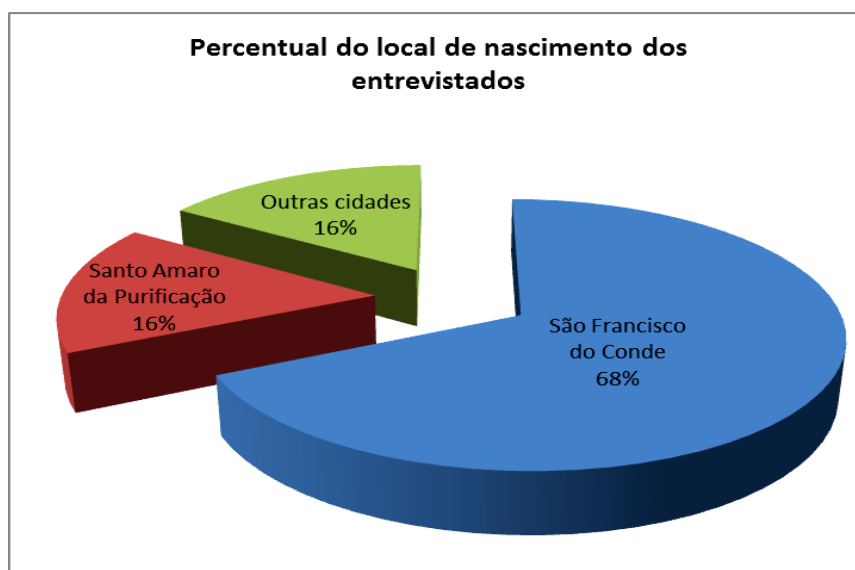


Figura 3. Percentual dos entrevistados de São Francisco do Conde – BA, de acordo com seu local de nascimento, no ano de 2012.

Com relação á faixa etária, 9,7% (3/31) dos entrevistados apresentavam idade inferior a 30 anos, 29% (9/31) entre 30 a 40 anos, 32,3% (10/31) entre 41 a 50 anos, 19,4% (6/31) entre 51 a 60 anos e 9,7% (3/31) acima de 60 anos (Tabela 1). Este panorama demonstra que atualmente o grupo que exerce a pesca artesanal está dentro da faixa etária de 30 a 50 anos, fator justificado na continuidade da atividade familiar.

Os indivíduos com idade inferior a 30 anos se encontram no mercado de trabalho formal e informal, bem como, frequentando a escola. A atividade de pesca artesanal não exerce mais um atrativo para os jovens e adultos, em particular para os primeiros, principalmente em localidades próximas a grandes centros urbanos, onde a oferta de emprego e renda é maior (ARAÚJO et al., 2009).

Tabela 1. Índices socioeconômicos dos entrevistados de São Francisco do Conde – BA, no ano de 2012.

Atividade	Percentual (nº indivíduos/total)
Faixa etária	
30 anos	09,7% (03/31)
30 a 40 anos	29,0% (09/31)
41 a 50 anos	32,3% (10/31)
51 a 60 anos	19,4% (06/31)

> 60 anos	09,7% (03/31)
Cor da pele	
Negra	45,2% (14/31)
Pardo	54,8% (17/31)
Estado civil	
Solteiros	32,0% (10/31)
Casados	09,7% (03/31)
União informal	52,0% (16/31)
Separados	06,5% (02/31)
Nível de escolaridade	
Sem escolaridade	06,5% (02/31)
Ensino fundamental incompleto	67,7% (21/31)
Ensino fundamental completo	06,5% (02/31)
Ensino médio incompleto	03,2% (01/31)
Ensino médio completo	16,1% (05/31)
Nº de pessoas na mesma residência	
Mora sozinho	09,7% (03/31)
Com 2 a 5 pessoas	77,4% (24/31)
Com seis a 10 pessoas	22,6% (07/31)
Possuem filhos	
Sim	83,9% (26/31)
Não	16,1% (05/31)
Nº filhos	
< 4 filhos	42,3% (11/26)
4 ou mais filhos	57,7% (15/26)
Filhos estudando	
Sim	45,2% (14/31)
Não	22,6% (07/31)
Possuem as duas alternativas	12,9% (04/31)

Silva et al. (2009) observaram no Reservatório Billings em São Paulo, que 27,9% dos jovens pescadores possuíam menos de 30 anos de idade, enquanto 56,6% declararam ter entre 30 e 49 anos, e apenas 17,8% uma faixa etária superior a 50 anos. Na Ilha do Mel, no Paraná, os pescadores relataram uma faixa etária entre 23 e 74 anos (FUZETTI; CORREA, 2009).

No que diz respeito á cor da pele e/ou raça, 45,2% (14/31) dos entrevistados responderam possuir a cor negra, enquanto 54,8% (17/31) declararam-se pardos (Tabela 1). Esses percentuais podem ser atribuídos ao fato do item cor da pele ser auto-declarativa, não possuindo um parâmetro preciso para esta

categorização. De acordo com o IBGE (2010), São Francisco do Conde faz parte dos municípios baianos com a maior população negra do estado da Bahia. Em seu estudo Kabad, Bastos e Santos (2012) relataram que existe uma dificuldade de definição e mensuração étnico-racial no Brasil.

Quanto ao estado civil, 52% (16/31) dos entrevistados informaram manter uma união não formalizada, enquanto 32% (10/31) se declararam solteiros, embora se encontrassem na mesma situação (Tabela 1). De acordo com os entrevistados a união informal apresenta maior praticidade, sendo vista com naturalidade, inclusive pelas mulheres. Estes dados são corroborados por Silva e Andrade (2010) que relataram na praia da Penha na Paraíba mulheres que residiam com um companheiro fixo e possuíam filhos e, no entanto, se definiam solteiras.

Ao serem questionados com relação ao número de pessoas que moram na mesma casa, 9,7% (3/31) afirmaram morar sozinhos, 77,4% (24/31) declararam morar com duas a cinco pessoas e 22,6% (7/31) com seis a 10 pessoas (Tabela 1). Nota-se uma alteração no perfil do núcleo familiar, sendo constituído muitas vezes com unidades menores e formadas precocemente, atribuindo-se entre outros fatores, a aquisição da casa própria. Para o número de filhos, 16,1% (5/31) responderam não ter filhos, enquanto 83,9% (26/31) tinham filhos. Famílias contendo quatro ou mais filhos foram observadas em 57,7% (15/26) dos entrevistados (Tabela 1). A possibilidade de uma união informal associada a falta de planejamento familiar, permite um elevado número de filhos nas famílias.

Machado, Fagundes e Henriques (2010), em sua pesquisa no complexo Estuarino-Lagunar de Cananéia, São Paulo, relataram que grande parte dos núcleos familiares dos Sítios e Mandira eram constituídas por três ou quatro pessoas, enquanto nos bairros Porto Cubatão, Acaraú e Itapitangui, habitualmente se encontrou cinco pessoas. Esta situação é comum em comunidades de baixa renda, onde é marcante a ausência de políticas públicas voltadas para o planejamento familiar (FREITAS et al., 2012).

Com relação ao nível de escolaridade, verificou-se que o número de entrevistados com o ensino fundamental completo ou nível de escolaridade mais elevado, foi de apenas 25,8% (8/31), enquanto 67,7% (21/31) possuíam o ensino fundamental incompleto e 6,5% (2/31) eram analfabetos (Tabela 1).

No passado era uma tradição familiar os pais levarem seus filhos para a pescaria, de forma a aprender esta arte, além de contribuir com a renda familiar. Atualmente, esse fato vem sendo modificado nas novas unidades familiares que priorizam os estudos. Resultados semelhantes foram encontrados por Vasconcelos et al. (2003) no Rio Grande do Norte, ao observarem que os não alfabetizados correspondiam a 12,6% dos entrevistados, 53,9% tinham o primeiro grau incompleto e 33,5% possuíam pelo menos o primeiro grau completo.

Na Reserva Ponta do Tubarão também no Rio Grande do Norte, observou-se que 63,3% dos entrevistados apresentavam escolaridade referente ao ensino fundamental, sendo os três níveis mais representativos o ensino fundamental I incompleto com 34%, analfabetos com 19% e alfabetizados com 11,5% (MATTOS; NOBRE; ALOUFA, 2011).

Quando questionados se os filhos estudavam, 45,2% (14/31) dos entrevistados afirmaram que sim, 22,6% (7/31) afirmaram que não e 12,9% (4/31) se incluíam nas duas alternativas (Tabela 1). O fato dos filhos não estudarem foi justificado de várias formas, ou seja, os filhos eram casados, não queriam, já haviam concluído os estudos, trabalhavam, haviam completado o ensino fundamental ou médio e pararam ou simplesmente não tinham idade escolar. Segundo Pereira (2008), tem sido comum ouvir de filhos de pescadores que eles vão à escola para não se tornarem como os pais, retratando desta forma, como a escola lida com a realidade da pesca, pois esta poderia trabalhar a ótica de melhoria da atividade pesqueira.

Com relação a atividade de pesca, ressalta-se que 68% (21/31) dos entrevistados não tem a pesca e/ou a mariscagem como única fonte de renda. Desses, 19,4% (6/31) complementavam a renda com o “Bolsa família”, 45% (14/31) possuem auxílio financeiro da prefeitura, 9,7% (3/31) contribuem com a aposentadoria, 19,4% (6/31) trabalhavam como diarista, 3,2% (1/31) possuem auxílio do companheiro(a) e 3,2% (1/31) possuem auxílio defeso (Tabela 2). A complementação de renda pelos pescadores artesanais tem aumentado devido o aumento da poluição, pesca predatória e períodos de defeso, tornando-se difícil a sua subsistência apenas com o pescado capturado.

Silva et al., (2009), relataram em seu estudo que uma parcela das pessoas entrevistadas informou trabalhar apenas com a pesca artesanal, porém, algumas possuíam trabalhos extras como na construção civil e no comércio.

Tabela 2. Índices socioeconômicos relacionados à renda dos pescadores e marisqueiras entrevistados no município de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.

Atividade	Percentual (nº indivíduos/total)
Fonte de renda	
Fonte Pesca e/ou a mariscagem	32,0% (10/31)
Não é só a Pesca e/ou a mariscagem	68,0% (21/31)
Outras atividades Econômicas	
Bolsa família	19,4% (06/31)
Auxílio financeiro da prefeitura	45,0% (14/31)
Aposentadoria	09,7% (03/31)
Atividade de diarista	19,4% (06/31)
Auxílio de companheiro	03,2% (01/31)
Auxílio defeso	03,2% (01/31)
Renda	
>1 salário	45,0% (14/31)
1 a 2 salários	55,0% (17/31)
Contribuição na renda familiar	
2 pessoas	74,2% (23/31)
3 a 4 pessoas	19,4% (06/31)
>5 pessoas	06,5% (02/31)

Para 55% (17/31) dos entrevistados a renda varia entre um a dois salários mínimos, enquanto para os demais, 45% (14/31), a renda não atinge um salário. Quanto à contribuição na renda familiar, 74,2% (23/31) dos entrevistados responderam que até duas pessoas contribuía, 19,4% (6/31) informaram que de três a quatro pessoas e 6,5% (2/31) responderam acima de cinco pessoas (Tabela 2). Percebe-se que na composição da renda familiar há um incremento com outras atividades além da pesca.

Corroborando com estes resultados Silva e Andrade (2010) relataram que os pescadores na praia da Penha - PB obtinham uma renda mensal em torno de um salário mínimo. Enquanto Garcez e Sánchez-Botero (2005), relataram renda mensal média do pescador no estado do Rio Grande do Sul, variando de meio a

quatro salários mínimos, distribuídos da seguinte forma: 0,5 - 1 salário mínimo para 37% dos pescadores; 1,1 - 3 para 52% e 3,1 - 4 para 11%.

Famílias que residiam em casa própria foi verificado para 94% (29/31) dos entrevistados, onde 100% (31/31) possuem energia elétrica, 87% (27/31) tem água advinda da central de abastecimento, 9,7% (3/31) coletam água de corpos d'água como os rios e 3,2% (1/31) possuem poços ou cisternas. O sistema de esgotamento sanitário é captado em 74,2% (23/31) das casas, 19,4% (6/31) das residências possuem fossas negras e em 6,5% (2/31) o esgoto é liberado a céu aberto (Tabela 3).

A coleta pública de lixo é realizada em 90,3% (28/31) das casas, enquanto 9,7% (3/31) dos entrevistados informaram queimar o lixo em suas residências (Tabela 3). Estes índices demonstram que a maioria dos entrevistados possuem condições básicas de moradia, embora tenha sido observado pessoas residindo em habitações desprovidas destes serviços.

Tabela 3. Índices socioeconômicos relacionados às condições de moradia dos entrevistados no município de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.

Atividade	Percentual (nº indivíduos/total)
Condições de Moradia	
Casa própria	94,0% (29/31)
Casa de Aluguel (outros)	06,5% (02/31)
Abastecimento de energia elétrica	
Energia elétrica	100% (31/31)
Abastecimento de água	
Água encanada (privado)	87,0% (27/31)
Corpos d'água (rios)	09,7% (03/31)
Poços ou cisternas	03,2% (01/31)
Sistema de esgotamento Sanitário	
Esgotamento sanitário Captado	74,2% (23/31)
Fossas negras	19,4% (06/31)
Esgoto liberado a céu aberto	06,5% (02/31)
Coleta de Lixo	
Coleta pública	90,3% (28/31)
Queimar	09,7% (03/31)
Bens duráveis	
Televisão e fogão	100% (31/31)

Geladeira	90,3% (28/31)
Telefone fixo	22,6% (07/31)
Computador e/ou carro	100% (31/31)
Alimentação	
Consumem Pescado	54,8% (17/31)
Frango	29,0% (9/31)
Carne	16,1% (5/31)
Animais na residência	
Cachorro	38,7% (12/31)
Gato	19,4% (06/31)
Passarinhos ou galináceos	16,1% (05/31)
Peixes ornamentais	03,2% (01/31)
Não possuem animais	25,8% (08/31)

Embora o município de São Francisco do Conde apresente um índice de desenvolvimento econômico entre os três melhores do estado, os demais índices que medem as condições de educação e saúde encontram-se entre os piores, colocando o município na 139^o e 178^o posição, respectivamente, evidenciando que a alta arrecadação municipal não implica em benefícios para a população (FONTOURA; ARAÚJO; SANCHES, 2009).

Freitas et al. (2012) em Barra Grande no Piauí também relataram resultados semelhantes, onde a água encanada era usufruída por 86% dos entrevistados e 14% utilizavam poços para o abastecimento doméstico de água. Segundo os autores, apenas 1,59% não possuíam energia elétrica, 77,78% afirmaram ter fossa séptica negra, 15,87% possuíam fossa séptica e 6,35% não possuíam nenhum tipo de fossa. Quanto ao destino do lixo, 73,02% utilizam coleta pública, 19,05% deixavam seu lixo a céu aberto, 4,76% o queimavam e 3,17% enterravam o lixo doméstico.

Quanto á presença de bens duráveis nas residências, 100% (31/31) dos entrevistados afirmaram possuir televisão e fogão, 90,3% (28/31) possuem geladeira e 22,6% (7/31) telefone fixo, embora 100% (31/31) responderam não possuir computador e carro (Tabela 3). Machado, Fagundes e Henriques (2010) em sua pesquisa com extrativistas de ostras observaram uma baixa ocorrência de veículos automotivos, sendo os bens domésticos mais encontrados, a geladeira, a televisão e o rádio.

Com relação á alimentação, 54,8% (17/31) dos entrevistados afirmaram consumir frequentemente o pescado, 29% (9/31) o frango e 16,1% (5/31) carne bovina. Quanto a presença de animais em suas residências, 38,7% (12/31) declararam possuir cachorro, 19,4% (6/31) gato, 16,1% (5/31) passarinhos ou galináceos, 6,5% (2/31) carneiro e 3,2% (1/31) peixes ornamentais.

O elevado consumo de pescado pelos entrevistados pode ser atribuído a captura direta do ambiente, não possuindo custos adicionais, o mesmo acontecendo com os frangos criados em casa e utilizados para a alimentação. A carne bovina por possui um maior custo é consumida em menor escala. Garcez e Sanchez-Botero (2005) relataram que as carnes mais frequentemente consumidas pelas famílias de pescadores são o peixe, a carne bovina e o frango, sendo o peixe consumido em 54% dos casos, estando em consonância com os resultados encontrados em São Francisco do Conde.

3.2. Aspectos de saúde pública

No aspecto saúde pública, os serviços médicos mais utilizados foram: uso do hospital e/ou o posto de saúde (41,9%) e farmácia (9,7%), enquanto 9,7% (3/31) informaram não utilizar qualquer serviço citado anteriormente (Tabela 4). Dentre o tipo de atendimento de saúde utilizado, 93,5% (29/31) das pessoas faz uso do Sistema Único de Saúde (SUS), apenas 3,2% (1/31) possuem convênio particular e um (3,2%) entrevistado se recusou a responder. Unidades de saúde próximas ás residências foi observado em 67,7% (21/31) dos entrevistados.

Tabela 4. Perfil dos aspectos de saúde pública dos entrevistados no município de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.

Atividade	Percentual (nº indivíduos/total)
Serviços médicos utilizados	
Hospital e/ou o posto de saúde	41,9% (13/31)
Farmácia	09,7% (03/31)
Outros	09,7% (3/31)
Atendimento de saúde	
Sistema Único de Saúde (SUS)	93,5% (29/31)
Convênio particular	03,2% (01/31)
Não respondeu	03,2% (01/31)
Vacinação	
Sim	96,2% (25/31)

Não	03,8% (01/31)
Doenças em crianças	
Gripe	58,1% (18/31)
Febre	22,6% (07/31)
Dor de cabeça e micoses	09,7% (03/31)
Não sabem	06,5% (02/31)
Doenças em adultos	
Gripe	35,5% (11/31)
Hipertensão	16,1% (05/31)
Dor de cabeça	12,9% (04/31)
Não informaram	09,7% (03/31)
Não sabiam	06,5% (02/31)
Doenças em idosos	
Gripe	32,3% (10/31)
Hipertensão	22,6% (07/31)
Problemas na coluna	12,9% (04/31)
Outras	58,0% (18/31)
Não sabe	03,2% (01/31)
Água como um vetor de doenças	
Sabem	90,0% (28/31)
Não sabem	10,0% (03/31)
Consumo de água	
Mineral	19,4% (06/31)
Filtrada	41,9% (13/31)
Fervida	03,2% (01/31)
Sem tratamento	35,5% (11/31)
Higiene Pessoal	
Lavam as mãos após uso do banheiro	96,8% (30/31)
Algumas vezes lavam	03,2% (01/31)

Os pescadores e marisqueiras compõem comunidades que apresentam baixa renda, tendo nos sistemas de saúde pública a referência em assistência médica. O aumento de unidades públicas de saúde próximas às residências dos franciscanos demonstra a preocupação da gestão municipal com a saúde, embora, os percentuais de unidades acessíveis nem sempre condizem com o número de atendimentos, uma vez que estes ainda são precários no Brasil.

Mattos, Nobre e Aloufa (2011) constataram que nas comunidades estudadas na Reserva de Desenvolvimento Sustentável Ponta do Tubarão no estado do Rio Grande do Norte, os serviços públicos de segurança e saúde são precários, tendo como principal queixa a ausência de médico para o atendimento em caráter de

urgência. Machado, Fagundes e Henriques (2010) relataram que quase a totalidade dos núcleos familiares da comunidade extrativista de ostras em Cananéia, São Paulo, mencionou procurarem a assistência pública municipal.

Quanto á vacinação, percebeu-se em meio aos pesquisados uma elevada conscientização em relação a imunização das crianças, alcançando uma taxa de 96,2% (25/31), embora ainda exista pais que não vacinam seus filhos, 3,8% (1/31) (Tabela 4). A elevada taxa de vacinação das crianças pode ser atribuída ás intensivas campanhas de vacinação realizadas na mídia e no sistema de saúde pública, bem como à responsabilidade da mãe a respeito da saúde infantil.

Com relação às doenças de maior ocorrência nas crianças, a gripe foi a mais citada com 58,1% (18/31), seguida de febre 22,6% (7/31), dor de cabeça e micoses 9,7% (3/31), não souberam responder 6,5% (2/31). Para os adultos, as doenças mais referidas também foram a gripe 35,5% (11/31), hipertensão com 16,1% (5/31), dor de cabeça com 12,9% (4/31), não souberam informar 6,5% (2/31) (Tabela 4).

Segundo os entrevistados, 32,3% (10/31) dos idosos são acometidos com frequência de gripe, 22,6% (7/31) com hipertensão, 12,9% (4/31) com problemas na coluna, 58% (18/31) outras doenças e 3,2% (1/31) não souberam responder (Tabela 4). Diante dos percentuais percebe-se uma maior presença de doenças transmitidas por vírus, que em geral são recorrentes. As demais doenças podem ser associadas a poluição (micoses), insolação e/ou problemas oftalmológicos (dor de cabeça), ou ainda patologias de origens genéticas ou associadas com a alimentação e atividades desenvolvidas, como a hipertensão e problemas na coluna.

Quando questionados sobre a possibilidade da água transmitir doenças ao homem, 90% (28/31) responderam saber que sim, embora não soubessem explicar com exatidão, citando as diarreias e alergias (inclusive de pele) como as doenças mais comuns. A ingestão de água filtrada era utilizada por 41,9% (13/31) dos pescadores e marisqueiras, embora água sem tratamento fosse utilizada por 35,5% (11/31) (Tabela 4).

A água pode se tornar um veículo de carreamento de micro-organismos patogênicos ao homem, em ambientes onde apresentam fatores contaminantes, como deságue de esgotos e resíduos industriais. A ingestão ou contato com

águas contaminadas representa um problema á saúde humana e a sanidade do ambiente.

Santos (2005) observou que em 50,53% das residências de pescadores artesanais no nordeste do estado do Pará, a água para ingestão é armazenada em potes e filtros e em 39,58% não há qualquer tipo de armazenamento. Um dado que chama a atenção é o fato de que 88,69% das residências utilizam a água para consumo diretamente da fonte, sem nenhum tratamento prévio.

Nas residências onde residem crianças, 13,6% (3/22) delas apresentavam diarreia frequente, enquanto os adultos atingiam um percentual de 9,7% (3/31), sendo as causas mais prováveis, a água 16,1% (5/31) e o alimento 9,7% (3/31). Dentre os alimentos citados, observou-se comida de rua, peixe, camarão e pimenta. O percentual dos que não souberam responder foi de 6,5% (2/31) dos entrevistados.

Com relação à higiene pessoal, 96,8% (30/31) dos entrevistados responderam lavar as mãos após usarem o banheiro e 3,2% (1/31) declararam o fazer apenas algumas vezes (Tabela 4).

No momento da pesquisa observou-se que os entrevistados se mostravam constrangidos, e muitas vezes, impelidos a responderem de forma afirmativa as questões que condiziam com os hábitos de higiene, como lavar as mãos após o uso do banheiro. No entanto, os dados encontrados relativos aos casos de diarreia, contradizem o que foi declarado, em virtude deste sintoma ser em geral associado a contaminação bacteriana e em sua maioria de origem fecal.

Quando questionados sobre os problemas de saúde decorrente da falta de higiene, 93,5% (29/31) afirmaram que tinham conhecimento, embora não soubessem responder exatamente qual afecção poderia ser ocasionada, citando bactérias 32,3% (10/31), diarreia 19,4% (6/31), vermes 12,9% (4/31), entre outras. Dezesseis por cento dos entrevistados não tinham noção dos problemas causados (Tabela 4).

Quanto ao consumo e aquisição do pescado, 100% (31/31) dos entrevistados informaram consumir, 87% (27/31) afirmaram que o pescado era capturado por eles ou por algum membro da família, enquanto 13% (4/31) capturavam o pescado ou o adquiriam na feira livre (Tabela 5). Em sua pesquisa, Silva et al., (2009) citam que o pescado era consumido por 84,3% das famílias de

pescadores. Algumas famílias, principalmente, aquelas com poder aquisitivo mais baixo, consumiam todos os dias, e em grande quantidade peixe proveniente da própria pescaria, vindo a justificar os resultados encontrados por este estudo. Vários trabalhos tem destacado o grande consumo do pescado como fonte alimentar, graças ao seu valor nutritivo, fácil digestibilidade e diversidade de sabor (DIAS et al., 2007).

Tabela 5. Índices de saúde pública relacionados ao consumo de pescado dos entrevistados do município de São Francisco do Conde – Bahia, no ano de 2012.

Atividade	Percentual (nº indivíduos/total)
Aquisição do pescado	
Capturado	87,0% (27/31)
Capturavam/ adquiriam em feira livre	13,0% (04/31)
Qualidade do Pescado	
Boa	74,0% (23/31)
Ruim	26,0% (08/31)
Ingestão de ostra in natura	
Sim	41,9% (13/31)
Não	58,0% (18/31)
Já passou mal	
Sim	06,5% (02/31)
Não	93,0% (29/31)

Quando questionado se havia qualidade no pescado comercializado no município, 74% (23/31) afirmaram que sim, enquanto 26% (8/31) responderam que não. Quanto á ingestão de ostras crua, 41,9% (13/31) responderam consumir, sendo que 6,5% (2/31) já haviam passado mal devido a sua ingestão (Tabela 5).

O consumo de pescado capturado no estuário e em suas imediações é motivo de inquietação relacionado á saúde pública, devido á poluição marcante que existe nessa região e ao fato do hábito alimentar das ostras que são consumidas in natura (DALTRO et al., 2012).

Muitos surtos alimentares em humanos são decorrentes do consumo in natura de frutos do mar, que ingeridos sem o conveniente processamento térmico, podem carrear micro-organismos patogênicos ao trato gastrointestinal do homem (SANDE et al., 2010). Heinitz, Ruble e Tatini (2000) pesquisando a presença de

Salmonella spp. em mariscos, crustáceos e moluscos ao redor do mundo relataram que nos EUA a prevalência de *Salmonella* em moluscos, especialmente as ostras foi de 1,2%.

Com relação a utilização de medicação, 74,2% (23/31) das pessoas responderam utilizar habitualmente medicação receitada pelo médico, enquanto 54,8% (17/31) utiliza em maior porcentagem uma medicação caseira e 3,2% (1/31) não utilizavam nenhum tipo de medicação. As medicações caseiras vão desde chás 54,8% (17/31), xarope 12,9% (4/31) até banhos de folha 6,5% (2/31), utilizadas com o objetivo de sanar afecções ou sintomas como gripe, dor de barriga, tosse, problemas de estômago, entre outros. Demonstrando assim a utilização do conhecimento popular.

Quanto a proximidade da cisterna com a fossa séptica e a possibilidade desta causar uma contaminação do lençol freático, 87,1% (27/31) das pessoas informaram estar cientes que isso poderia acontecer, enquanto 12,9% (4/31) disseram não ter conhecimento sobre o assunto.

No que diz respeito a vacinação dos animais domésticos, 51,6% (16/31) dos entrevistados vacinam seus animais (cão e/ou gato) nas campanhas municipais. A vacinação possui um papel fundamental na saúde da família, por ser a raiva uma zoonose que leva a morte. Entretanto, 48,4% (15/31) informaram possuir animais, porém não eram inclusos em campanhas municipais de vacinação animal. Em geral estes animais eram de produção de pequeno porte voltados para o sustento da família.

3.3. Aspectos ambientais

A respeito da preservação ambiental, 100% (31/31) dos entrevistados acreditam que é importante preservar o meio ambiente, afirmando que procuram preservá-lo, 35,5% (11/31) não jogam lixo nas ruas, 22,6% (7/31) atuam em ações de retirada de lixo do estuário, 16,1% (5/31) reúnem o lixo para a coleta e 16,1% (5/31) não cortam as árvores do mangue.

Questionados se conheciam pessoas que poluíam a cidade, estes apresentaram hesitação, embora 58,1% (18/31) respondessem que sim, 38,7% (12/31) responderam que não e 3,2% (1/31) se recusaram a responder (Tabela 6).

Tabela 6. Percepção sobre o ambiente dos entrevistados do município de São Francisco do Conde – BA, no ano de 2012.

Atividade	Percentual (nº indivíduos/total)
Conhece pessoas que poluem	
Sim	58,1% (18/31)
Não	38,7% (12/31)
Não responderam	03,2% (01/31)
Tipos de poluição citadas	
Lixo	54,8% (17/31)
Fábrica de papel	06,5% (02/31)
Poluição sonora	03,2% (01/31)
Esgoto	19,4% (06/31)
Carro velho	06,5% (02/31)
Queimadas	03,2% (01/31)
Óleo da Petrobras	09,7% (03/31)
Nenhuma	19,4% (06/31)
Não Sabem	03,2% (01/31)
Situação do rio	
Poluído	71,0% (22/31)
Não poluído	29,0% (09/31)
Melhoria do meio ambiente	
Adotariam novos procedimentos	87,1% (27/31)
Não adotariam	12,9% (04/31)

O tipo de poluição mais citada na cidade foi o lixo com 54,8% (17/31), seguido pela presença de esgoto com 19,4% (6/31). O percentual de pessoas que não apontaram poluição na cidade foi de 19,4% (6/31) (Tabela 6).

Percebe-se que a maioria dos entrevistados possui uma percepção ambiental e realizam pequenos atos de preservação, no entanto, ainda há a necessidade de uma ampla conscientização e ações mais incisivas por parte do governo municipal, no que tange principalmente a proteção e preservação dos recursos ambientais.

Dias, Rosa e Damasceno (2007) relataram que na visão de 73,3% das marisqueiras, algumas atividades prejudicam o manguezal, sendo a degradação do mangue a maior preocupação entre elas, com 81,8%. A poluição por lixo, restos de vísceras de peixe e óleo de embarcações também despertou a apreensão de 18,2% das marisqueiras.

Do ponto de vista dos entrevistados á respeito do rio da cidade, 71% (22/31) acreditam que este se apresenta poluído e 97% (30/31) acham importante a realização de um projeto para a recuperação dos mesmos. Ao serem

questionados sobre a adoção de novos procedimentos para a melhoria do meio ambiente e da comunidade, 87,1% (27/31) responderam que adotariam, enquanto 12,9% (4/31) responderam que não (Tabela 6).

Às pessoas que deram resposta afirmativa, foi perguntado quais procedimentos poderiam ser adotados, dentre as várias sugestões ouvidas, as mais citadas foram não descartar o lixo em qualquer lugar, não queimá-lo, a realização de campanhas educativas, palestras, bem como o estabelecimento de uma cooperativa e mutirões de limpeza.

Com relação a questão ambiental e as medidas de preservação, 45,2% (14/31) dos entrevistados não opinaram e 3,2% (1/31) não souberam responder.

Segundo Pereira (2008), a educação ambiental possui entre suas prioridades, a tarefa de construir uma nova racionalidade no uso dos recursos naturais, bem como, da condição saudável de vida entre os seres humanos. A educação ambiental é uma tarefa a ser ampliada com a população ribeirinha, visando a conservação deste ambiente e seus recursos.

Quanto à atividade de pesca, 90,3% (28/31) dos entrevistados responderam que na região pesca-se muito peixe e/ou marisco, enquanto 3,2% (1/31) responderam que não e 6,5% (2/31) não opinaram (Tabela 7). Setenta e um por cento (22/31) dos entrevistados tem a pesca como sendo de boa qualidade, porém, apresenta algumas deficiências. A atual produção não é suficiente à sobrevivência destes pescadores e quando comparada a períodos anteriores, percebe-se uma relativa queda. Este fato é atribuído pelos pescadores à presença de dejetos industriais no mar e a pesca utilizando material explosivo, uma atividade ilegal, mas que ocorre com frequência na região.

Tabela 7. Percentagem de entrevistados e sua respectiva opinião sobre a quantidade de pescado capturado na região de São Francisco do Conde – BA, no ano de 2012.

Pesca	Percentual (nº indivíduos/total)
Pesca-se muito	90,3% (28/31)
Pesca-se pouco	03,2% (01/31)
Não respondeu	06,5% (02/31)

Ação antrópica é relatada na praia da Penha, Paraíba, como um dos fatores que contribuiu para a redução da pesca na região, consequência da pesca desenfreada, equipamentos inadequados e proibidos, desrespeito na captura, coletando-se indivíduos jovens, assim como na época de desova, bem como, a ação de grandes empresas que utilizam redes de arrasto em extensas regiões (SILVA; ANDRADE, 2010).

Questionados sobre a participação em programas ambientais, 54,8% (17/31) dos entrevistados afirmaram que sim, enquanto 45,2% (14/31) responderam que não. Participação em ações comunitárias foi observada em 29% (9/31) dos entrevistados, enquanto 71% (22/31) responderam que não.

Os programas de apoio à pesca artesanal são alternativas que podem auxiliar essa atividade em seu manejo e delineamento, mediada pelo conhecimento tradicional das comunidades pesqueiras e informações coletadas em pesquisas científicas. No entanto, pouca atenção é concedida quanto às informações relacionadas ao perfil socioeconômico dos pescadores artesanais, assim como na estrutura organizativa da pesca (SILVA et al., 2009; FREITAS et al., 2012).

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se observar a importância da pesca artesanal no município de São Francisco do Conde-Ba, contribuindo tanto para a renda familiar, como para a economia do município. Entretanto, o papel exercido por essa atividade na economia da região, não vem cumprindo a principal função que é a subsistência do pescador, tendo este que buscar outras alternativas de renda.

Do ponto de vista de saúde pública nota-se a necessidade de uma melhor divulgação sobre hábitos de higiene e profilaxia de doenças de origem infecciosa. Fazendo-se necessário uma conscientização acerca dos danos causados a saúde pelo descarte indevido de resíduos sólidos nos rios e a sua influência nos organismos aí presentes.

Desse modo, é evidente a necessidade de uma parceria da colônia de pescadores com os órgãos ambientais fiscalizadores, afim de que providências possam ser tomadas quanto á poluição e a pesca predatória.

5. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. R. da R. F. D. S.; SILVA, F. D.; SANTANA, R. F.; LOPES, D. F. C. Gestão da pesca de *Mytella charruana* (D' ORBIGNY, 1846) no litoral do estado de Sergipe: indicadores de sustentabilidade. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, São Luís, v. 4, n. 2, p. 56-70, 2009.

BAHIA – Secretaria do Meio Ambiente (SEMA) – Governo do Estado da Bahia. **APA – Área de Proteção Ambiental Joanes – Ipitanga**. 2012. Disponível em: <<http://www.meioambiente.ba.gov.br/conteudo.aspx?s=APAJOANE&p=APAAPA>> . Acesso em: 08 out. 2012.

DALTRO, A. C. S.; SILVA, I. P.; SOUZA, J. dos S. de, SARAIVA, M. A. F., EVANGELISTA-BARRETO, N. S. *Enterococcus faecalis* isolated from bivalve molluscs in natura harvested from São Francisco do Conde, Bahia, Brazil. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 11.. 2012, Buenos Aires. **Resumos...** Buenos Aires: AAM, 2012. P. 209.

DIAS, T. L. P.; ROSA, R. de S.; DAMASCENO, L. C. P. Aspectos socioeconômicos, percepção ambiental e perspectivas das mulheres marisqueiras da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Ponta do Tubarão (Rio Grande do Norte, Brasil). **Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 25-35, 2007.

FAO. Food and agriculture organization of the United Nation. Fisheries and Aquaculture Department. **Tipos de pesca**, 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/en>>. Acesso em: 24 out. 2012.

FELIZZOLA, J. F. **Especialização de Compostos Butílicos de Estanho em Sedimentos Superficiais da Baía de Todos os Santos**. 2005. 117 f. Dissertação (Mestrado em Ciência ambiental) – Pontifícia Universidade Católica, Rio de Janeiro, 2005.

FONTOURA, M.; ARAÚJO, T.; SANCHES, L. **Caracterização geral do município de São Francisco do Conde**. São Francisco do Conde: Prefeitura Municipal de São Francisco do Conde, 2009. 22p. Disponível em: <<http://xa.yimg.com/kq/groups/22932852/135843512/name/Caracteriza%C3%A7%C3%A3o+de+S%C3%A3o+Francisco+do+Conde-Atualizado+08+out+2009.pdf>>. Acesso em: 27 abr. 2013.

FREITAS, S. T.; PAMPLIN, P. A. Z.; LEGAT, J.; FOGAÇA, F. H. dos S.; BARROS, R. F. M. de. Conhecimento tradicional das marisqueiras de Barra Grande, Área de Proteção Ambiental do Delta do Rio Parnaíba, Piauí, Brasil. **Ambiente & Sociedade**, São Paulo, v. XV, n. 2, p. 91-112, 2012.

FUZETTI, L.; CORRÊA, M. F. M. Perfil e renda dos pescadores artesanais e das vilas da Ilha do Mel – Paraná, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 609-621, 2009.

GARCEZ, D. S.; SÁNCHEZ-BOTERO, J. I. Comunidades de pescadores artesanais no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Atlântica**, Rio Grande, v. 27, n. 1, p. 17-29, 2005.

HEINITZ, M. L.; RUBLE, R. D.; TATINI, S.R. Incidence of Salmonella in fish and seafood. **Journal of Food Protection**, Des Moines, V. 63, n. 5, p. 579–592, 2000.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades**, 2010. Disponível em: <www.ibge.gov.br/cidadesat/painel/painel.php?codmun=292920>. Acesso em: 22 out. 2012.

KABAD, J. F.; BASTOS, J. L.; SANTOS, R.V. Raça, cor e etnia em estudos epidemiológicos sobre populações brasileiras: revisão sistemática na base PubMed. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 895-918, 2012.

MACHADO, I. C.; FAGUNDES, L.; HENRIQUES, M. B. Perfil socioeconômico e produtivo dos extrativistas da ostra de mangue *Crassostrea* spp. em Cananéia, São Paulo, Brasil. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 40, n. 7, 2010.

MATTOS, P. P.; NOBRE, I. de M.; ALOUFA, M. A. I. Reserva de desenvolvimento sustentável: avanço na concepção de áreas protegidas? **Sociedade & Natureza**, Uberlândia, ano 23, n. 3, p. 409-422, 2011.

PEREIRA, M. O. da R. Educação ambiental com pescadores artesanais: um convite à participação. **Práxis Educativa**, Ponta Grossa, PR, v. 3, n. 1, p. 73-80, 2008.

SANDE, D.; MELO, T. A.; OLIVEIRA, G. S. A.; BARRETO, L.; TALBOT, T.; BOEHS, G.; ANDRIOLI, J. L. Prospecção de moluscos bivalves no estudo da poluição dos rios Cachoeira e Santana em Ilhéus, Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 190-196, 2010.

SANTOS, M. A. S. dos. A cadeia produtiva da pesca artesanal no estado do Pará: estudo de caso no nordeste paraense. **Amazônia: Ciência e Desenvolvimento**, Belém, v. 1, n. 1, 2005.

SILVA, M. E. P. A. da.; CASTRO, P. M. G. de.; MARUYAMA, L. S.; PAIVA, P. de. Levantamento da pesca e perfil socioeconômico dos pescadores artesanais profissionais no reservatório Billings. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 531-543, 2009.

SILVA, L. L.; ANDRADE, M. O. de. Pescadores artesanais da praia da Penha – PB: novos paradigmas. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 10, n. 2, 2010.

VASCONCELOS, E. M. S.; LINS, J. E.; MATOS, J. A.; JÚNIOR, W.; TAVARES, M. M. Perfil socioeconômico dos produtores da pesca artesanal marítima do

estado do Rio Grande do Norte. **Boletim Técnico-científico do CEPENE**, Tamandaré, v. 11, n. 1, p. 277-292, 2003.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS MOLUSCOS BIVALVES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE SÃO FRANCISCO DO CONDE, BAHIA

Artigo a ser submetido ao comitê editorial do periódico Brazilian Journal Microbiology.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DOS MOLUSCOS BIVALVES COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE SÃO FRANCISCO DO CONDE, BA

RESUMO: Essa pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica dos moluscos bivalves, ostras (*Crassostrea* sp.), sururu in natura e processado (*Mytella* sp.), extraídos e comercializados no município de São Francisco do Conde, Baía de Todos os Santos, Bahia, usando como bioindicadores as bactérias do grupo dos coliformes, enterococos e presença de *Salmonella*. A quantificação de coliformes a 35°C nas amostras de ostras variou de $<1,8 \times 10^2$ a $9,2 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹, no sururu in natura de $1,3 \times 10^4$ a $1,6 \times 10^8$ NMP.100g⁻¹ e no sururu processado de $<1,8 \times 10^2$ a $1,6 \times 10^{10}$ NMP.g⁻¹. Para os coliformes a 45°C, nas amostras de ostras os valores foram de $<1,8 \times 10^2$ a $1,7 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹, no sururu in natura de $1,1 \times 10^3$ a $9,2 \times 10^7$ NMP.100g⁻¹ e no sururu processado de $<1,8 \times 10^2$ a $3,2 \times 10^6$ NMP.g⁻¹. Para os *Enterococcus* sp. os valores obtidos nas amostras de ostras foram de $<3,0 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^5$ NMP.100g⁻¹, no sururu in natura de $<3,0 \times 10^2$ a $>1,1 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹ e no sururu processado de $2,1 \times 10^4$ a $>1,1 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹. A presença de *Escherichia coli* foi detectada em 67% (10/15) nas amostras de sururu in natura, 73% (11/15) nas amostras de ostras e em 53% (8/15) nas amostras de sururu processado. Do total de 139 cepas de *Enterococcus* isoladas, 48% pertenceram à espécie *E. faecalis*. *Salmonella* foi isolada em 27% (4/15) tanto nas amostras de sururu in natura, quanto no sururu processado, e em 13,3% (2/15) nas amostras de ostras. Das 43 cepas de *Salmonella* isoladas, 21 foram identificadas como *Salmonella* entérica subespécie entérica e 22 para *Salmonella* sp. Os moluscos bivalves extraídos em São Francisco do Conde apresentam baixa qualidade microbiológica, bem como falhas em boas práticas de manipulação durante o seu beneficiamento, podendo servir de veículo para surtos alimentares.

Palavras-chaves: Coliformes, *Salmonella*, enterococos, ostras, sururu.

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF BIVALVE MOLLUSCS MARKETED IN SÃO FRANCISCO DO CONDE - BA

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the microbiological quality of bivalve molluscs oysters (*Crassostrea* sp.), mussels in natura and processed mussels (*Mytella* sp.), extracted and marketed in São Francisco do Conde, Baía de Todos os Santos, Bahia, using bacteria of the group coliforms, enterococci, and the presence of *Salmonella* as indicators. The enumeration of coliforms at 35°C in the oyster samples ranged from $<1.8 \times 10^2$ to 9.2×10^6 NMP.100g⁻¹, in mussels in natura from 1.3×10^4 to 1.6×10^8 NMP.100g⁻¹ and processed mussels $<1.8 \times 10^2$ to 1.6×10^{10} NMP.g⁻¹. Regarding coliforms at 45°C, in samples of oysters values were $<1.8 \times 10^2$ to 1.7×10^6 NMP.100g⁻¹, in mussels in natura from 1.1×10^3 to 9.2×10^7 NMP.100g⁻¹ and processed mussels $<1.8 \times 10^2$ and 3.2×10^6 NMP.g⁻¹. For *Enterococcus* sp. values obtained in oyster samples were $<3.0 \times 10^2$ to 1.1×10^5 NMP.100g⁻¹ in mussels in natura from $<3.0 \times 10^2$ to $> 1.1 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹ and processed mussels in a 2.1×10^4 to $> 1.1 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹. *Escherichia coli* was detected in 67% (10/15) on samples of mussels in natura, 73% (11/15) in the oyster samples and 53% (8/15) on samples of processed mussels. Of the total number of 139 strains of *Enterococcus* isolated belonged to the species 48% *Enterococcus faecalis*. *Salmonella* was isolated in 27% (4/15) on samples of mussels in natura and the same amount, 27% (4/15) in processed mussels, and 13.3% (2/15) on samples of oysters. Of the 43 *Salmonella* strains isolated, 21 strains belonged to the species *Salmonella enterica* subspecies *enterica* and 22 strains for *Salmonella* sp. Bivalve molluscs marketed in São Francisco do Conde have no microbiological quality due to the presence of enteric bacteria, which can serve as a vehicle for outbreaks.

Keywords: coliforms, *Salmonella*, enterococci, oysters, mussels.

1. INTRODUÇÃO

Os recursos marinhos representam importante fonte de alimento, sendo a sua extração uma atividade rotineira para as populações ribeirinhas (FARIAS et al., 2010).

A gradativa destruição do meio ambiente causada pela poluição dos estuários e mangues associados, sobre-exploração dos recursos pesqueiros, aterro de manguezais, dentre outros impactos, tem levado a redução de diversos organismos marinhos e estuarinos, principalmente em áreas onde predomina a pesca artesanal (DIAS; ROSA; DAMASCENO, 2007). Essa contaminação origina dois relevantes problemas em saúde pública, riscos associados a banhos em locais contaminados e o consumo de organismos aquáticos, como por exemplo, ostras e mexilhões (EVANGELISTA-BARRETO; SOUSA; VIEIRA, 2008).

Devido a característica de animais filtradores, os moluscos bivalves podem acumular diversos patógenos presentes em águas contaminadas por efluentes, sendo utilizados como bioindicadores da qualidade do ambiente (FARIAS et al., 2010). Essa característica acumuladora faz com que os moluscos sejam frequentemente associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA's) devido a presença de patógenos.

Diante da dificuldade no isolamento de micro-organismos patogênicos em amostras ambientais, indicadores microbiológicos tem sido utilizados para a avaliação da poluição, principalmente quando se trata da presença de material de origem fecal. Os micro-organismos indicadores mais utilizados são as bactérias do grupo dos coliformes, *Escherichia coli* e *Enterococcus* sp. A presença do grupo dos coliformes indica que o alimento encontra-se em condições sanitárias insatisfatórias (VIEIRA et al., 2008; EFSTRATIOU; MAVRIDOU; RICHARDSON, 2009).

O habitat natural da *E. coli* é o intestino do homem e animais de sangue quente, sendo eliminada em grande quantidade nas fezes (TORTORA; FUNKE;

CASE, 2005). Por não fazer parte da microbiota natural do pescado marinho, a presença de *E. coli* está associada principalmente à contaminação de origem fecal da água (BARROSO et al., 2006), podendo ser considerada a bactéria indicadora mais específica para este tipo de contaminação recente e da possível presença de micro-organismos patogênicos entéricos, tanto de natureza bacteriana quanto viral ou parasitária, cujos prejuízos à população são amplamente reconhecidos (BRASIL, 2001).

Os *Enterococcus* são micro-organismos de origem fecal, e encontram-se livremente no solo, em plantas ou em produtos lácteos. Eles foram propostos como indicadores de contaminação fecal em água por causa da sua abundância nas fezes e a sua sobrevivência a condições adversas no meio ambiente (MANERO; BLANCH, 1999).

A *Salmonella* é um micro-organismo patogênico que pode contaminar peixes e mariscos em decorrência de águas poluídas ou durante o armazenamento e processamento (AMAGLIANI; BRANDI; SCHIAVANO, 2012). Esta bactéria tem como habitat o trato intestinal de animais de sangue quente, destacando-se como uma zoonose de risco para a saúde pública (CARRASCO; MORALES-RUEDA; GARCÍA-GIMENO, 2012).

De acordo com este contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica dos moluscos bivalves extraídos e comercializados no município de São Francisco do Conde – BA.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta das amostras

Este estudo foi realizado no município de São Francisco do Conde (12°62' S e 38°68' W) situado na Baía de Todos os Santos, onde existem diversas comunidades de pescadores e marisqueiras. Nessa área, no período de setembro de 2010 a fevereiro de 2012, foram efetuadas 15 coletas de ostras, sururu in natura e sururu beneficiado. Em cada coleta foram adquiridas 60 ostras, perfazendo um total de 900 indivíduos analisados. Para o sururu in natura, foi utilizada uma média de 80 indivíduos por amostragem, totalizando 1.200

indivíduos. O sururu beneficiado foi adquirido no mercado municipal da cidade, de diversos comerciantes.

As amostras de ostras, sururu in natura e sururu processado foram transportadas em sacos plásticos, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB.

2.2. Análises microbiológicas

A avaliação da qualidade microbiológica dos alimentos foi verificada quantificando o grupo dos coliformes a 35°C e a 45°C, o grupo dos *Enterococcus* sp., além da presença de *Salmonella* sp.

Para as análises de ostras e sururu in natura, estas foram abertas em condições assépticas após lavagem com escovação em água corrente. Em seguida, foram pesados 25 g de um pool do líquido intervalvar e tecidos moles, homogeneizados e realizados os testes microbiológicos. Para o sururu processado, este foi adquirido no mercado municipal de São Francisco do Conde em embalagens de 250 g.

2.2.1. Grupo dos coliformes

Para a quantificação do grupo dos coliformes, 25 g de músculo e líquido intervalvar foram homogeneizados em 225 mL de solução salina a 0,85% em liquidificador sanitizado. Esta preparação correspondeu à diluição 10^{-1} e a partir desta foram realizadas as demais diluições até 10^{-8} utilizando o mesmo diluente. Em seguida, inoculou-se 1 mL da amostra de cada diluição em uma série de cinco tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) (Himedia) contendo tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados a 35°C por 48 horas. Dos tubos positivos, ou seja, que apresentavam turvação e produção de gás nos tubos de Durham, inoculou-se com o auxílio de uma alça de níquel cromo, tubos de ensaio contendo Caldo Bile Verde Brilhante (CBVB) (Himedia) para os coliformes a 35°C e caldo *E. coli* (EC) (Acumedia) para os coliformes a 45°C, contendo tubos de Durham invertidos. Os tubos de CBVB foram incubados a 35°C por 48 horas e os de EC em banho-maria a 45°C por 24 horas. Posteriormente, os tubos positivos

com crescimento e produção de gás foram anotados para consulta à Tabela de Hoskins, para a quantificação do número mais provável (NMP) por 100 gramas de amostra. Para o isolamento de *E. coli* dos tubos positivos no caldo EC, foram retiradas alçadas e inoculadas em placas de Petri contendo agar Eosina Azul de Metileno (EMB) (Himedia) e incubadas a 37°C por 24 horas. As colônias características de *E. coli*, ou seja, negras com ou sem brilho verde metálico foram isoladas e submetidas aos testes bioquímicos do IMViC (Indol, Vermelho de Metila (VM), Voges-Proskauer (VP) e Citrato de Simmons), segundo o Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods (SILVA et al., 2010).

2.2.2. Grupo dos Enterococos

A estimativa do NMP.g⁻¹ de *Enterococcus* sp. foi realizada através da técnica de tubos múltiplos proposta no Bergey's manual (BRENNER, 1984) com o auxílio da tabela de Hoskins (SILVA et al., 2010). Após a realização das diluições, as amostras foram inoculadas em caldo Dextrose Azida e incubadas a 35°C por 48 horas. Os tubos com crescimento microbiano, caracterizados pela turvação do meio, foram inoculados por esgotamento no meio seletivo agar Bile Esculina (ABE) e incubados a 35°C por 24 horas. Após esse período, as colônias que se apresentavam com centro negro foram consideradas características para o gênero e isoladas em agar Infusão de Cérebro e Coração (BHI) (Acumedia).

Para a identificação das espécies de *Enterococcus*, as cepas isoladas foram submetidas aos seguintes testes bioquímicos: crescimento a 4°C, 10°C e 45°C, motilidade, crescimento em meio hipersalino a 6,5% de NaCl, crescimento em pH 9,6, crescimento em 0,04% de telurito e fermentação dos carboidratos (arabinose, sacarose, manitol e sorbitol) (MANERO; BLANCH, 1999) (Tabela 1).

2.2.3. *Salmonella* sp.

Para a detecção de *Salmonella*, 25 g da amostra foi adicionada em Água Peptonada Tamponada (APT) e incubada a 37°C por 24 horas. Em seguida, alíquotas de 1 mL e 0,1 mL foram respectivamente inoculadas em 10 mL de caldo Tetracionato (TT) (Acumedia), à 35°C e em 10 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (RV) (Acumedia), à 42°C em banho-maria, ambos por 24 horas. Posteriormente,

foi retirada uma alçada de cada caldo e inoculado sobre a superfície dos meios seletivos em placas de Petri, agar Verde Brilhante (VB) e agar *Salmonella-Shigella* (SS) (Himedia), e incubados a 37°C por 24 horas. Em seguida, colônias rosadas no meio VB e colônias incolores ou com centro negro no meio SS foram isoladas em agar Triptona de Soja (TSA) (Himedia) e após, submetidas aos testes de triagem agar Ferro Açúcar Triplo (TSI), agar Lisina Ferro (LIA) (Himedia), indol, urease, malonato e citrato (Himedia). As cepas que apresentaram características bioquímicas típicas para o gênero *Salmonella* foram submetidas aos testes sorológicos utilizando o soro polivalente somático e o soro polivalente flagelar (Probac® do Brasil) (RODRIGUES; LAZARO; REIS, 2006; SILVA et al., 2010).

Tabela 1. Esquema para a identificação das espécies de *Enterococcus* sp.

<i>Enterococcus</i>	Motilidade	Telurito	6,5%	pH 9,6	4°C	10°C	45°C	Sacarose	Sorbitol	Arabinose	Manitol
<i>E. asini</i>	-	ND	-	ND	ND	V	V	-	-	-	-
<i>E. avium</i>	-	-	d	+	-	d	+	(+)	+	+	+
<i>E. casseliflavus</i>	+	d	+	+	ND	+	(+)	+	d	+	+
<i>E. durans</i>	-	-	+	+	ND	+	+	d	-	-	-
<i>E. faecalis</i>	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>E. faecium</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
<i>E. gallinarum</i>	+	d	+	+	-	+	+	+	d	+	+
<i>E. hirae</i>	-	-	+	+	ND	+	+	+	-	-	-
<i>E. malodoratus</i>	-	-	+	ND	ND	+	-	+	d	-	+
<i>E. mundtii</i>	-	d	+	+	ND	+	+	+	d	+	+
<i>E. pseudoavium</i>	-	-	d	+	ND	+	+	d	+	-	+
<i>E. solitarius</i>	-	-	+	ND	ND	(+)	+	+	d	-	+
<i>E. raffinosus</i>	-	-	+	+	ND	-	+	+	+	+	+
<i>E. cecorum</i>	-	ND	-	ND	ND	-	+	+	d	-	d
<i>E. dispar</i>	-	ND	+	ND	ND	+	-	+	-	-	-
<i>E. saccharolyticus</i>	-	ND	+	ND	ND	+	+	ND	+	-	+
<i>E. sulfureus</i>	-	ND	+	ND	ND	+	-	+	-	-	-
<i>E. columbae</i>	ND	ND	-	ND	ND	-	ND	+	+	+	+
<i>E. flavescens</i>	+	ND	ND	ND	ND	(-)	(+)	+	-	+	+

+, 90% ou mais cepas isoladas são positivas; (+), 75 a 89% são positivas; V, 26 a 74% são positivas; (-), 11 a 25% são positivas; -, 10% ou menos são positivas; ND, não há dados; d, discrepâncias entre estudos referenciais (Fonte: MANERO; BLANCH, 1999).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação de coliformes a 35°C nas amostras de ostras variaram de $<1,8 \times 10^2$ a $9,2 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹ e nas amostras de sururu in natura de $1,3 \times 10^4$ a $1,6 \times 10^8$ NMP.100g⁻¹. Para os coliformes a 45°C os valores para as ostras variaram de $<1,8 \times 10^2$ a $1,7 \times 10^6$ NMP.100g⁻¹ e nas amostras de sururu in natura de $1,1 \times 10^3$ a $9,2 \times 10^7$ NMP.100g⁻¹. *Salmonella* foi isolada em 13,3% (2/15) nas amostras de ostras e em 27% (4/15) nas amostras de sururu in natura (Tabela 2).

Para os *Enterococcus* sp., os valores obtidos para ostras foram de $<3,0 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^5$ NMP.100 g⁻¹ e no sururu in natura de $<3,0 \times 10^2$ a $>1,1 \times 10^6$ NMP.100 g⁻¹ (Tabela 2).

A quantificação de coliformes a 35°C não é prevista na legislação brasileira, no entanto, a sua presença indica condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, uma vez que a sua presença pode estar veiculada a contaminação por material fecal no ambiente, comprometendo a inocuidade dos moluscos bivalves.

A presença de comunidades ribeirinhas as margens do rio Subaé e sem saneamento básico é um dos fatores que contribui para a elevada contagem de bactérias do grupo dos coliformes. As comunidades utilizam as águas do rio para o descarte de resíduos sólidos, contaminando a água e os organismos ali extraídos, principalmente os filtradores, como os moluscos bivalves. Este fato foi observado no estudo de Silveira et al. (2011) ao encontrarem valores para os coliformes a 35°C nas águas do estuário próximas ao local de extração dos moluscos variando de $3,3 \times 10^4$ a $>1,6 \times 10^7$ NMP.100mL⁻¹.

O sururu por ser encontrado inserido no substrato apresentou uma maior carga microbiana que as ostras, sugerindo que o fato das ostras se encontrarem aderidas as raízes das árvores no mangue e sujeitas a variação da maré, na maré alta poderiam sofrer “depuração” eliminando parte da carga microbiana.

Herrera et al. (2006), em sua pesquisa sobre a presença de bactérias indígenas e não indígenas em pescado in natura, relataram a presença de microorganismos patogênicos e alertaram para o risco de contaminação que o consumo de pescados crus ou levemente cozidos podem acarretar a saúde.

Para os coliformes a 45°C nos moluscos bivalves, a Instrução Normativa Interministerial N^o. 7, de 8 de maio de 2012 (BRASIL, 2012), classifica os moluscos bivalves em três classes: Classe 1 (liberado < 230 NMP.100g⁻¹), classe

2 (liberada sob condições $> 230 \text{ NMP} \cdot 100\text{g}^{-1}$ a $< 46.000 \text{ NMP} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e classe 3 (retirada suspensa $> 46.000 \text{ NMP} \cdot 100\text{g}^{-1}$) (Tabela 3).

Tabela 2. Quantificação de coliformes a 35°C, a 45°C, *Enterococcus* sp. e presença de *Salmonella* sp. em amostras de ostras e sururu in natura coletados no município de São Francisco do Conde – Bahia, durante o período de outubro de 2010 a janeiro de 2012.

Amostras	Coliformes a 35°C (NMP.100g ⁻¹)		Coliformes a 45°C (NMP.100g ⁻¹)		<i>Enterococcus</i> sp (NMP.100g ⁻¹)		Presença de <i>Salmonella</i> sp.	
	Ostras	Sururu <i>in natura</i>	Ostras	Sururu <i>in natura</i>	Ostras	Sururu <i>in natura</i>	Ostras	Sururu <i>in natura</i>
1 ^a	7,9x10 ⁶	>1,6x10 ⁸	2,3x10 ³	1,8x10 ²	<3,0x10 ²	<3,0x10 ²	0	0
2 ^a	4,6x10 ⁴	4,9x10 ³	4,5x10 ²	4,9x10 ³	2,3x10	2,3x10	0	0
3 ^a	1,3x10 ⁴	1,7x10 ⁶	1,3x10 ³	2,4x10 ⁴	<3,0x10 ²	<3,0x10 ²	0	0
4 ^a	1,3x10 ⁵	1,7x10 ⁷	4,9x10 ⁴	1,7x10 ⁷	2,3x10	2,3x10	0	0
5 ^a	2,8x10 ⁵	7,9x10 ⁵	7,9x10 ³	4,9x10 ⁴	1,1x10 ⁵	>1,1x10 ⁵	0	0
6 ^a	1,7x10 ⁵	1,7x10 ⁴	1,1x10 ⁵	1,1x10 ⁶	4,6x10 ⁴	>1,1x10 ⁶	1	1
7 ^a	3,3x10 ⁴	1,7x10 ⁶	2,0x10 ²	1,1x10 ³	1,5x10 ⁴	1,5x10 ⁵	0	0
8 ^a	2,2x10 ⁴	1,3x10 ⁵	1,7x10 ³	2,2x10 ⁴	3,6x10 ²	4,3x10 ³	0	1
9 ^a	9,2x10 ⁶	2,4x10 ⁵	1,4x10 ⁶	1,3x10 ⁴	9,3x10 ⁴	4,3x10 ³	0	1
10 ^a	7,9x10 ⁵	1,7x10 ⁶	2,0x10 ²	2,2x10 ³	<3,0x10 ²	9,3x10 ⁴	0	0
11 ^a	1,3x10 ⁴	2,4x10 ⁴	3,3x10 ³	4,9x10 ³	9,3x10 ³	1,6x10 ⁴	0	0
12 ^a	1,6x10 ⁴	3,3x10 ⁴	1,7x10 ⁶	4,9x10 ³	3,6x10 ²	9,2x10 ²	1	0
13 ^a	1,3x10 ³	1,3x10 ⁴	7,8x10 ²	4,9x10 ³	<3,0x10 ²	4,3x10 ³	0	0
14 ^a	7,9x10 ⁵	1,6x10 ⁸	1,7x10 ⁵	9,2x10 ⁷	7,5x10 ³	4,6x10 ⁵	0	1
15 ^a	<1,8	1,3x10 ⁴	<1,8	7,9x10 ³	9,2x10 ²	9,3x10 ³	0	0

0 - Ausência, 1 - Presença

Tabela 3. Classificação dos moluscos bivalves extraídos no estuário do rio Subaé, São Francisco do Conde – BA, conforme Instrução Normativa Interministerial (PNCMB) (BRASIL, 2012).

Categorias	Nº amostras (%)			
	Ostras		Sururu <i>in natura</i>	
	Coliformes 45°C	Presença de <i>Salmonella</i>	Coliformes 45°C	Presença de <i>Salmonella</i>
Classe 1 (< 230)	03 (20)	-	01 (06)	-
Classe 2 (> 230 a < 46.000)	07 (47)	-	10 (67)	2 (13)
Classe 3 (> 46.000)	05 (33)	2 (13)	04 (27)	2 (13)
Amostras Impróprias	5 (33)		6 (40)	

De acordo com essa normativa, apenas 20% das ostras e 06% das amostras de sururu poderiam ser comercializadas sem tratamento adicional (Tabela 3). As amostras de sururu mesmo apresentando elevado percentual para as classes 2 e 3, o fato desses moluscos passarem por tratamento térmico durante a abertura de suas valvas, pode ser suficiente para eliminar parte da microbiota.

Para as ostras os valores são preocupantes, visto que estes organismos são muito apreciados na forma *in natura* e a sua comercialização ocorre principalmente nos fins de semana para os frequentadores das praias próximas ao município ou em Salvador.

Estes resultados são corroborados com os dados de Farias et al. (2010) ao analisarem *Tagelus plebeius in natura* no estuário do rio Ceará em Fortaleza, Ceará e classificarem a maioria das amostras na classe 2. Barros et al. (2005) analisando coliformes a 45°C em ostras comercializadas em estabelecimentos na Praia do Futuro (Fortaleza, Ceará), relataram que 70% das amostras se apresentavam fora dos padrões estabelecidos pela Resolução Nº 12 da ANVISA (BRASIL, 2001).

Escherichia coli foi observada em 67% (10/15) nas amostras de sururu *in natura* e 73% (11/15) nas amostras de ostras. A presença de *E. coli* nas amostras sugere uma contaminação de origem fecal recente. A presença dessa bactéria é indicadora de outros patógenos, tanto de natureza bacteriana, quanto viral ou

parasitária, cujos prejuízos à população são amplamente reconhecidos (Barros et al., 2005).

Pereira et al. (2006), avaliando a qualidade microbiológica de moluscos em Florianópolis, Santa Catarina, relataram *E. coli* em apenas 9% (4/45) nas amostras de ostras recolhidas em áreas de cultivo (Sambaqui, Cacupé, Ribeirão da Ilha) e em 35,5% (16/45) nas amostras obtidas em estabelecimentos comerciais. Segundo os autores o aumento da presença de *E. coli* foi atribuído ao armazenamento incorreto.

Salmonella foi isolada em 13,3% (2/15) nas amostras de ostras e em 27% (4/15) nas amostras de sururu in natura (Tabela 2). Ao todo foram isoladas 43 cepas do gênero, sendo identificadas 21 cepas de *Salmonella entérica* subespécie *entérica* e 22 como *Salmonella* sp.

A presença de *Salmonella* sp. nos moluscos bivalves in natura foi observada nas amostras com elevados valores de coliformes a 45°C, demonstrando uma correlação positiva para esses contaminantes de origem fecal. A detecção de *Salmonella* nestas amostras torna-as impróprias para o consumo, em virtude deste micro-organismo ser um patógeno e responsável por inúmeros surtos alimentares. As bactérias desse gênero devem estar ausentes em 25 g da amostra de qualquer alimento (BRASIL, 2001).

Estes resultados são corroborados com os dados de Nascimento et al. (2011), ao analisarem amostras de ostras e sururu desconchados na cidade de Aracaju, Sergipe, e observarem a presença de *Salmonella* sp. Esta bactéria se encontra entre os principais patógenos bacterianos causadores de doenças transmitidas ao homem por água ou alimentos contaminados, sendo os moluscos bivalves os alimentos mais implicados em casos de gastroenterites (SILVA et al., 2011).

Segundo Oliveira et al. (2010) dentre os surtos notificados nos EUA nos anos de 1998 a 2002, *Salmonella* Enteritidis foi o sorotipo responsável pelo maior número de casos, enquanto na França, em 2005, *Salmonella* foi a principal causa de hospitalização e de morte por gastroenterite. No Brasil, o perfil epidemiológico das DTA's ainda é pouco conhecido e de acordo com os dados disponíveis de surtos, esses apontam como agentes mais frequentes os de origem bacteriana

como *Salmonella* spp, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens*.

Martinez-Urtaza et al. (2004) na Galicia, noroeste da Espanha em uma área de produção de moluscos, observaram que ao ser introduzida em ambientes marinhos, a *Salmonella* prontamente contamina a fauna, como crustáceos e moluscos, especialmente os moluscos, devido o seu habito alimentar. Ainda segundo os autores, mesmo em áreas costeiras, onde a *Salmonella* apresentava uma alta incidência, surtos por *Salmonella* associados ao consumo de frutos do mar não foram observados.

Em seu estudo Efstratiou, Mavridou e Richardson (2009) relataram a correlação estatística entre a presença de *Salmonella* sp. e outros indicadores como *Enterococcus* sp. e os coliformes, observando em alguns casos uma correlação positiva. Apesar disso, foi observado pelos autores que mesmo em várias amostragens *Salmonella* não foi detectada mesmo quando observada uma alta contagem dos indicadores, demonstrando que a ocorrência da bactéria em águas costeiras é altamente variável, dependendo da saúde da população e da produção de esgotos.

Semelhante ao observado para os coliformes a presença do grupo *Enterococcus* sp. também foi elevada (Tabela 2). Estas bactérias são encontradas no ambiente e no trato gastrintestinal de animais e seres humanos, sendo utilizados como indicadores de contaminação devido a sua sobrevivência as condições adversas do ambiente (KAYSER, 2003).

A legislação brasileira não preconiza parâmetros para a quantificação de *Enterococcus* sp.. Entretanto, a sua presença além de estar associada á contaminação de origem fecal não recente, representa um risco para a população por apresentar estirpes patogênicas (ADAMS, 1999), visto que algumas estirpes patogênicas são tidas como oportunistas, causando infecções.

Com relação as amostras de sururu processado, a quantificação de coliformes a 35°C foi de $<1,8$ a $1,6 \times 10^8$ NMP.g⁻¹, para os coliformes a 45°C foi de $<1,8$ a $3,2 \times 10^4$ NMP.g⁻¹ e para os *Enterococcus* sp. de $2,1 \times 10^2$ a $>1,1 \times 10^4$ NMP.g⁻¹ (Tabela 4).

Tabela 4. Quantificação de coliformes a 35°C, 45°C, *Enterococcus* sp. e presença de *Salmonella* sp. em amostras de sururu processado comercializado no mercado municipal de São Francisco do Conde – Bahia, durante o período de outubro de 2010 a janeiro de 2012.

Amostras	Coliformes a 35°C (NMP.g⁻¹)	Coliformes a 45°C (NMP.g⁻¹)	<i>Enterococcus</i> sp. (NMP.g⁻¹)	Presença de <i>Salmonella</i> sp.
1 ^a	$>1,6 \times 10^6$	$1,3 \times 10^2$	$>1,1 \times 10^3$	0
2 ^a	$2,4 \times 10^5$	$1,1 \times 10$	$1,1 \times 10^3$	0
3 ^a	$2,2 \times 10^3$	$2,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	0
4 ^a	$5,4 \times 10^4$	$1,7 \times 10^3$	$>1,1 \times 10^4$	0
5 ^a	$1,6 \times 10^8$	$3,2 \times 10^4$	$>1,1 \times 10^4$	0
6 ^a	$7,9 \times 10^4$	<1,8	$2,1 \times 10^3$	1
7 ^a	$2,2 \times 10^5$	$1,7 \times 10^4$	$>1,1 \times 10^4$	0
8 ^a	$3,3 \times 10^4$	<1,8	$>1,1 \times 10^4$	1
9 ^a	$1,4 \times 10^7$	$4,5 \times 10^3$	$>1,1 \times 10^4$	1
10 ^a	$1,1 \times 10^7$	$6,8 \times 10^3$	$>1,1 \times 10^4$	0
11 ^a	$7,0 \times 10^2$	<1,8	$1,1 \times 10^4$	0
12 ^a	$1,3 \times 10^4$	<1,8	$>1,1 \times 10^4$	0
13 ^a	$3,3 \times 10^5$	<1,8	$4,6 \times 10^3$	0
14 ^a	<1,8	<1,8	$2,1 \times 10^2$	1
15 ^a	<1,8	<1,8	$3,6 \times 10^2$	0

0 - Ausência, 1 - Presença.

De acordo com os resultados observa-se que houve um aumento no número de coliformes a 35°C quando comparado ao sururu in natura (Tabela 2), o que não deveria ocorrer em virtude da etapa de cocção em que o sururu passa para a abertura de suas valvas. Essa elevada carga microbiana demonstra falhas em boas praticas de manipulação. Outro fator que deve ser levado em consideração é o fato desse alimento ser exposto e comercializado a temperatura ambiente, permanecendo em ambiente de refrigeração somente no período da noite.

Para os coliformes a 45°C a legislação brasileira RDC nº12 estabelece um limite de $5 \times 10 \text{ NMP.g}^{-1}$ (BRASIL, 2001). De acordo com a legislação 46,67% das amostras excederam esse limite. A má qualidade do sururu processado representa um risco para os consumidores, em virtude desse grupo possuir estirpes patogênicos como *E. coli* O157:H7.

Os problemas de saúde atribuído ao pescado consumido cru ou levemente cozido poderia ser minimizado com melhorias na sua manipulação e processamento (HERRERA et al., 2006).

A presença de *E. coli* foi detectada em 53% (8/15) nas amostras de sururu processado demonstrando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias do alimento, ou contaminação cruzada veiculada ao armazenamento, transporte e comercialização.

O tratamento térmico é recomendado para melhorar a conservação dos alimentos. Durante a cocção, os moluscos bivalves são expostos ao calor úmido por um tempo que varia de acordo com o tamanho do marisco, velocidade de penetração do calor e as condições de aquecimento (CORDEIRO, 2005). No entanto, a abertura das valvas não significa o término da cocção, pois a abertura dos bivalves ocorre em seguida ao contato com o calor, o que pode não ser suficiente para a eliminação dos micro-organismos (LIMA, 2010).

A presença de *Salmonella* sp. foi observada em 27% (4/15) das amostras (Tabela 4), estando em desacordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2001).

Segundo Carrasco, Morales-Rueda e García-Gimeno (2012), fatores como a temperatura de armazenamento inadequada, cozimento insuficiente ou contaminação cruzada estão associados a multiplicação de *Salmonella* no alimento, com a consequente ocorrência de salmonelose.

Devido a *Salmonella* spp. se encontrar cada vez mais envolvida em surtos de DTA's, com efetiva participação do pescado, alerta-se para a necessidade de medidas de controle na higiene dos manipuladores, durante o manuseio e processamento, evitando contaminação cruzada por meio de utensílios e equipamentos de modo a contribuir para a redução dos níveis de contaminação do produto (VIEIRA, 2004).

Nascimento et al. (2011) avaliando a qualidade microbiológica de moluscos bivalves submetidos a tratamento térmico, estocagem e congelamento, adquiridos de diversos comerciantes da cidade de Aracaju, Sergipe, relataram altos níveis de contaminação. Contudo ao adquirir moluscos em conchas e realizado o processo de pré-cozimento dentro das boas práticas de higiene, os moluscos apresentaram baixas contagens de bactérias.

Com relação as espécies de *Enterococcus* spp. encontradas nas amostras de ostra, sururu in natura e processado, foram isoladas 139 cepas, em que 48% pertenceram à espécie *Enterococcus faecalis* e 17% *Enterococcus solitarius* (Figura 1). A identificação de espécies está associada a um determinado ambiente ou hospedeiro fornecendo informações adicionais sobre a origem dos isolados e a fonte de contaminação fecal (MANERO; BLANCH, 1999).

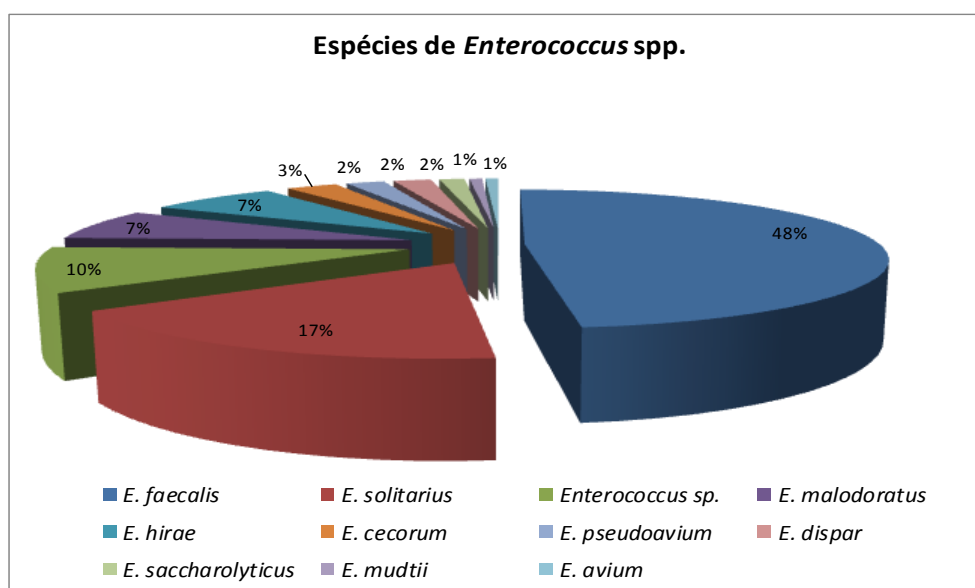


Figura 1. Percentual de espécies de *Enterococcus* spp. identificadas em amostras de ostras, sururu in natura e sururu processado coletadas no município de São Francisco do Conde – Bahia.

O gênero *Enterococcus* compreende mais de 20 espécies, sendo que duas espécies são responsáveis por elevado número de infecções, *E. faecalis* e *E. faecium*. Outras espécies de enterococos como *E. durans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. gallinarum*, *E. raffinosus* e *E. hirae* são apenas ocasionalmente implicados como causadores de infecções em humanos (KAYSER, 2003).

A diferenciação de algumas das espécies do gênero apresentam dificuldade devido à sobreposição de características fenotípicas. Além disso, algumas bactérias do gênero *Enterococcus* não possuem todas as características típicas (CARVALHO et al., 2004).

De acordo com o contexto, os *Enterococcus* são capazes de colonizar diversos nichos, podendo colonizar e se multiplicar em alimentos crus por contaminação intestinal ou ambiental, inclusive, devido à sua capacidade de sobreviver a condições adversas de pH, temperatura e salinidade (GIRAFFA, 2003).

4. CONCLUSÕES

Os moluscos bivalves coletados no estuário do rio Subaé e comercializados no mercado municipal de São Francisco do Conde apresentaram elevada carga microbiana de bactérias entéricas de origem fecal. Este fato compromete a qualidade microbiológica dos moluscos bivalves, uma vez que estes podem servir como veículo para surtos alimentares. Além disso, a falta de Boas Práticas de Manipulação no manuseio e comercialização dos moluscos contribui para o aumento da carga microbiana, além da oferta de um alimento de baixa qualidade microbiológica.

5. REFERÊNCIAS

ADAMS, M. R. Safety of industrial lactic acid bacteria. **Journal of Biotechnology**. Amsterdam, v. 68, p. 171-178, 1999.

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

BARROS, L. M. de O.; THEOPHILO, G. N. D.; COSTA, R. G.; RODRIGUES, D. dos P.; VIEIRA, R. H. S. dos F. Contaminante fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* comercializada na Praia do Futuro, Fortaleza-Ceará. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 285-289, 2005.

BARROSO, G. F.; POERSCH, L. H. da S.; CAVALLI, R. O.; GALVEZ, A. O. **Sistemas de cultivos aquícolas costeiros no Brasil: recursos, tecnologias e aspectos ambientais e sócio-econômicos**. Rio de Janeiro: Ed. Instituto do Milênio, 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Resolução-RDC nº12, de 02/01/01.– Anvisa, 2001. **Diário Oficial da União**, Brasília, 10/01/01, nº 7, seção I, p. 45-53, 2001.

BRASIL. Programa Nacional de Controle Higiênico-Sanitário de Moluscos Bivalves (PNCMB). Instrução normativa interministerial, de 8 de maio de 2012, Ministério da Pesca e Aquicultura. **Diário Oficial da União**, Brasília, 09/05/2012, nº 7, seção I, p. 55 a 59, 2012.

BRENNER, D. J. **Facultatively anaerobic gram-negative rods**. KRIEG, N. R.; HOLT (EDS.), J. G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, v. 1, Williams and Wilkins, Baltimore and London, 1984, p. 408-516.

CARRASCO, E.; MORALES-RUEDA, A.; GARCÍA-GIMENO, R. M. Cross-contamination and recontamination by *Salmonella* in foods: A review. **Food Research International**, Barking, v. 45, p. 545–556, 2012.

CARVALHO, M. da G. S.; STEIGERWALT, A. G.; MOREY, R. E.; SHEWMAKER, P. L.; TEIXEIRA, L. M.; FACKLAM, R. R. Characterization of Three New Enterococcal Species, *Enterococcus* sp. nov. CDC PNS-E1, *Enterococcus* sp. nov. CDC PNS-E2, and *Enterococcus* sp. nov. CDC PNS-E3, Isolated from Human Clinical Specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, V. 42, n. 3, p. 1192–1198, 2004.

CORDEIRO, D. **Qualidade do mexilhão *Perna perna* submetido ao processo combinado de cocção, congelamento e armazenamento**. 2005. 82f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

DIAS, T. L. P. ROSA, R. de S; DAMASCENO, L. C. P. Aspectos socioeconômicos, percepção ambiental e perspectivas das mulheres marisqueiras da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Ponta do Tubarão (Rio Grande do Norte, Brasil). **Gaia Scientia**, João Pessoa, v. 1, n. 1, p. 25-35, 2007.

EFSTRATIOU, M. A.; MAVRIDOU, A.; RICHARDSON, C. Prediction of *Salmonella* in seawater by total and faecal coliforms and Enterococci. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v.58, p. 201–205, 2009.

EVANGELISTA-BARRETO, N. S.; SOUSA, O. V. de; VIEIRA, R. H. S. dos F. Moluscos bivalves: Organismos Bioindicadores da Qualidade Microbiológica das Águas: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Fortaleza, v. 2, n. 2, p. 17 - 29, 2008.

FARIAS, M. F. de; ROCHA-BARREIRA, C. de A.; CARVALHO, F. C. T. de; SILVA, C. M.; REIS, E. M. F. dos; COSTA, R. A.; VIEIRA, R. H. S. dos F. Condições microbiológicas de *Tagelus plebeius* (LIGHTFOOT, 1786) (Mollusca:

Bivalvia: Solecurtidae) e da água no estuário do rio Ceará, em Fortaleza – CE. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 36, n. 2, p. 135-142, 2010.

GIRAFFA, G. Functionality of enterococci in dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 88, p. 215– 222, 2003.

HERRERA, F.C.; SANTOS, J.A.; OTERO, A.; GARCIA-LOPEZ, M.L. Occurrence of foodborne pathogenic bacteria in retail prepackaged portions marine fish in Spain. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 100, n. 3 p. 527-536, 2006.

KAYSER, F. H. Safety aspects of enterococci from the medical point of view. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 88, p. 255– 262, 2003.

LIMA, M. de. **Avaliação das condições de processamento de mexilhões *Perna perna* pré-cozidos e resfriados**. 2010. 136f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Centro Tecnológico, Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

MANERO, A.; BLANCH, A.R. Identification of *Enterococcus* spp. with a Biochemical Key. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 10, p. 4425-4430, 1999.

MARTINEZ-URTAZA, J.; SACO, M.; NOVOA, J. de; PEREZ-PIÑEIRO, P.; PEITEADO, J.; LOZANO-LEON, A.; GARCIA-MARTIN, O. Influence of Environmental Factors and Human Activity on the Presence of Salmonella Serovars in a Marine Environment. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 4, p. 2089–2097, 2004.

NASCIMENTO, V. A.; MITTARAQUIS, A. S. P.; TRAVÁLIA, B. M.; SANTOS, R. C. A.; M. NUNES, M. L.; AQUINO, L. C. L. Qualidade Microbiológica de Moluscos Bivalves - Sururu e Ostras submetidos a tratamento térmico e estocagem congelada. **Scientia Plena**, Aracaju, v. 7, n. 4, 2011.

OLIVEIRA, A. B. A. de; PAULA, C. M. D. de; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M. R. de I.; TONDO, E. C. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, v. 30, n. 3, p. 279-285, 2010.

PEREIRA, M. A.; NUNES, M. M.; NUERNBERG, L.; SCHULZ, D.; BATISTA, C. R. V. Microbiological quality of oysters (*Crassostrea gigas*) produced and commercialized in the coastal region of Florianópolis – Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 37, p. 159-163, 2006.

RODRIGUES, D. dos P.; LAZARO, N. dos S.; REIS, E. M. F. dos. **Manual de procedimentos para diagnóstico laboratorial de *Salmonella***. Rio de Janeiro, 2006.

SILVA, N da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. dos; GOMES, R. A. R. **Manual de análise microbiológica de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 624p.

SILVA, I. P.; DALTRO, A. C. S.; SANTOS, J. de S. dos; SILVEIRA, C. S. da; OLIVEIRA, J. M. de; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Qualidade microbiológica da ostra *Crassostrea rhizophorea* comercializada em São Francisco do Conde, Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 2011, Belém, Pará. **Anais...** Belém. CONBEP.

SILVEIRA, C. S.; SILVA, R. A. R.; SILVA, I. P.; OLIVEIRA, J. M.; PEREIRA, A. F.; DALTRO, A. C. S.; EVANGELISTA-BARRETO, N. S. Quantificação de coliformes e enterococos no estuário de São Francisco do Conde, Bahia: uma área de extração de moluscos bivalves. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA DE PESCA, 2011, Belém, Pará. **Anais...** Belém. CONBEP. 2011.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Fortaleza: Artmed, 2005, 920p.

VIEIRA, R. H. S. F. **Microbiologia, higiene e qualidade do pescado**: teoria e prática. São Paulo: Livraria Varela, 2004. 380 p.

VIEIRA, R. H. S. dos F.; ATAYDE, M. A.; CARVALHO, E. M. R. de; CARVALHO, F. C. T. de; FONTELES FILHO, A. A. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): Isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 180-189, 2008.

CAPÍTULO 4

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES DE OSTRAS COLETADAS NO ESTUÁRIO DO RIO SUBAÉ, SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA

Artigo a ser submetido ao comitê editorial do periódico Brazilian Journal Microbiology.

VARIABILIDADE GENÉTICA DAS ESPÉCIES DE OSTRAS COLETADAS NO ESTUÁRIO DO RIO SUBAÉ, SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA

RESUMO: Ostra do mangue é o nome popular dado às espécies nativas do gênero *Crassostrea* encontradas no litoral brasileiro. As espécies *Crassostrea rhizophorae* e *C. brasiliana* foram inicialmente identificadas nos manguezais do Atlântico na América do Sul. Estudos anteriores propuseram que estas duas espécies se tratavam de sinonímias e que a correta identificação dos grupos e suas distribuições eram de suma importância. O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética das espécies de ostras extraídas do rio Subaé, município de São Francisco do Conde – BA. Um total de 119 espécimes do gênero *Crassostrea* foram coletados em quatro expedições de amostragem ao longo do estudo, em bancos naturais georreferenciados, com vistas a montagem de um banco de tecidos e extração de DNA genômico. O DNA total foi submetido às ampliações pela reação em cadeia de polimerase (PCR), empregando-se *primers* tetranucleotídicos de sequência repetitiva simples (ISSR). Oito *primers* diferentes foram utilizados para testes preliminares, a saber: (GGAC)₄, (GGAT)₄, (AAGC)₄, (TAGG)₄, (GACA)₄, (AACC)₄, (GGGT)₄ e (CACT)₄. Destes, quatro foram informativos para as análises: (GGAT)₄, (GGAC)₄, (GACA)₄ e (AACC)₄. Para as análises foram utilizados dados da matriz de dissimilaridade genética, bem como o método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean). Todos os *primers* se mostraram polimórficos, com exceção do *primer* (GACA)₄, que se apresentou monomórfico. Foi observada a presença de 34 bandas, das quais 75% foram consideradas polimórficas, com uma média de 8,5 bandas por *primer*. A partir do ponto de corte com base na média (0,69) das distâncias da matriz de agrupamento dos dados quantitativos, foram formados cinco grupos, dentre os quais, os grupos III e IV apresentaram maior semelhança (0,7) e os grupos I, II e V, maior distância genética (0,6). Os *primers* utilizados neste estudo não apresentaram bons resultados para a identificação de espécies do gênero *Crassostrea*, porém, identificaram uma alta variabilidade genética nos indivíduos.

Palavras-chaves: Diversidade genética, *Crassostrea*, Caracterização

GENETIC VARIABILITY OF SPECIES OF OYSTERS COLLECTED FROM THE SUBAÉ RIVER ESTUARY, SÃO FRANCISCO DO CONDE – BA

ABSTRACT: Mangrove oyster is the popular name given to native species of the genus *Crassostrea*. The species *Crassostrea rhizophorae* and *Crassostrea brasiliensis* were initially identified in the mangrove swamps of the Atlantic in South America. Studies suggest that these two species are synonymous and the correct identification of the groups and their distributions were paramount. The objective of this work was to evaluate the genetic variability of the species of oysters taken from the Subaé River, municipality of São Francisco do Conde - BA. A total of 119 specimens of the genus *Crassostrea* were collected in four sampling expeditions throughout the study in either natural georeferenced, with a view to setting up a tissue bank and genomic DNA extraction. Total DNA was subjected to amplification by polymerase chain reaction (PCR), employing tetranucleotide primers simple sequence repeat (ISSR). Eight different primers were used for preliminary tests, namely: (GGAC)₄, (GGAT)₄, (AAGC)₄, (TAGG)₄, (GACA)₄, (AACC)₄, (GGGT)₄ e (CACT)₄. Of these, four were informative for analysis: (GGAT)₄, (GGAC)₄, (GACA)₄ e (AACC)₄. For the analysis we used data from genetic dissimilarity matrix through which indexes were obtained by UPGMA method. For the analysis we used data from the matrix of genetic dissimilarity and the UPGMA method. All primers showed polymorphic, with the exception of the primer (GACA)₄, which showed monomorphic. It was observed the presence of 34 bands, of which 75% were considered polymorphic, with an average of 8.5 bands per primer. From the cutoff point based on the average at a cutoff based on the average (0,69) of the distance matrix of data grouping quantitative five groups were formed, among them, the groups III and IV have higher similarity (0.7) and the groups I, II and V, the greater the genetic distance (0.6). The primers used in this study did not show good results for identification of species of the genus *Crassostrea*, however, identified a high genetic variability among individuals.

Keywords: genetic diversity, *Crassostrea*, characterization

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior manguezal contínuo do mundo, estimado em 1,38 milhões de hectares ao longo de 6.800 km de costa, onde se encontram distribuídas as ostras, no entanto, sua distribuição e o número de espécies ainda não foram elucidados (VARELA et al., 2007).

As ostras são moluscos bivalves que podem ser encontrados aderidos a substratos duros, como as raízes de mangues e rochas na zona intertidal, caracterizando-se por uma plasticidade fenotípica extensa, de forma que durante o seu crescimento, suas conchas refletem o regime das marés e/ou a natureza do substrato. Sendo assim, apenas a utilização da morfologia apresenta-se insuficiente para a taxonomia e identificação dos indivíduos (VARELA et al., 2007; BUITRAGO et al., 2009).

Ostra do mangue é o nome popular dado às espécies nativas do gênero *Crassostrea*. A *Crassostrea rhizophorae* e a *Crassostrea brasiliiana* foram inicialmente identificadas nos manguezais do Atlântico na América do Sul. Estudos propõem que estas duas espécies sejam sinônimas, e que ainda, todos os morfotipos brasileiros *Crassostrea* são sinônimas de *Crassostrea rhizophorae* (MELO et al., 2010).

A correta identificação das espécies de ostra do gênero *Crassostrea* e suas distribuições são de suma importância para o cultivo e colheita nas populações nativas. A ostreicultura é um sistema de aquicultura ecológico simples, economicamente rentável, gerador de emprego, que pode promover a preservação e manutenção dos recursos naturais favorecendo a fixação das comunidades tradicionais costeiras em seus locais de origem (VARELA et al., 2007; LEGAT et al., 2008).

Em várias regiões do Brasil, bem como no nordeste e no norte do país, destaca-se principalmente a *Crassostrea rhizophorae*, frequentemente utilizada em cultivos (VARELA et al., 2007).

Acredita-se que a sobrevivência de populações de *Crassostrea* pode estar sendo ameaçada pelas insuficientes informações quanto á distribuição das larvas e sua abundância, assim como da estrutura genética destes indivíduos e seu fluxo gênico. A preservação das espécies depende do comportamento do fluxo gênico intra e interpopulacional e da estrutura genética populacional, fatores que refletem a heterogeneidade, riqueza genética e saúde das populações sobre as regiões geográficas (ROMERO; CETINA, 2011).

Segundo Matioli e Passos-Bueno (2012), o desenvolvimento da técnica molecular de reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês, Polymerase Chain Reaction) aumentou muito a eficiência de detecção de polimorfismos no nível do DNA ou RNA, traduzida em redução de tempo de execução dos experimentos, de seu custo e da sua complexidade.

Atualmente existem muitas metodologias para a descrição da variabilidade genética e análises moleculares. Dentre estas análises, uma das técnicas utilizadas é ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), que consiste na amplificação do DNA por PCR em presença de um oligonucleotídeo complementar para um microsatélite designado. Cada faixa corresponde a uma seqüência de DNA delimitada por dois microsatélites invertidos. As seqüências-alvo dos ISSRs são abundantes ao longo do genoma de eucariontes e evoluem rapidamente, bem como têm provado serem úteis dentro de populações de estudos genéticos, destacando-se em detecção clonal, diversidade e revelação de indivíduos proximamente relacionados (SOUZA et al., 2005).

A utilização de marcadores moleculares, aliada ao manejo reprodutivo adequado, pode contribuir para a redução da endogamia em programas de melhoramento genético (MOREIRA et al., 2007), ações de suma importância, a partir do momento em que a variabilidade genética é a responsável pela capacidade de adaptação de espécies marinhas a mudanças que ocorrem em seu habitat (HILSDORF et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética das espécies de ostras extraídas do município de São Francisco do Conde – BA, no intuito de conhecer e identificar as populações locais, de forma a obter um melhor embasamento científico para propor o uso consciente dos recursos pesqueiros e uma maricultura de forma sustentável.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta das amostras

Um total de 119 exemplares de ostras do gênero *Crassostrea* foram coletados de raízes de árvores do mangue em quatro expedições de amostragem ao longo do estudo, em bancos naturais georreferenciados (Tabela 1). Estes dados de georreferenciamento foram utilizados na elaboração de um mapa (Figura 1) e na obtenção das distâncias entre os pontos de coleta (Tabela 2). Após as coletas, o material foi encaminhado para o laboratório de Ictiogenética no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Para cada indivíduo foi retirada uma porção de aproximadamente 1 cm² do músculo adutor. Esse material foi devidamente colocado em microtubos, identificado, rotulado, estocado em álcool etílico absoluto, na proporção de 1:3 e armazenado em temperatura de 6°C.

Tabela 1. Georreferenciamento dos pontos de coleta dos espécimes amostrados no estuário do rio Subaé, São Francisco do Conde – Bahia, durante o período de outubro de 2010 a janeiro de 2012.

Pontos de coleta das ostras	Coordenadas Geográficas
Ponto 01	S 12° 34' 09.0" / W 38° 41' 32.3"
Ponto 02	S 12° 35' 56.72" / W 038 42' 01.76"
Ponto 03	S 12° 36' 12.6" / W 038° 42' 01.5"
Ponto 04	S12° 36' 07.7" S / W 038° 42' 01.6"



Figura 1. Mapa do município de São Francisco do Conde – Bahia, com os pontos de coleta das ostras.

Tabela 2. Distância entre os pontos de coleta de ostras no estuário do rio Subaé no município de São Francisco do Conde – Bahia.

Relação entre os pontos de coleta	Distância
Ponto 01 ao ponto 02	3.428 m
Ponto 02 ao ponto 04	337 m
Ponto 04 ao ponto 03	151 m

2.2. Extração e quantificação de DNA

Todo o material amostrado foi dividido em duas porções: a primeira destinada à formação de um banco de tecidos e a segunda destinada às extrações do DNA genômico.

O DNA total dos exemplares foi extraído de acordo com o protocolo fenol:clorofórmio descrito por Sambrook, Fritsch e Maniatis (1989) com modificações. As amostras dos tecidos foram retiradas, colocadas em novos microtubos, maceradas e postas dentro de uma estufa a 37°C para a retirada do excesso de álcool absoluto da fixação, após isso foi adicionado o tampão de extração (4 µL de Tris- Cl 1M pH 8,0 + 160 µL de EDTA 0,25M pH 8,0 + 20 µL de SDS 10% + 216 µL de água destilada), em seguida foi adicionado 2 µL de Proteinase K e colocado em banho-maria a 37°C, deixando overnight. Após este procedimento, foi colocado um volume de fenol de 400 µL, agitado durante 15 minutos e em seguida centrifugado á 6.000 rpm durante 5 minutos. Em outro tubo foi conservado o sobrenadante, aproximadamente 350 µL e foi descartado o material precipitado. Um novo volume de fenol de 350 µL foi colocado no tubo juntamente com sobrenadante, agitado por 15 minutos e centrifugado por 5 minutos a 6.000 rpm. Após, o sobrenadante foi retirado (300 µL), conservado em outro tubo eppendorf e adicionado 300 µL de álcool isoamílico-clorofórmio (1:24). Esse material foi agitado durante 15 minutos e centrifugado durante 10 minutos a 6.000 rpm. Por último foi retirado o sobrenadante e colocado em um novo tubo eppendorf, com 10% do volume final de NaCl e levemente agitado, em seguida, foi adicionado etanol absoluto gelado (2,5 x do total do conteúdo do tubo) e centrifugado a 13.000 rpm durante 10 minutos. Logo após, foi descartado o álcool absoluto e então acrescentado 1 mL de álcool 70% e foi novamente centrifugado a 13.000 rpm durante 10 minutos. O álcool foi retirado e os microtubos dispostos em bandejas para secar overnight.

Após 24 horas foi adicionado 100 µl de tampão TE (Tris-EDTA) nos tubos eppendorf, deixando-os em banho-maria a 37°C por 48 horas para a diluição do DNA. Posteriormente as amostras foram estocadas em freezer a -20°C. A concentração e a qualidade do DNA isolado foram avaliadas por eletroforese em gel de agarose 1,4%, corado com brometo de etídio (1,5 µL). Para a corrida eletroforética foi utilizado 70 V e 500 mA, por 45 minutos. A foto-documentação do gel foi efetuada através do transluminador UV L.PIX Loccus Biotecnologia – Molecular Imaging acoplado a um computador contendo o Software com o mesmo nome, obtendo-se desta forma a concentração em ng/µL a partir da quantificação visual, utilizando-se um programa Excel com dados fixos.

Para a amplificação do DNA, foram utilizadas as amostras (Tabela 3) em que o DNA se encontrava mais íntegro e de qualidade.

Tabela 3. Indivíduos amostrados por ponto de coleta no estuário do rio Subaé, no município de São Francisco do Conde – Bahia.

Pontos de coleta das ostras	Indivíduos (amostras)
Ponto 01	1 a 12
Ponto 02	13 a 23
Ponto 03	24 a 35
Ponto 04	36 a 46

2.3. Caracterização molecular das ostras

O DNA total foi submetido às amplificações pela reação em cadeia de polimerase (PCR), proposta por Gupta et al. (1994), empregando-se *primers* tetranucleotídicos de sequência repetitiva simples (ISSR - Inter Simple Sequence Repeats), o qual foi selecionado a partir de testes preliminares com um total de oito *primers* diferentes, a saber: (GGAC)₄, (GGAT)₄, (AAGC)₄, (TAGG)₄, (GACA)₄, (AACC)₄, (GGGT)₄ e (CACT)₄. Dos *primers* testados, quatro foram informativos para as análises: (GGAT)₄, (GGAC)₄, (GACA)₄ e (AACC)₄. O DNA molde (20 ng) foi amplificado, em um volume final de 30 µL contendo 20 ng de DNA genômico, 20 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM de KCl, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada dNTPs, 0,3 µM do iniciador e 1,0 U de Taq DNA polymerase (Invitrogen, Carlsbad, CA). A amplificação foi realizada em termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler. Os programas utilizados para cada *primer* foram ilustrados nas tabelas 4, 5 e 6. Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose a 2,0%, em tampão TBE 1x, corados com 3 µL de brometo de etídio. A eletroforese ocorreu com voltagem de 50 V e 400 mA, por duas horas e 30 minutos. A visualização dos padrões foi realizada sob luz ultravioleta e os géis fotografados em sistema de fotodocumentação de gel.

Tabela 4. Programa de amplificação do DNA para o *primer* (GGAT)₄.

Etapas	Temperatura	Tempo	Nº de ciclos
Desnaturação inicial	94°C	3 minutos	1
Amplificação	--	--	--
Desnaturação	94°C	40 segundos	30
Anelamento	62°C	40 segundos	
Extensão	72°C	1 minuto	
Extensão final	72°C	4 minutos	1
Resfriamento	8°C	Indeterminado	--

Tabela 5. Programa de amplificação do DNA para o *primer* (GGAC)₄ e (AACC)₄.

Etapas	Temperatura	Tempo	Nº de ciclos
Desnaturação inicial	94°C	3 minutos	1
Amplificação	--	--	--
Desnaturação	94°C	40 segundos	30
Anelamento	60°C	40 segundos	
Extensão	72°C	1 minuto	
Extensão final	72°C	4 minutos	1
Resfriamento	8°C	Indeterminado	--

Tabela 6. Programa de amplificação do DNA para o *primer* (GACA)₄.

Etapas	Temperatura	Tempo	Nº de ciclos
Desnaturação inicial	94°C	3 minutos	1
Amplificação	--	--	--
Desnaturação	94°C	40 segundos	30
Anelamento	48°C	40 segundos	

Extensão	72°C	1 minuto	
Extensão final	72°C	4 minutos	1
Resfriamento	8°C	Indeterminado	--

2.4. Análise estatística dos dados

Foi efetuada a avaliação das bandas de ISSR reproduzíveis como ausente (0) ou presente (1) para cada um dos indivíduos analisados. O loco foi considerado polimórfico quando o alelo foi visualizado em uma frequência não superior a 0,99. As diferenças de acordo com a qualidade na intensidade das bandas não foram consideradas. Para a caracterização molecular dos espécimes trabalhados, foi calculada a distância de Jaccard. Os agrupamentos hierárquicos das análises a partir das matrizes de distância genética foram obtidos pelos métodos de UPGMA - Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean (SNEATH; SOKAL, 1973) e gerados pelo programa de computador Genes. Os dendrogramas foram obtidos pelo programa Statistica (Statsoft, 2005).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os *primers* utilizados neste estudo não foi possível encontrar padrões espécie-específico para a correta identificação das espécies do gênero *Crassostrea* presentes no estuário do rio Subaé, porém, identificaram uma alta variabilidade genética entre as populações amostradas.

No *primer* (GGAT)₄ (Figuras 2 e 3), três indivíduos (3, 4 e 19) não apresentaram padrões de alelos específicos para o marcador, no entanto, os indivíduos amostrados apresentaram elevado polimorfismo. Com relação ao *primer* (GGAC)₄ (Figuras 4 e 5), os indivíduos de números 01, 02, 03, 18, 25, 26, 33, 35 e 38 não apresentaram padrões de bandejamento, entretanto, também foi visualizado expressivo polimorfismo, assim como no *primer* (AACC)₄ (Figuras 6 e 7). Nos *primers* (GGAC)₄ e (AACC)₄ foram observados os indivíduos com maior número de alelos (11).

Referente ao polimorfismo, resultado semelhante foi encontrado na China por Li, Yu e Yu. (2006), onde pesquisaram cinco populações de ostra do Pacífico

(*Crassostrea gigas*) de cultivos, utilizando sete *loci* microsatélites e todos foram altamente polimórficos, com o grau de variabilidade diferente em cada *locus*.

Li e Kijima (2002) isolaram nove microsatélites em ostras *Crassostrea gigas* no Japão, porém quatro se mostraram altamente polimórficos, sendo que o grau de variabilidade foi diferente em cada *locus*.

No estudo com ostras de nove locais da costa brasileira utilizando a amplificação do DNA mitocondrial (16S rRNA), polimorfismos foram detectados em 155 locais e 112 destes eram informativos para parcimônia (VARELA et al., 2007).

O *primer* (GACA)₄ (Figuras 8 e 9) se mostrou monomórfico, exceto para os indivíduos de números 02, 04, 15 e 28. Com este *primer* foi possível visualizar um padrão de bandeamento que pode significar uma característica específica. Entretanto, essa baixa variabilidade genética se torna prejudicial, pois, aumenta a possibilidade de originar distorções morfológicas nos indivíduos ou enfermidades que podem ocasionar a mortalidade da população inteira.

Semelhante resultado com relação ao monomorfismo, teve a pesquisa de Melo et al. (2010), ao utilizarem o sistema de diagnóstico ITS-2 e 16S no estudo de ostras *Crassostrea* spp., encontrando três padrões genéticos distintos que correspondiam às três espécies *Crassostrea rhizophorae*, *C. brasiliiana* e *C. gigas*, com variação intraespecífica baixa em todas as espécies, sendo que as *C. rhizophorae* e as *C. brasiliiana* foram monomórficas.

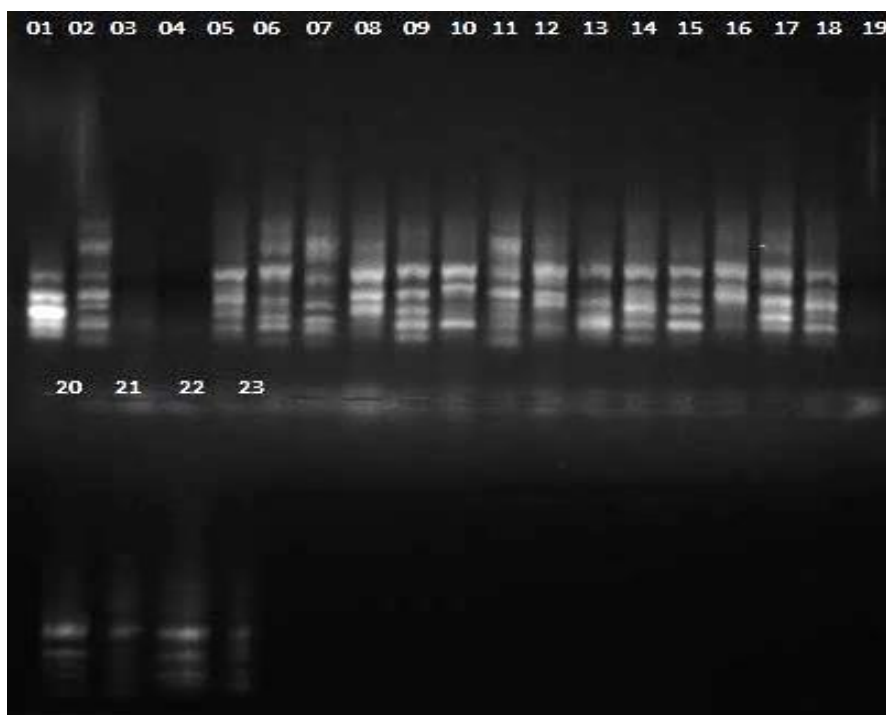


Figura 2. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (GGAT)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.

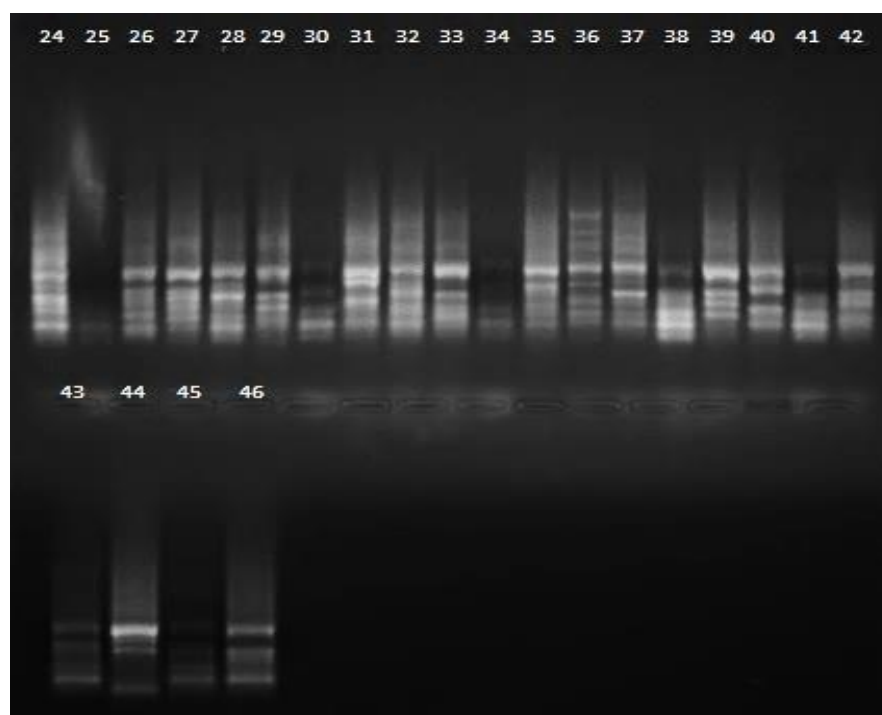


Figura 3. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (GGAT)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.

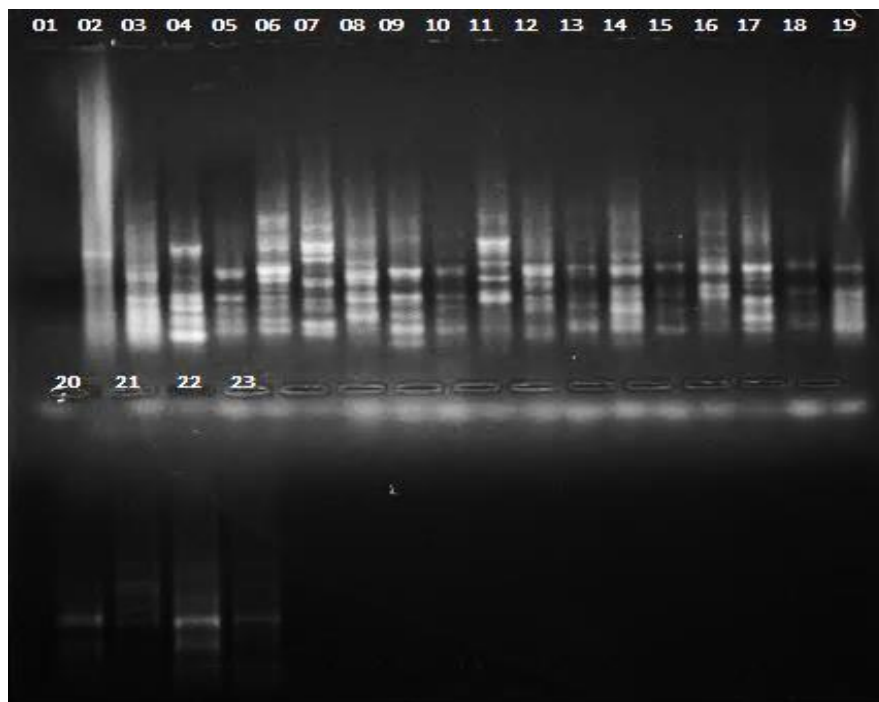


Figura 4. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (GGAC)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.

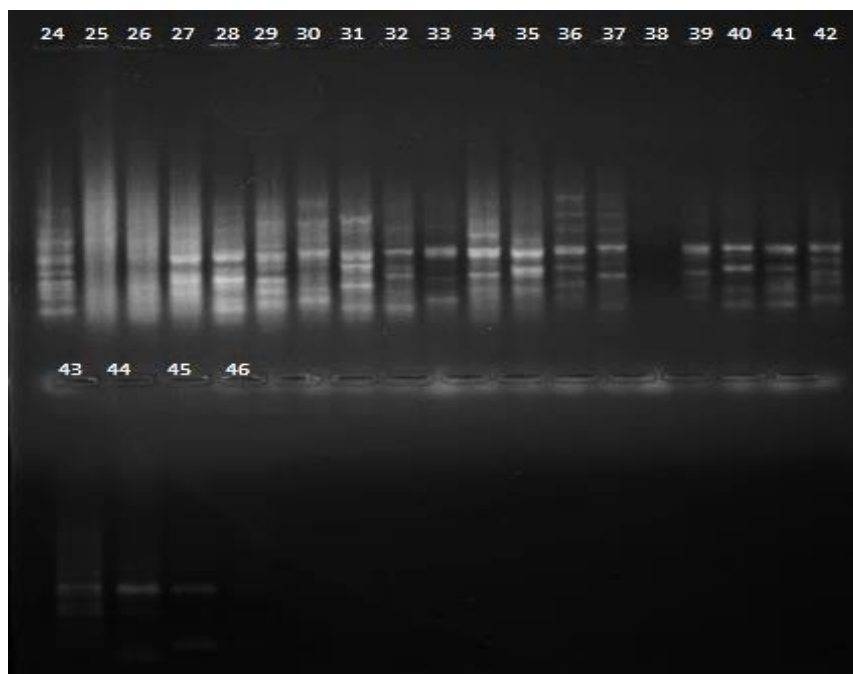


Figura 5. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (GGAC)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.

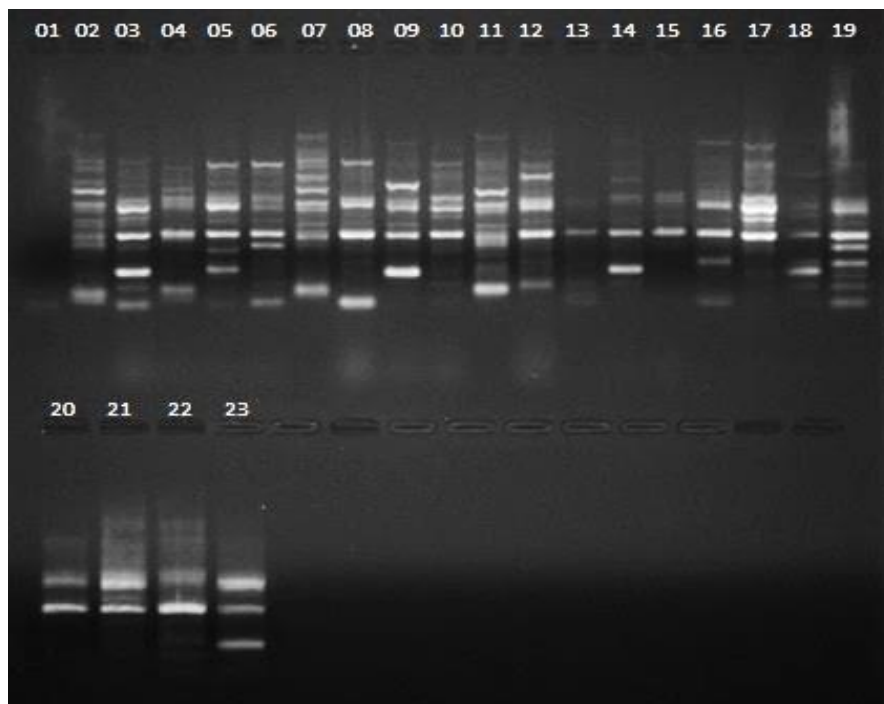


Figura 6. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (AACC)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.

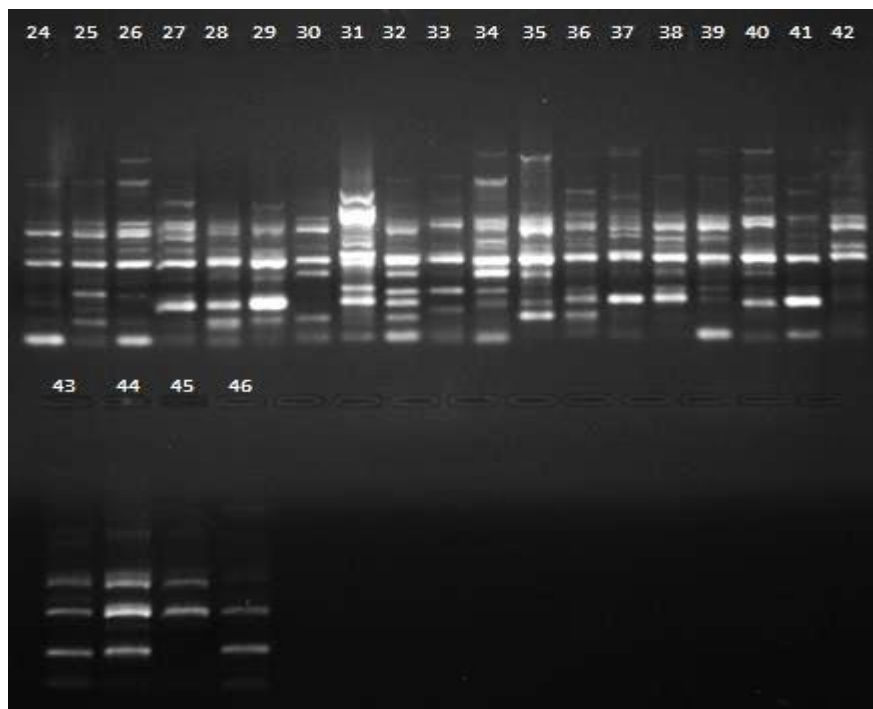


Figura 7. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (AACC)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.

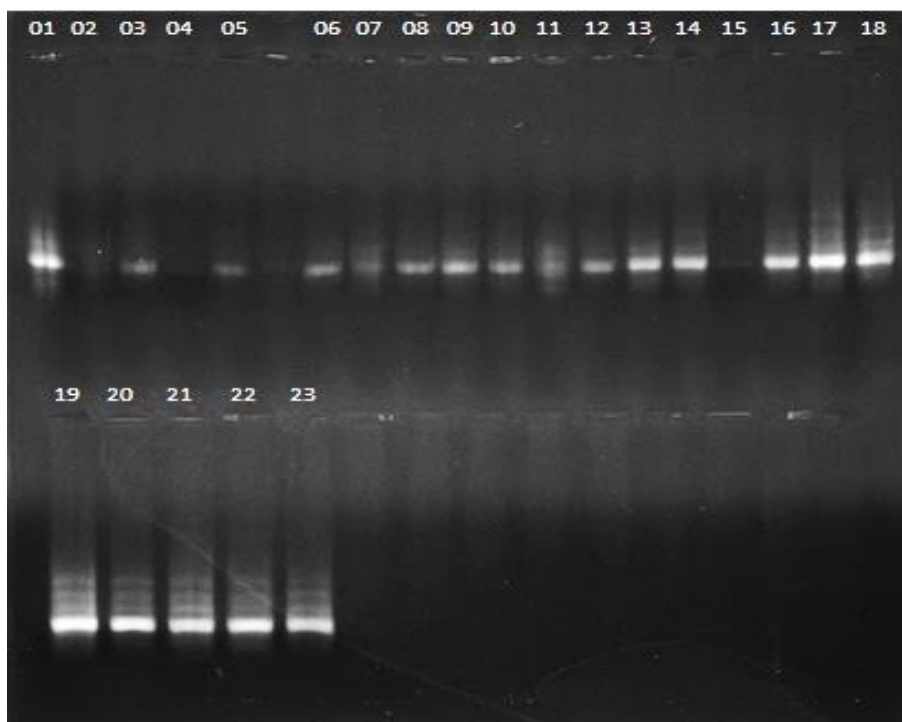


Figura 8. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (GACA)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 1 e 2.

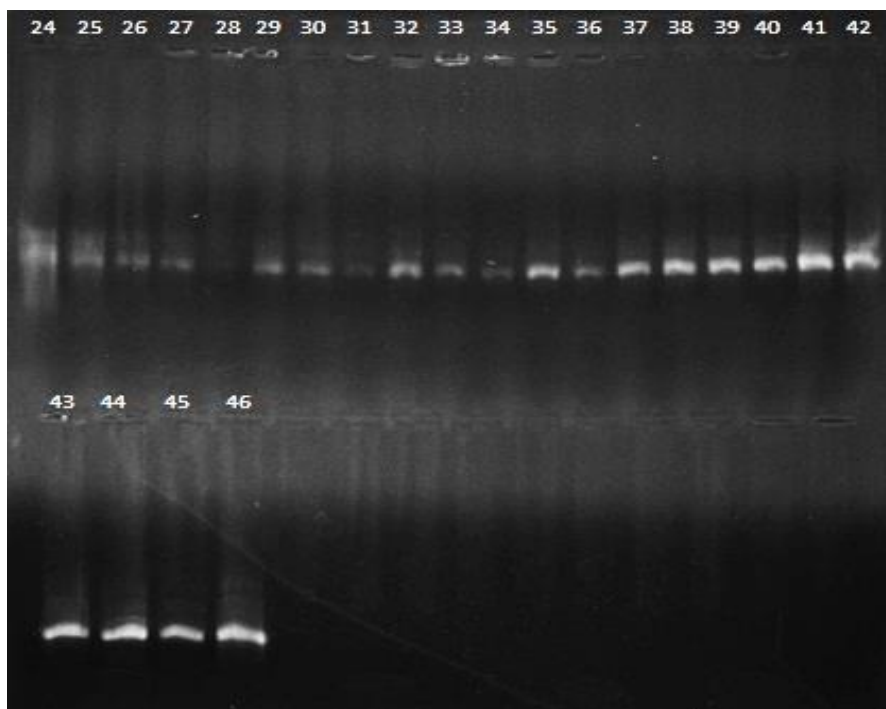


Figura 9. Produto da amplificação de DNA utilizando o *primer* (GACA)₄ nos indivíduos amostrados nos pontos de coleta 3 e 4.

Os *loci* polimórficos presentes em três dos quatro marcadores do estudo, foram destacados pelos resultados da análise estatística, efetuado por meio da matriz de distância genética, que por sua vez foi gerada pelo programa Genes (Anexo C) e o dendrograma (Figura 10) no programa Statistica.

Com a utilização dos quatro *primers* de ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) selecionados, foi observada a presença de um total de 34 bandas, das quais 75% foram consideradas polimórficas, com uma média de 8,5 bandas por *primer*. O número de alelos gerados por *primer* variou entre um e 11, sendo para aqueles *primers* polimórficos, esse número variou de 8 a 11.

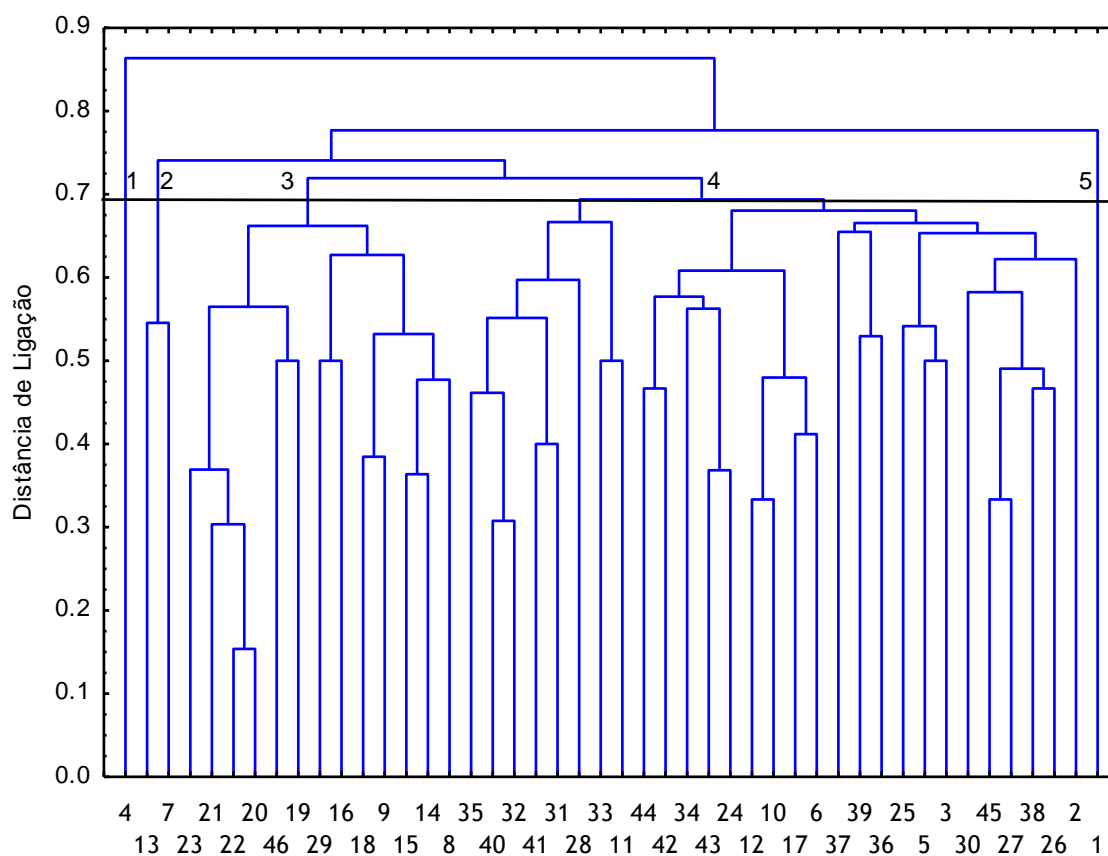


Figura 10. Dendrograma construído com base nas medidas de dissimilaridades genéticas de dados moleculares de 46 indivíduos de *Crassostrea* sp. obtido pelo método UPGMA com base na distância generalizada de Jaccard.

Através da matriz de dissimilaridade foram obtidos os índices pelo método de agrupamento UPGMA, em que foi realizada uma comparação dentre os fenótipos e retirada uma média ponderada com base no coeficiente de Jaccard. O

coeficiente de dissimilaridade dos 46 indivíduos variou de 0,33 a 1,0. A distância genética mais alta (0,33) foi observada nos indivíduos 27 e 45, enquanto a distância genética mais baixa (1,0) foi representada nos indivíduos 1 e 4

A partir do ponto de corte (MINGOTI, 2005) com base na média (0,69) das distâncias da matriz (Figura 10) de agrupamento dos dados quantitativos, foram formados cinco grupos, apresentados na tabela 7, onde os grupos III e IV apresentam maior semelhança (0,7) e os grupos I, II e V, maior distância genética (0,6).

Tabela 7. Relação dos grupos de indivíduos coletados no estuário do rio Subaé, no município de São Francisco do Conde, definidos pela matriz de agrupamento dos dados quantitativos.

GRUPOS				
I	II	III	IV	V
4	7, 13	8, 9, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 29, 46	2, 3, 5, 6, 10, 11, 12, 17, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45	1

O grupo III é composto em sua maioria por indivíduos coletados no ponto dois (Figura 1), enquanto que o grupo IV apresentou um maior número de indivíduos dos pontos um, três e quatro (Figura 1). O ponto de coleta um foi o mais afastado entre todos os pontos, possuindo uma distância de 3.428 m até o ponto dois (Tabela 2). Do ponto dois ao ponto quatro a distância é de 337 m e do ponto três ao ponto quatro, 151 m. Isso se deve provavelmente pelo fato de as ostras se reproduzirem com a liberação de óvulos e espermatozóides na água pelas fêmeas e pelos machos respectivamente. Os óvulos quando fecundados eclodem dando início a fase larval, pelágica, movimentando-se através das correntes, que possibilitam o deslocamento dos indivíduos do ponto um até os pontos dois, três e quatro.

A fase larval pode ser resultado da adaptação à dispersão e seleção de habitat, enquanto a fase adulta representa especialização em crescimento e

reprodução. Esta metamorfose é de suma importância na mudança e adequação no nicho ecológico (TARIS et al., 2006).

Os grupos I, II e V foram compostos basicamente, por indivíduos coletados no ponto um, local esse caracterizado pela presença de descarga de esgoto doméstico e industrial no estuário, com acentuada presença de lixo. Esses fatores desencadeiam modificações no habitat natural das ostras, que a partir de um mecanismo adaptativo de sobrevivência podem tornar-se geneticamente variáveis, desencadeando assim, uma maior distância genética.

A variação genética e a taxa de crescimento de diversas populações da ostra do mangue no litoral brasileiro merecem estudos aprofundados, sendo de relevância a possibilidade de existência de uma segunda espécie (*C. brasiliiana*), com crescimento bastante superior à ostra comum (*C. rhizophorae*), isso permite incrementar a produtividade em cultivos e solidificar a atividade, gerando novas oportunidades de empregos (LEGAT et al., 2009).

4. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que os *primers* utilizados na técnica ISSR para estudo dos indivíduos não foram informativos para a identificação e caracterização de espécies do gênero *Crassostrea*, porém, informaram uma elevada variabilidade genética nas populações.

Todos os *primers* se mostraram polimórficos apresentando de 8 a 11 bandas, com exceção do *primer* (GACA)₄ que apresentou monomorfismo com apenas uma banda, podendo estar relacionado à alguma característica específica.

A maioria dos exemplares amostrados nos pontos 1, 2, 3 e 4 (grupo III e IV) apresentou uma maior similaridade genética, com exceção de quatro exemplares, três do ponto 1 e um do ponto 2, que apresentaram uma maior distância genética.

Contudo, a realização de novos estudos com as espécies do gênero *Crassostrea* presentes no estuário do rio Subaé, efetuando maior amostragem (tanto em número de genótipos, como em locais) e com mais *primers* ISSR a fim de genotipar melhor os indivíduos e/ou populações, é de suma importância para a aquisição de informações que auxiliarão programas de monitoramento das populações, permitindo a preservação do potencial genético dos exemplares dos

bancos estudados, bem como, permitir a estabilidade da população ribeirinha que utiliza esse recurso como principal fonte de subsistência.

5. REFERÊNCIAS

BUITRAGO, E.; BUITRAGO, J.; FREITES, L.; LODEIROS, C. Identificación de factores que afectan al crecimiento y la supervivencia de la ostra de mangle, *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828), bajo condiciones de cultivo suspendido en la laguna de La Restinga, Isla de Margarita, Venezuela. **Zootecnia Tropical**, Maracay, v. 27, n. 1, p. 79-90, 2009.

GUPTA, M.; CHYI, Y. S.; ROMERO-SEVERSON, J.; OWEN, J. L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, p. 998-1006, 1994.

HILSDORF, A. W. S.; AZEREDO-ESPINO, A. M. L.; KRIEGER, M. H.; KRIEGER, J. E. Mitochondrial DNA diversity in wild and cultured populations of *Brycon opalinus* (Cuvier, 1819) (Characiformes, Characidae, Bryconinae) from the Paraíba do Sul Basin, Brazil. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 214, p. 81–91, 2002.

LEGAT, J. F. A.; PEREIRA, A. M. L.; LEGAT, A. P.; FOGAÇA, F. H. dos S. **Programa de Cultivo de Moluscos Bivalves da Embrapa Meio-Norte**. Teresina: Embrapa Meio Norte, 2008. 20p.

LEGAT, A. P.; OLIVEIRA, J. A. de; LAZOSKI, C. V. da S.; SOLE-CAVA, A. M.; MELO, C. M. R. de; GALVÉZ, A. O. Caracterização genética de ostras nativas do gênero *Crassostrea* no Brasil: base para o estabelecimento de um programa nacional de melhoramento. Teresina : **Embrapa Meio-Norte**, 2009. 21 p.

Li, Q.; KIJIMA, A. Identification of novel microsatellite loci in the pacific oyster (*Crassostrea gigas*) by magnetic bead hybridization selection. **Tohoku Journal of Agricultural Research**, Sendai, v. 53, n. 1-2, 2002.

Li, Q.; YU, H.; YU, R. Genetic variability assessed by microsatellites in cultured populations of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in China. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 259, p. 95–102, 2006.

MATIOLI, S. R.; PASSOS-BUENO, M. R. Métodos baseados em PCR para análise de polimorfismos de ácidos nucléicos. In: Matioli, S. R.; Fernandes, F.M.C. (Org.). **Biologia molecular e evolução**. 2 ed. Ribeirão Preto: Holos, editora, 2012, p. 181-190.

MELO, C. M. R.; SILVA, F. C.; GOMES, A. M.; SOLE´-CAVA, A. M.; LAZOSKI, C. *Crassostrea gigas* in natural oyster banks in southern Brazil. **Biological Invasions**, New York, v. 12, p. 441–449, 2010.

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2005. 295p.

MOREIRA, A. A.; HILSDORF, A. W. S.; SILVA, J. V. da; SOUZA, V. R. de. Variabilidade genética de duas variedades de tilápia nilótica por meio de marcadores microssatélites. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 4, p. 521-526, 2007.

ROMERO, F. R.; CETINA, J. T. Discontinuidad geográfica y variabilidad genética en *Crassostrea rhizophorae* guilding del sureste de México. **Universidad y Ciencia**, Villahermosa, v. 27, n. 1, p. 71-83, 2011.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning**. A Laboratory Manual. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.

SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy**: The principles and practice of numerical classification. San Francisco: W.H. Freeman, 1973. 573p.

SOUZA, V. Q. de.; PEREIRA, A. da S.; KOPP, M. M.; COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F. de; LUZ, V. K. da; OLIVEIRA, A. C. D. Dissimilaridade genética em mutantes de aveia tolerantes e sensíveis a ácidos orgânicos. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 569-575, 2005.

TARIS, N.; ERNANDE, B.; MCCOMBIE, H.; BOUDRY, P. Phenotypic and genetic consequences of size selection at the larval stage in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 333, p. 147–158, 2006.

VARELA, E. S.; BEASLEY, C. R.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I; MARQUES-SILVA, N. do S.; TAGLIARO, C. H. Molecular phylogeny of mangrove oysters (*Crassostrea*) from Brazil. **Journal of Molluscan Studies**, Oxford, v. 73, p. 229–234, 2007.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No município de São Francisco do Conde-Ba, a população ribeirinha utiliza os recursos pesqueiros para a sua subsistência, embora, tenha sido observado que a pesca artesanal não tem mais suprido as necessidades econômicas do pescador, que tem buscado alternativas para a complementação de sua renda.

Uma elevada carga microbiana nos moluscos bivalves foi observada, tornando-os um produto de baixa qualidade, aliado ainda á falta de boas práticas de manipulação durante a comercialização dos produtos.

Associado a este estudo foi verificada a presença de polimorfismo nas amostras de ostras do gênero *Crassostreae*, demonstrando a variabilidade genética nos indivíduos, características que tornam alguns indivíduos distantes geneticamente de outros na mesma população. Mais estudos precisam ser realizados objetivando a aquisição de informações genéticas quanto a esses indivíduos, o que permitirá a implementação de programas ambientais de monitoramento e de cultivo.

Acredita-se que a realização de campanhas educativas, a fim de sensibilizar as pessoas que manipulam os moluscos bivalves e a realização de ações conjuntas dos órgãos fiscalizadores e entidades representantes da pesca artesanal possam contribuir para aumentar o controle sobre a poluição, bem como a pesca predatória.

ANEXO A



Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas
Projeto São Francisco do Conde

QUESTIONÁRIO SOCIOECONÔMICO, SAÚDE PÚBLICA E AMBIENTAL

Local: _____ Data: _____

DADOS SOCIOECONÔMICOS

1. Nome: _____ Idade: _____
2. Sexo: _____
3. Estado Civil:
a. solteiro b. casado c. separado d. amigado e. viúvo
4. Naturalidade:
Estado _____ Cidade: _____
5. Raça/Cor:
a. branca b. negra c. parda d. amarela
6. Nível de instrução:
a. analfabeto b. 1º grau incompleto c. 1º grau completo d. 2º grau incompleto e. 2º grau completo f. superior
7. Tem filhos:
a. sim b. não Quantos: _____
8. Quantas pessoas moram na casa? _____
9. Os filhos estudam:
a. sim b. não
Caso não, porque?

10. Qual a fonte de renda da família? _____ Quantos membros da casa contribuem com essa renda? _____
11. Quanto é a renda familiar?
a. < 1 salário mínimo b. entre 1 e 2 salários mínimos c. > 2 salários mínimos
12. Possui casa:
a. própria b. alugada c. emprestada
13. Tem energia elétrica?
a. sim b. não
14. Qual a procedência da água de consumo?
a. poço/cisterna b. central de abastecimento c. corpos d'água (rios, etc.)
15. O esgoto da sua casa:
a. fossa b. esgoto público c. rua

16. Qual o destino do lixo acumulado na casa?
 a. coleta pública b. queimado c. enterrado d. terreno baldio
17. Bens duráveis:
 a. tv b. geladeira c. fogão d. telefone e. carro f. computador g. telefone
18. Que alimento consome mais:
 a. carne b. peixe c. frango d. ovos
19. Que animal possui em casa?
 a. cachorro b. gato c. peixe d. outros _____ e. nenhum

DADOS DE SAÚDE PÚBLICA

20. Quais os tipos de serviços médicos mais utilizados?
 a. hospitais b. postos de saúde c. farmácias d. nenhum
21. Qual o tipo de atendimento que utiliza?
 a. SUS b. convênio particular
22. Existe posto de saúde público próximo à sua residência?
 a. sim b. não
23. Vacina ou já vacinou seus filhos?
 a. sim b. não, Porque? _____
24. Vacina seus animais (cachorro e gato)?
 a. sim b. não, Porque? _____
25. Identifique quais as doenças que mais atingem.
 a) as crianças: _____
 b) os adultos: _____
 c) os idosos: _____
26. Você acha que a água pode causar problemas à saúde?
 a. sim b. não
 Caso _____ sim cite algumas
27. Qual o tratamento utilizado na água de beber?
 a. fervida b. filtrada c. mineral d. sem tratamento
28. As crianças da casa sempre apresentam diarreia ou vômito?
 a. sim b. não
29. E os adultos?
 a. sim b. não
30. A diarreia ocorreu devido à ingestão de:
 a. água b. alimento, Qual? _____
31. Você lava as mãos ao sair do banheiro?
 a. sim b. não
32. Você sabe que a falta de higiene pode trazer problemas para a sua saúde?
 a. sim b. não
 Caso sim cite alguns: _____
33. Você consome sempre pescado (peixe, ostra, sururu)?
 a. sim b. não
34. O pescado é capturado por algum membro da família ou é comprado na feira?

35. Você acha que o pescado comercializado na cidade tem qualidade (é fresco)?
 a. sim b. não
36. Você come ostra crua?
 a. sim b. não
37. Já passou mal devido a ingestão de ostra crua?
 a. sim b. não
38. Você sabia que a fossa próximo a cisterna pode contaminar sua água?
 a. sim b. não
39. Que tipo de medicação utiliza?

- a. receita pelo médico b. caseira c. nenhuma
40. Qual medicação caseira utiliza e pra que finalidade?

DADOS AMBIENTAIS

41. Acha importante preservar o meio ambiente?

a. sim b. não

42. Você procura preservar o meio ambiente?

a. sim b. não

43. Cite três medidas que você utiliza pra preservar o meio ambiente.

44. Conhece pessoas que poluem o meio ambiente de sua cidade?

a. sim b. não

45. Que tipo de poluição você apontaria na sua cidade?

46. Você acha o rio de sua cidade poluído?

a. sim b. não

47. Você acha necessário se realizar um projeto para recuperação dos rios da região?

a. sim b. não

48. Você adotaria novos procedimentos para a melhoria do meio ambiente e da comunidade?

a. sim b. não, Qual?

49. Na sua região se pesca muito peixe/marisco?

a. sim b. não

50. O que você diria da pesca na sua região?

51. Você participa de programas ambientais?

a. sim b. não

52. E de ações comunitárias?

a. sim b. não

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO

1. Título

AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS PELO HOMEM NA QUALIDADE DOS RECURSOS HIDRICOS EM SÃO FRANCISCO DO CONDE USANDO DIFERENTES BIOINDICADORES

2. Parágrafo de Convite

Você está sendo convidado(a) a participar de uma pesquisa. Antes de decidir, é importante que entenda o porquê a pesquisa está sendo realizada e o que ela envolve. Por favor, dedique um tempo para ler cuidadosamente as informações seguintes e discutir isto com os seus familiares e amigos. Se você desejar, pode levar esta folha para casa para pensar melhor. Pergunte-nos se alguma coisa não está clara ou se você precisar de mais informações. Utilize o tempo que for necessário para decidir a sua participação nesta pesquisa.

3. Questões de Interesse do Participante:

3.1. "Qual o propósito do estudo?"

No Brasil, os problemas ambientais nas zonas costeiras devido a intervenção humana estão se agravando. Estas áreas concentram diferentes grupos populacionais, os quais são responsáveis pelo aumento na quantidade de efluentes domésticos e industriais. Estes efluentes são lançados no ambiente sem tratamento prévio, comprometendo a qualidade dos recursos hídricos. A degradação desses recursos naturais afeta diretamente a saúde humana através do aumento de doenças de veiculação hídrica, como a cólera, a febre tifóide e paratifóide, a gastroenterite e a salmonelose; contaminação química; presença de biotoxinas; além dos efeitos de bioacumulação de metais pesados. No município de São Francisco do Conde é de fundamental importância a implantação de ações de pesquisa, monitoramento e gestão ambiental que possibilitem a transferência contínua da base científica de modo que a conservação dos recursos hídricos não comprometa a saúde da população local. O presente projeto tem como objetivo avaliar o impacto ambiental das atividades antrópica na bacia do rio Subaé usando indicadores microbiológicos e bioindicadores (ex. moluscos bivalves) que têm importância na saúde pública bem como monitorar as variáveis físico-químicas do ecossistema aquático, usando amostras de água e plâncton. Também será avaliado a presença de metais pesados e testes de toxicidade.

Estas ações serão efetivas se o projeto for executado de forma participativa, com apoio da comunidade local. O monitoramento de alguns descritores ambientais será realizado de forma simplificada, para que os envolvidos aprendam com os resultados gerados. Além disso, serão realizadas oficinas de educação ambiental com seminários, oficinas de reciclagem e elaboração de cartilhas informativas. O estudo contempla ainda um questionário a ser realizado com alguns

moradores do município para avaliações das condições sanitárias e ambientais com análise da potabilidade da água de consumo a fim de traçar uma estratégia de educação sanitária para a área de estudo. Através dessa base de dados, o município poderá ter subsídios para desenvolver ações para preservar a saúde da sua população e minimizando os impactos ambientais em seus recursos naturais. A duração prevista deste projeto é de 24 meses (dois anos).

3.2. "Por que fui escolhido?"

A escolha foi aleatória e porque dentro do nosso projeto queremos avaliar as condições higiênicas sanitárias da população em 100 domicílios na cidade. Nesta etapa do projeto além do questionário a ser respondido iremos avaliar também a qualidade da água que é consumida pela comunidade (sua casa), verificando se a mesma apresenta riscos para a saúde humana.

3.3. "Eu sou obrigado a participar?"

Não. Se você concordar em participar da pesquisa deverá assinar o **TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO** em duas vias e manter uma cópia com você. Caso contrário fique a vontade para recusar.

3.4. "O que me acontecerá se eu participar?"

Desenvolvimento humano. Ao final do projeto iremos reunir as pessoas que participaram da pesquisa para uma palestra visando informá-los e orientá-los da necessidade dos cuidados com a saúde e a divulgação dos resultados. Caso você **não** queira que o resultado da análise da água da sua casa seja divulgado, o mesmo será relatado apenas a você. Além disso, ao longo da execução do projeto iremos realizar oficinas de educação ambiental que você também poderá participar.

4. Quanto aos Métodos de Pesquisa

Nesse estudo iremos realizar um questionário contendo 53 perguntas que será respondido por um membro da casa. Em seguida será coletada uma amostra da água usada para o consumo para que a mesma seja enviada ao laboratório e realizada as análises microbiológicas para se verificar a presença de microrganismos que possam causar doença aos usuários dessa água, como por exemplo, o grupo dos coliformes, que são indicadores de contaminação fecal (fezes).

Durante os dois anos de execução do projeto serão realizadas oficinas de educação ambiental, seminários de reciclagem, caracterização ambiental e elaboração de cartilhas educativas, onde todas essas ações estarão abertas à comunidade.

5. "Quais são os benefícios em se participar do estudo?"

Você está tendo a oportunidade de participar de ações que dizem respeito ao seu município, como por exemplo, o impacto ambiental que os recursos hídricos vêm sofrendo com a ação do homem. Terá a oportunidade de saber se a água que você consome não está contaminada e assim não trará riscos para a sua saúde e da sua família. Poderá participar dos resultados da pesquisa

procurando qualquer um dos pesquisadores envolvidos. Poderá participar de oficinas ecológicas e assim ajudar a sua comunidade a cuidar melhor dos recursos naturais sem agredir o meio ambiente.

6. "O que acontece quando a pesquisa termina?"

Os resultados obtidos servirão para indicar soluções e alternativas para a melhoria da qualidade de vida da população são franciscana.

7. "Minha participação nesta pesquisa será mantida em sigilo?"

Sim. o seu questionário só será analisado pelos pesquisadores envolvidos no projeto e quando os dados forem divulgados em encontros científicos ou revistas científicas o seu nome não será revelado.

8. "Quem está organizando e financiando a pesquisa?"

Esta pesquisa será realizada pelos pesquisadores da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia – UFRB e Instituto Federal da Bahia – IFBA e será financiada pela parceria entre a Prefeitura Municipal de São Francisco do Conde, e a Fundação de Amparo a Pesquisa no Estado da Bahia - FAPESB.

(Dados fornecidos pelo patrocinador)

Número de Centro:

Estudo Número:

(Dados fornecidos pelo Investigador-principal)

Número da identificação do(a) entrevistado neste estudo:

ANEXO C

Matriz dos dados genéticos gerada pelo método UPGMA por pontos de coleta das ostras, or números seguidos da letra (a) representam os indivíduos de maior similaridade e os números seguidos da letra (b) os mais dissimilares.

Ponto 1

Genotipos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	0,0000	0,8000	0,8750	1,000 (a)	0,8333	0,8889	0,8333	0,7778	0,6667	0,7000	0,9000	0,8462
2	0,8000	0,0000	0,8182	0,9091	0,7143	0,8571	0,7143	0,6364	0,6667	0,7857	0,7500	0,7333
3	0,8750	0,8182	0,0000	0,8750	0,5000	0,8333	0,8462	0,6667	0,7857	0,7273	0,6667	0,7692
4	1,000 (a)	0,9091	0,8750	0,0000	0,7273	0,7500	0,8333	0,7778	0,8571	0,7000	0,7778	0,7500
5	0,8333	0,7143	0,5000	0,7273	0,0000	0,5556	0,7500	0,5833	0,6250	0,5385	0,6923	0,5000
6	0,8889	0,8571	0,8333	0,7500	0,5556	0,0000	0,6316	0,7222	0,7273	0,5294	0,7895	0,5000
7	0,8333	0,7143	0,8462	0,8333	0,7500	0,6316	0,0000	0,6923	0,7059	0,6429	0,7857	0,6875
8	0,7778	0,6364	0,6667	0,7778	0,5833	0,7222	0,6923	0,0000	0,5385	0,5455	0,6000	0,5000
9	0,6667	0,6667	0,7857	0,8571	0,6250	0,7273	0,7059	0,5385	0,0000	0,5000	0,6429	0,5625
10	0,7000	0,7857	0,7273	0,7000	0,5385	0,5294	0,6429	0,5455	0,5000	0,0000	0,7692	0,3333
11	0,9000	0,7500	0,6667	0,7778	0,6923	0,7895	0,7857	0,6000	0,6429	0,7692	0,0000	0,7143
12	0,8462	0,7333	0,7692	0,7500	0,5000	0,5000	0,6875	0,5000	0,5625	0,3333	0,7143	0,0000
13	0,7500	0,8333	0,7778	0,7500	0,6667	0,7059	0,5455	0,7000	0,6154	0,5000	0,8182	0,5833
14	0,7273	0,7143	0,6364	0,9231	0,6667	0,7000	0,7500	0,4546	0,4286	0,6429	0,6923	0,6000
15	0,9091	0,6667	0,8182	0,9091	0,7143	0,6667	0,7143	0,5000	0,5714	0,5833	0,8462	0,5385
16	0,7143	0,8182	0,7500	0,8750	0,7500	0,6875	0,7500	0,6667	0,6923	0,6000	0,8000	0,6667
17	0,7500	0,8125	0,7692	0,8462	0,5000	0,4118	0,7647	0,6154	0,5625	0,4615	0,7143	0,4286
18	0,7000	0,6923	0,7273	0,9167	0,7333	0,8636	0,7333	0,5455	0,3846	0,8000	0,6667	0,7500
19	0,9000	0,8462	0,6667	0,9000	0,7857	0,8500	0,8667	0,8333	0,7333	0,7692	0,8333	0,8000
20	0,8462	0,8125	0,8571	0,8462	0,7647	0,7143	0,8333	0,6154	0,5625	0,6667	0,7143	0,6250
21	0,8333	0,8000	0,8462	0,9231	0,8235	0,7619	0,8235	0,6923	0,6250	0,7333	0,7857	0,6875
22	0,7857	0,7647	0,8750	0,8667	0,7222	0,6818	0,7895	0,6667	0,4375	0,5333	0,7500	0,5882
23	0,7692	0,8235	0,8667	0,9333	0,7778	0,7273	0,7778	0,8125	0,5882	0,6000	0,8824	0,6471
24	0,8947	0,8636	0,8421	0,7647	0,7143	0,4286	0,7143	0,7368	0,7391	0,7000	0,8571	0,6000
25	0,7778	0,8462	0,5000	0,9000	0,5833	0,7895	0,7857	0,7273	0,7333	0,7692	0,7273	0,7143
26	0,6667	0,5714	0,7857	0,9333	0,7059	0,7826	0,6250	0,6429	0,6667	0,6875	0,8125	0,7222
27	0,6000	0,6154	0,7500	0,9231	0,6667	0,7000	0,7500	0,6923	0,6250	0,5385	0,7857	0,5000
28	0,7692	0,6667	0,9375	0,8571	0,7059	0,6667	0,8421	0,8125	0,5882	0,6875	0,8125	0,5625
29	0,7778	0,7500	0,8000	0,9000	0,7857	0,7222	0,6923	0,6000	0,6429	0,6667	0,7273	0,6154
30	0,8000	0,7692	0,5556	0,9091	0,7143	0,8000	0,8000	0,7500	0,8235	0,7857	0,7500	0,8125
31	0,8000	0,7778	0,8824	0,8000	0,6667	0,5714	0,5882	0,6875	0,5556	0,6471	0,6875	0,6111
32	0,7500	0,8125	0,6667	0,8462	0,6000	0,7143	0,8333	0,8000	0,7222	0,8235	0,7143	0,7778
33	0,7143	0,7000	0,5714	0,8750	0,6364	0,8333	0,6364	0,6667	0,6923	0,7273	0,5000	0,7692
34	0,8889	0,8000	0,6875	0,9474	0,6316	0,7200	0,7000	0,8500	0,7826	0,8095	0,7895	0,7143
35	0,7000	0,5833	0,6000	0,9167	0,5385	0,8095	0,8125	0,6667	0,6000	0,8000	0,6667	0,5714
36	0,7333	0,7222	0,7500	0,8824	0,6842	0,7600	0,8095	0,5333	0,5000	0,6667	0,6250	0,7000
37	0,7000	0,8667	0,7273	0,8182	0,6429	0,6842	0,8125	0,6667	0,7647	0,7143	0,8571	0,7500
38	0,6364	0,5385	0,5455	0,9286	0,5000	0,7727	0,7647	0,6154	0,5625	0,6667	0,8000	0,7059
39	0,7273	0,8000	0,6364	0,8333	0,5714	0,7619	0,8235	0,5833	0,6250	0,5385	0,6923	0,6875
40	0,7500	0,7333	0,6667	0,9286	0,6875	0,8261	0,7647	0,8000	0,7222	0,8235	0,6154	0,7778
41	0,8333	0,8000	0,7500	0,8333	0,7500	0,8182	0,7500	0,6923	0,6250	0,8125	0,4546	0,7647
42	0,8462	0,6429	0,7692	0,8462	0,6875	0,5790	0,6875	0,6154	0,7222	0,5714	0,7143	0,4286
43	0,8000	0,8421	0,8125	0,8750	0,7368	0,5000	0,6667	0,7647	0,7619	0,6471	0,8947	0,5294
44	0,8571	0,6667	0,6923	0,9333	0,7059	0,7273	0,7059	0,6429	0,7368	0,6875	0,7333	0,5625
45	0,6000	0,6154	0,6364	0,8333	0,5714	0,7000	0,7500	0,6923	0,6250	0,5385	0,7857	0,6875
46	0,7500	0,7333	0,7692	0,9286	0,7647	0,8261	0,7647	0,7143	0,6471	0,7500	0,8750	0,7059

Ponto 2

Genotipos	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
1	0,7500	0,7273	0,9091	0,7143	0,7500	0,7000	0,9000	0,8462	0,8333	0,7857	0,7692
2	0,8333	0,7143	0,6667	0,8182	0,8125	0,6923	0,8462	0,8125	0,8000	0,7647	0,8235
3	0,7778	0,6364	0,8182	0,7500	0,7692	0,7273	0,6667	0,8571	0,8462	0,8750	0,8667
4	0,7500	0,9231	0,9091	0,8750	0,8462	0,9167	0,9000	0,8462	0,9231	0,8667	0,9333
5	0,6667	0,6667	0,7143	0,7500	0,5000	0,7333	0,7857	0,7647	0,8235	0,7222	0,7778
6	0,7059	0,7000	0,6667	0,6875	0,4118	0,8636	0,8500	0,7143	0,7619	0,6818	0,7273
7	0,5455	0,7500	0,7143	0,7500	0,7647	0,7333	0,8667	0,8333	0,8235	0,7895	0,7778
8	0,7000	0,4546	0,5000	0,6667	0,6154	0,5455	0,8333	0,6154	0,6923	0,6667	0,8125
9	0,6154	0,4286	0,5714	0,6923	0,5625	0,3846	0,7333	0,5625	0,6250	0,4375	0,5882
10	0,5000	0,6429	0,5833	0,6000	0,4615	0,8000	0,7692	0,6667	0,7333	0,5333	0,6000
11	0,8182	0,6923	0,8462	0,8000	0,7143	0,6667	0,8333	0,7143	0,7857	0,7500	0,8824
12	0,5833	0,6000	0,5385	0,6667	0,4286	0,7500	0,8000	0,6250	0,6875	0,5882	0,6471
13	0,0000	0,7692	0,7273	0,6250	0,6923	0,6364	0,7000	0,6923	0,6667	0,6429	0,6154
14	0,7692	0,0000	0,3636	0,5000	0,5000	0,4167	0,7857	0,6000	0,6667	0,6471	0,7778
15	0,7273	0,3636	0,0000	0,5556	0,5385	0,6923	0,8462	0,6429	0,7143	0,6000	0,7500
16	0,6250	0,5000	0,5556	0,0000	0,5455	0,7273	0,6667	0,5455	0,6364	0,6154	0,6923
17	0,6923	0,5000	0,5385	0,5455	0,0000	0,7500	0,8000	0,6250	0,7647	0,5882	0,7222
18	0,6364	0,4167	0,6923	0,7273	0,7500	0,0000	0,6667	0,5714	0,5385	0,6250	0,6875
19	0,7000	0,7857	0,8462	0,6667	0,8000	0,6667	0,0000	0,5000	0,4546	0,5714	0,5385
20	0,6923	0,6000	0,6429	0,5455	0,6250	0,5714	0,5000	0,0000	0,2500	0,1539	0,4667
21	0,6667	0,6667	0,7143	0,6364	0,7647	0,5385	0,4546	0,2500	0,0000	0,3571	0,3077
22	0,6429	0,6471	0,6000	0,6154	0,5882	0,6250	0,5714	0,1539	0,3571	0,0000	0,3333
23	0,6154	0,7778	0,7500	0,6923	0,7222	0,6875	0,5385	0,4667	0,3077	0,3333	0,0000
24	0,8500	0,6500	0,7500	0,7778	0,6000	0,8182	0,8571	0,7826	0,8261	0,8000	0,7917
25	0,8182	0,5833	0,8462	0,8000	0,6154	0,6667	0,8333	0,8750	0,8667	0,8889	0,8824
26	0,8000	0,6250	0,7500	0,7857	0,6471	0,6875	0,8824	0,8500	0,8421	0,8095	0,8000
27	0,7692	0,5714	0,7143	0,6364	0,5000	0,7333	0,7857	0,7647	0,7500	0,7222	0,6250
28	0,8000	0,7059	0,6667	0,7857	0,5625	0,7647	0,8824	0,7895	0,7778	0,6842	0,6667
29	0,7000	0,5833	0,6364	0,5000	0,6154	0,6667	0,7273	0,7143	0,6923	0,7500	0,6429
30	0,8333	0,7143	0,8571	0,8182	0,7333	0,7857	0,7500	0,8824	0,8000	0,8947	0,8235
31	0,7500	0,6667	0,7059	0,7333	0,5294	0,7222	0,8333	0,7500	0,8000	0,7143	0,7000
32	0,7857	0,6000	0,8125	0,6667	0,6250	0,6667	0,8000	0,7778	0,8333	0,8000	0,7895
33	0,6250	0,6364	0,8182	0,5714	0,7692	0,6000	0,8000	0,7692	0,7500	0,8000	0,7857
34	0,8421	0,7000	0,8000	0,8333	0,6500	0,8095	0,8500	0,8261	0,8696	0,7917	0,7826
35	0,7500	0,5385	0,7857	0,7273	0,6667	0,5000	0,7692	0,7500	0,7333	0,7778	0,7647
36	0,8333	0,5294	0,7222	0,8235	0,6316	0,5882	0,9000	0,7000	0,7500	0,6667	0,7727
37	0,7500	0,5385	0,6923	0,6000	0,5714	0,7143	0,8571	0,7500	0,8125	0,7778	0,8333
38	0,7857	0,5000	0,7333	0,7692	0,6250	0,5714	0,8000	0,7778	0,7647	0,7368	0,7222
39	0,7692	0,6667	0,8000	0,7500	0,6875	0,7333	0,8667	0,6875	0,7500	0,6471	0,7059
40	0,7857	0,6875	0,8824	0,7692	0,7059	0,6667	0,8000	0,8421	0,8333	0,8571	0,7895
41	0,8571	0,6667	0,8750	0,8462	0,6875	0,6429	0,8667	0,8333	0,8889	0,8500	0,8421
42	0,6923	0,5000	0,5385	0,5455	0,5333	0,7500	0,8000	0,6250	0,6875	0,6667	0,7895
43	0,7500	0,5882	0,7059	0,6429	0,5294	0,7895	0,8333	0,7500	0,7368	0,7727	0,7000
44	0,8000	0,5333	0,5714	0,5833	0,6471	0,7647	0,7333	0,6471	0,7059	0,6842	0,7368
45	0,7692	0,5714	0,7143	0,6364	0,6000	0,7333	0,6923	0,7647	0,7500	0,7222	0,7059
46	0,7857	0,6000	0,7333	0,6667	0,7059	0,5714	0,5000	0,6250	0,6000	0,6667	0,5625

Ponto 3

Genotipos	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
1	0,8947	0,7778	0,6667	0,6000	0,7692	0,7778	0,8000	0,8000	0,7500	0,7143	0,8889	0,7000
2	0,8636	0,8462	0,5714	0,6154	0,6667	0,7500	0,7692	0,7778	0,8125	0,7000	0,8000	0,5833
3	0,8421	0,5000	0,7857	0,7500	0,9375	0,8000	0,5556	0,8824	0,6667	0,5714	0,6875	0,6000
4	0,7647	0,9000	0,9333	0,9231	0,8571	0,9000	0,9091	0,8000	0,8462	0,8750	0,9474	0,9167
5	0,7143	0,5833	0,7059	0,6667	0,7059	0,7857	0,7143	0,6667	0,6000	0,6364	0,6316	0,5385
6	0,4286	0,7895	0,7826	0,7000	0,6667	0,7222	0,8000	0,5714	0,7143	0,8333	0,7200	0,8095
7	0,7143	0,7857	0,6250	0,7500	0,8421	0,6923	0,8000	0,5882	0,8333	0,6364	0,7000	0,8125
8	0,7368	0,7273	0,6429	0,6923	0,8125	0,6000	0,7500	0,6875	0,8000	0,6667	0,8500	0,6667
9	0,7391	0,7333	0,6667	0,6250	0,5882	0,6429	0,8235	0,5556	0,7222	0,6923	0,7826	0,6000
10	0,7000	0,7692	0,6875	0,5385	0,6875	0,6667	0,7857	0,6471	0,8235	0,7273	0,8095	0,8000
11	0,8571	0,7273	0,8125	0,7857	0,8125	0,7273	0,7500	0,6875	0,7143	0,5000	0,7895	0,6667
12	0,6000	0,7143	0,7222	0,5000	0,5625	0,6154	0,8125	0,6111	0,7778	0,7692	0,7143	0,5714
13	0,8500	0,8182	0,8000	0,7692	0,8000	0,7000	0,8333	0,7500	0,7857	0,6250	0,8421	0,7500
14	0,6500	0,5833	0,6250	0,5714	0,7059	0,5833	0,7143	0,6667	0,6000	0,6364	0,7000	0,5385
15	0,7500	0,8462	0,7500	0,7143	0,6667	0,6364	0,8571	0,7059	0,8125	0,8182	0,8000	0,7857
16	0,7778	0,8000	0,7857	0,6364	0,7857	0,5000	0,8182	0,7333	0,6667	0,5714	0,8333	0,7273
17	0,6000	0,6154	0,6471	0,5000	0,5625	0,6154	0,7333	0,5294	0,6250	0,7692	0,6500	0,6667
18	0,8182	0,6667	0,6875	0,7333	0,7647	0,6667	0,7857	0,7222	0,6667	0,6000	0,8095	0,5000
19	0,8571	0,8333	0,8824	0,7857	0,8824	0,7273	0,7500	0,8333	0,8000	0,8000	0,8500	0,7692
20	0,7826	0,8750	0,8500	0,7647	0,7895	0,7143	0,8824	0,7500	0,7778	0,7692	0,8261	0,7500
21	0,8261	0,8667	0,8421	0,7500	0,7778	0,6923	0,8000	0,8000	0,8333	0,7500	0,8696	0,7333
22	0,8000	0,8889	0,8095	0,7222	0,6842	0,7500	0,8947	0,7143	0,8000	0,8000	0,7917	0,7778
23	0,7917	0,8824	0,8000	0,6250	0,6667	0,6429	0,8235	0,7000	0,7895	0,7857	0,7826	0,7647
24	0,0000	0,6667	0,6191	0,6500	0,6818	0,7368	0,6842	0,5238	0,6667	0,9000	0,6250	0,7619
25	0,6667	0,0000	0,5385	0,5833	0,8125	0,8333	0,6364	0,8333	0,7143	0,6667	0,5625	0,5455
26	0,6191	0,5385	0,0000	0,4286	0,6667	0,7333	0,5714	0,6316	0,7222	0,6923	0,5263	0,6875
27	0,6500	0,5833	0,4286	0,0000	0,5333	0,5833	0,6154	0,5882	0,6875	0,6364	0,6316	0,5385
28	0,6818	0,8125	0,6667	0,5333	0,0000	0,6429	0,8235	0,4706	0,5625	0,8667	0,7273	0,6000
29	0,7368	0,8333	0,7333	0,5833	0,6429	0,0000	0,8462	0,5000	0,6154	0,6667	0,8500	0,6667
30	0,6842	0,6364	0,5714	0,6154	0,8235	0,8462	0,0000	0,7059	0,6429	0,7000	0,5882	0,6923
31	0,5238	0,8333	0,6316	0,5882	0,4706	0,5000	0,7059	0,0000	0,5294	0,7333	0,6957	0,7222
32	0,6667	0,7143	0,7222	0,6875	0,5625	0,6154	0,6429	0,5294	0,0000	0,6667	0,5790	0,4615
33	0,9000	0,6667	0,6923	0,6364	0,8667	0,6667	0,7000	0,7333	0,6667	0,0000	0,7647	0,6000
34	0,6250	0,5625	0,5263	0,6316	0,7273	0,8500	0,5882	0,6957	0,5790	0,7647	0,0000	0,6111
35	0,7619	0,5455	0,6875	0,5385	0,6000	0,6667	0,6923	0,7222	0,4615	0,6000	0,6111	0,0000
36	0,7692	0,7059	0,6500	0,6842	0,7143	0,7059	0,7895	0,6818	0,7000	0,7500	0,7600	0,6667
37	0,7000	0,6667	0,6000	0,6429	0,7647	0,7692	0,6923	0,7222	0,5714	0,7273	0,6842	0,7143
38	0,7273	0,5000	0,4667	0,5000	0,7222	0,7143	0,6429	0,7500	0,6250	0,6667	0,5790	0,4615
39	0,7727	0,6923	0,5333	0,6667	0,7778	0,7857	0,7143	0,7368	0,6875	0,6364	0,6316	0,7333
40	0,7826	0,7143	0,5625	0,6000	0,6471	0,6154	0,5385	0,5294	0,3077	0,5455	0,5000	0,4615
41	0,6500	0,6923	0,6250	0,6667	0,7059	0,5833	0,6154	0,4000	0,5000	0,6364	0,6316	0,6429
42	0,6667	0,7143	0,5625	0,5000	0,7222	0,7143	0,7333	0,7500	0,7778	0,6667	0,6500	0,6667
43	0,3684	0,6000	0,5556	0,5000	0,6316	0,6875	0,6250	0,6667	0,6111	0,8125	0,5000	0,6471
44	0,6191	0,7333	0,5882	0,5333	0,6667	0,6429	0,5714	0,6316	0,5625	0,6923	0,5263	0,6000
45	0,7143	0,6923	0,5333	0,33333 (b)	0,6250	0,6923	0,5000	0,5882	0,6000	0,6364	0,7000	0,6429
46	0,6667	0,8000	0,6471	0,6000	0,6471	0,5000	0,6429	0,5294	0,5333	0,7692	0,7143	0,5714

Ponto 4

Genotipos	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46
1	0,7333	0,7000	0,6364	0,7273	0,7500	0,8333	0,8462	0,8000	0,8571	0,6000	0,7500
2	0,7222	0,8667	0,5385	0,8000	0,7333	0,8000	0,6429	0,8421	0,6667	0,6154	0,7333
3	0,7500	0,7273	0,5455	0,6364	0,6667	0,7500	0,7692	0,8125	0,6923	0,6364	0,7692
4	0,8824	0,8182	0,9286	0,8333	0,9286	0,8333	0,8462	0,8750	0,9333	0,8333	0,9286
5	0,6842	0,6429	0,5000	0,5714	0,6875	0,7500	0,6875	0,7368	0,7059	0,5714	0,7647
6	0,7600	0,6842	0,7727	0,7619	0,8261	0,8182	0,5790	0,5000	0,7273	0,7000	0,8261
7	0,8095	0,8125	0,7647	0,8235	0,7647	0,7500	0,6875	0,6667	0,7059	0,7500	0,7647
8	0,5333	0,6667	0,6154	0,5833	0,8000	0,6923	0,6154	0,7647	0,6429	0,6923	0,7143
9	0,5000	0,7647	0,5625	0,6250	0,7222	0,6250	0,7222	0,7619	0,7368	0,6250	0,6471
10	0,6667	0,7143	0,6667	0,5385	0,8235	0,8125	0,5714	0,6471	0,6875	0,5385	0,7500
11	0,6250	0,8571	0,8000	0,6923	0,6154	0,4546	0,7143	0,8947	0,7333	0,7857	0,8750
12	0,7000	0,7500	0,7059	0,6875	0,7778	0,7647	0,4286	0,5294	0,5625	0,6875	0,7059
13	0,8333	0,7500	0,7857	0,7692	0,7857	0,8571	0,6923	0,7500	0,8000	0,7692	0,7857
14	0,5294	0,5385	0,5000	0,6667	0,6875	0,6667	0,5000	0,5882	0,5333	0,5714	0,6000
15	0,7222	0,6923	0,7333	0,8000	0,8824	0,8750	0,5385	0,7059	0,5714	0,7143	0,7333
16	0,8235	0,6000	0,7692	0,7500	0,7692	0,8462	0,5455	0,6429	0,5833	0,6364	0,6667
17	0,6316	0,5714	0,6250	0,6875	0,7059	0,6875	0,5333	0,5294	0,6471	0,6000	0,7059
18	0,5882	0,7143	0,5714	0,7333	0,6667	0,6429	0,7500	0,7895	0,7647	0,7333	0,5714
19	0,9000	0,8571	0,8000	0,8667	0,8000	0,8667	0,8000	0,8333	0,7333	0,6923	0,5000
20	0,7000	0,7500	0,7778	0,6875	0,8421	0,8333	0,6250	0,7500	0,6471	0,7647	0,6250
21	0,7500	0,8125	0,7647	0,7500	0,8333	0,8889	0,6875	0,7368	0,7059	0,7500	0,6000
22	0,6667	0,7778	0,7368	0,6471	0,8571	0,8500	0,6667	0,7727	0,6842	0,7222	0,6667
23	0,7727	0,8333	0,7222	0,7059	0,7895	0,8421	0,7895	0,7000	0,7368	0,7059	0,5625
24	0,7692	0,7000	0,7273	0,7727	0,7826	0,6500	0,6667	0,3684	0,6191	0,7143	0,6667
25	0,7059	0,6667	0,5000	0,6923	0,7143	0,6923	0,7143	0,6000	0,7333	0,6923	0,8000
26	0,6500	0,6000	0,4667	0,5333	0,5625	0,6250	0,5625	0,5556	0,5882	0,5333	0,6471
27	0,6842	0,6429	0,5000	0,6667	0,6000	0,6667	0,5000	0,5000	0,5333	0,33333 (b)	0,6000
28	0,7143	0,7647	0,7222	0,7778	0,6471	0,7059	0,7222	0,6316	0,6667	0,6250	0,6471
29	0,7059	0,7692	0,7143	0,7857	0,6154	0,5833	0,7143	0,6875	0,6429	0,6923	0,5000
30	0,7895	0,6923	0,6429	0,7143	0,5385	0,6154	0,7333	0,6250	0,5714	0,5000	0,6429
31	0,6818	0,7222	0,7500	0,7368	0,5294	0,4000	0,7500	0,6667	0,6316	0,5882	0,5294
32	0,7000	0,5714	0,6250	0,6875	0,3077	0,5000	0,7778	0,6111	0,5625	0,6000	0,5333
33	0,7500	0,7273	0,6667	0,6364	0,5455	0,6364	0,6667	0,8125	0,6923	0,6364	0,7692
34	0,7600	0,6842	0,5790	0,6316	0,5000	0,6316	0,6500	0,5000	0,5263	0,7000	0,7143
35	0,6667	0,7143	0,4615	0,7333	0,4615	0,6429	0,6667	0,6471	0,6000	0,6429	0,5714
36	0,0000	0,6667	0,4706	0,5294	0,7000	0,6111	0,7619	0,7917	0,7727	0,6842	0,7619
37	0,6667	0,0000	0,6667	0,6429	0,6667	0,8125	0,5714	0,6471	0,6875	0,5385	0,7500
38	0,4706	0,6667	0,0000	0,5000	0,6250	0,6875	0,7059	0,6842	0,7222	0,5000	0,6250
39	0,5294	0,6429	0,5000	0,0000	0,6000	0,6667	0,6875	0,7368	0,7059	0,6667	0,7647
40	0,7000	0,6667	0,6250	0,6000	0,0000	0,3846	0,7059	0,6842	0,5625	0,6000	0,5333
41	0,6111	0,8125	0,6875	0,6667	0,3846	0,0000	0,8333	0,7368	0,7059	0,7500	0,6000
42	0,7619	0,5714	0,7059	0,6875	0,7059	0,8333	0,0000	0,5294	0,4667	0,6000	0,7778
43	0,7917	0,6471	0,6842	0,7368	0,6842	0,7368	0,5294	0,0000	0,4706	0,6667	0,6111
44	0,7727	0,6875	0,7222	0,7059	0,5625	0,7059	0,4667	0,4706	0,0000	0,5333	0,5625
45	0,6842	0,5385	0,5000	0,6667	0,6000	0,7500	0,6000	0,6667	0,5333	0,0000	0,6000
46	0,7619	0,7500	0,6250	0,7647	0,5333	0,6000	0,7778	0,6111	0,5625	0,6000	0,0000