



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Agrárias
Departamento de Aquicultura
Curso de Graduação em Engenharia de Aquicultura

Avaliação do efeito de anestésicos para a ostra perlífera nativa do Brasil
Pteria hirundo (Linné, 1758)

Artur Freitas Araújo

Florianópolis / SC

2011 . 2

Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Agrárias
Departamento de Aquicultura

Avaliação do efeito de anestésicos para a ostra perlífera nativa do Brasil
Pteria hirundo (Linné, 1758)

Relatório do Estágio Supervisionado II
do Curso de Engenharia de Aquicultura

Acadêmico: Artur Freitas Araújo
Orientador (a): Profa. Dra. Aimê Rachel Magalhães
Supervisor: Dr. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque
Instituição: NEPAQ e LMM
Departamento de Aquicultura CCA/UFSC

Florianópolis / SC

2011 . 2

Araújo, Artur Freitas

Avaliação de anestésicos para a ostra perlífera nativa
Pteria hirundo (Linné, 1758).

Relatório de Conclusão do Estágio Supervisionado II do Curso de
Engenharia de Aquicultura

Curso de Engenharia de Aquicultura

Centro de Ciências Agrárias

Universidade Federal de Santa Catarina

38 páginas

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que Ele me proporciona.

Aos meus pais, Vilmar e Zélia, pelo incentivo constante e valorização da busca pelo conhecimento.

A minha querida companheira, Soraya, pelo amor paciência e amizade acima de tudo.

A minha irmã Denise e minha sobrinha Beatriz, por compreender minha ausência em muitos momentos.

A professora Aimê Rachel pela oportunidade de trabalharmos juntos e pelo exemplo de dedicação e amor ao que faz.

Ao pessoal do Sambaqui, Itamar, Bruno, Marcelo e Marcos por me auxiliarem na execução dos experimentos.

Ao professor Claudio Melo pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Departamento da Graduação pelo competente trabalho que realiza e pelo auxílio aos alunos

A todos os amigos que contribuíram para realização deste trabalho.

Obrigado

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Produção (t) da pesca extrativa, e da aquicultura no Brasil, de 1950 a 2008.	09
Figura 2	Pterídeos brasileiros coletados na Praia da Ponta do Sambaqui – Florianópolis. A – <i>Pinctada imbricata</i> Roding, 1798; B – <i>Pteria hirundo</i> (Linné, 1758). Barra = 10 mm.	10
Figura 3	<i>Pinctada margaritifera</i> da região indo-pacífica.	11
Figura 4	Kokichi Mikimoto (1858-1954), pioneiro do cultivo de pérolas.	12
Figura 5	Pérolas naturais encontradas em <i>Pteria hirundo</i> .	13
Figura 6	Imagens fixadas na parte interna de bivalves.	13
Figura 7	Meia-pérola formada na camada interna da concha da ostra.	14
Figura 8	Distribuição das principais espécies da família Pteriidae.	16
Figura 9	Mapa dos locais de realização dos experimentos.	17
Figura 10	Retirada do material incrustante das ostras perlíferas.	18
Figura 11	Balança para pesagem dos anestésicos.	19
Figura 12	Pipeta para medição dos anestésicos.	19
Figura 13	Unidades experimentais usadas no primeiro experimento.	19
Figura 14	Ostras perlíferas anestesiadas e controle.	20
Figura 15	Unidades experimentais utilizadas no segundo experimento.	20
Figura 16	Análise de sobrevivência de <i>Pteria</i>	25
Figura 17	Paquímetro para Biometria das ostras perlíferas.	25
Figura 18	Vista externa da valva esquerda de <i>Pteria hirundo</i> .	25
Figura 19	Manejo das lanternas de <i>Pteria hirundo</i> .	26
Figura 20	Desdobre de ostras perlíferas <i>Pteria hirundo</i>	27
Figura 21	Separação densidade por andar de <i>Pteria hirundo</i>	27
Figura 22	<i>Pteria hirundo</i> exposta a anestésicos experimento 1 (Piloto).	28
Figura 23	Óleo de cravo, Bicarbonato de sódio e Mentol usados respectivamente, no experimento piloto.	29
Figura 24	<i>Pterias</i> relaxadas com anestésicos experimento 2 (Triplicata).	30
Figura 25	Desova de <i>Pteria</i> induzida por Bicarbonato de Sódio.	31

ÍNDICE DE TABELAS

		Página
Tabela I	Planilha de anotação para resultados dos experimentos.	21
Tabela II	Mapeamento da <i>Pteria</i> .	27
Tabela III	Resultados do relaxamento total das ostras no experimento 1	28
Tabela IV	Médias obtidas nas biometrias	29
Tabela V	Resultados do relaxamento total das ostras no experimento 2	30

RESUMO

No total 135 ostras perlíferas nativas do Brasil, da espécie *Pteria hirundo*, medindo de 4,0 a 6,0 centímetros de altura, provenientes do cultivo experimental de moluscos localizado em Sambaqui, foram utilizadas em experimentos com anestésicos e avaliadas quanto o seu relaxamento. Os experimentos ocorreram em 21°C de temperatura, foi comprovado que as ostras perlíferas são resistentes ao transporte e a exposição aos produtos utilizados nos experimentos. As *Pterias* foram mantidas 24 horas dentro do laboratório, não apresentando mortalidade, tanto as mantidas no controle quanto as anestesiadas. Foram avaliados 6 anestésicos em diferentes concentrações, 3 repetições cada, onde os seguintes parâmetros foram analisados: praticidade; tempo de indução; relaxamento total sem apresentar reação a estímulos externos; rápida recuperação; sobrevivência em 24 horas dentro de laboratório; sobrevivência após 7 dias transferidas para cultivo e a sobrevivência após 30 dias em campo. O experimento foi em triplicata, com delineamento experimental ao acaso, onde no total de 11 tratamentos foram analisadas 33 repetições. No final dos experimentos piloto e em triplicata observou-se resultados semelhantes entre 3 anestésicos utilizados: Propyleno Phenoxetol (1-phenoxy-2-propanol), MS-222 (tricaína metano sulfonato) e Benzocaína.

Palavras chaves: *Pteria hirundo*, avaliação, anestésicos, relaxamento.

SUMÁRIO

	Página
1. Introdução	08
2. Material e métodos	16
2.1. Material biológico	16
2.2. Locais e datas de execução dos experimentos	17
2.2.1 Manejo das lanternas de ostra em campo.....	17
2.2.2 Experimentos em laboratório com anestésicos	18
2.3. Preparação dos experimentos com anestésicos	18
2.4. Delineamento dos experimentos com anestésicos	19
2.4.1 Experimento 1 (Piloto)	19
2.4.2 Experimento 2 (Triplicata)	20
2.5. Anestésicos utilizados nos experimentos	21
2.6. Mapeamento e protocolo de manejo	25
2.7. Acompanhamento e recuperação	26
3. Resultados	28
3.1. Experimento 1 (piloto) com anestésicos.....	28
3.1.1. Sobrevivência e médias do experimento piloto	29
3.2. Experimento 2 (triplicata) com anestésicos	30
3.2.1. Sobrevivência e médias do experimento em triplicata	31
4. Discussão.....	32
5. Referências bibliográficas	34

1. INTRODUÇÃO

Devido à redução de diversos recursos marinhos naturais, ocasionada nas últimas décadas principalmente pela exploração intensiva, poluição ambiental, e dificuldade de manutenção da pesca artesanal como atividade econômica, muitas comunidades pesqueiras têm buscado outros meios para subsistência. Um dos meios encontrados é a prática da aquicultura, que trata da produção de organismos aquáticos.

A aquicultura é uma atividade interdisciplinar que envolve tanto as ciências biológicas, quanto as engenharias e as ciências socioambientais, que incluem, por exemplo, a ecologia humana, a análise ambiental e a economia ecológica (ARANA, 1999). A atividade começou a ganhar espaço no Brasil a partir da década de 70, quando teve início seu processo de consolidação no cenário alimentício (VALLE; PROENÇA, 2000).

O desenvolvimento da aquicultura no País tem sido importante para a economia de diversos Estados, principalmente para os da região sul, que produzem anualmente aproximadamente 56.635 toneladas de produtos aquícolas, o equivalente a 49% da produção aquícola nacional (OSTRENSKY; BORGHETTI; PEDINI, 2000).

Segundo dados da FAO (2010), de 1950 a 1985, observou-se um crescimento da pesca extrativa, ano em que foi registrada a maior produção: 956.684 t. Após este ano, houve queda gradativa, chegando em 1990 a 619.805 t e mantendo-se neste nível por quase 10 anos. A partir do ano 2000, a produção pesqueira voltou a crescer, passando de 666.846 t para 791.056 t em 2008 (Figura 1).

De acordo com os registros da FAO (2010), a produção aquícola brasileira teve início em 1968, quando foram reportadas menos de 0,5 toneladas de pescado produzido. Desde então, a aquicultura nacional tem mostrado crescimento gradual, atingindo o pico de produção em 2003, com 273.268 t. Após pequena queda nos anos de 2004 e 2005, a produção retomou o crescimento, registrando os maiores resultados em 2007 e 2008, com 289.050 t e 365.367 t, respectivamente (Figura 1).

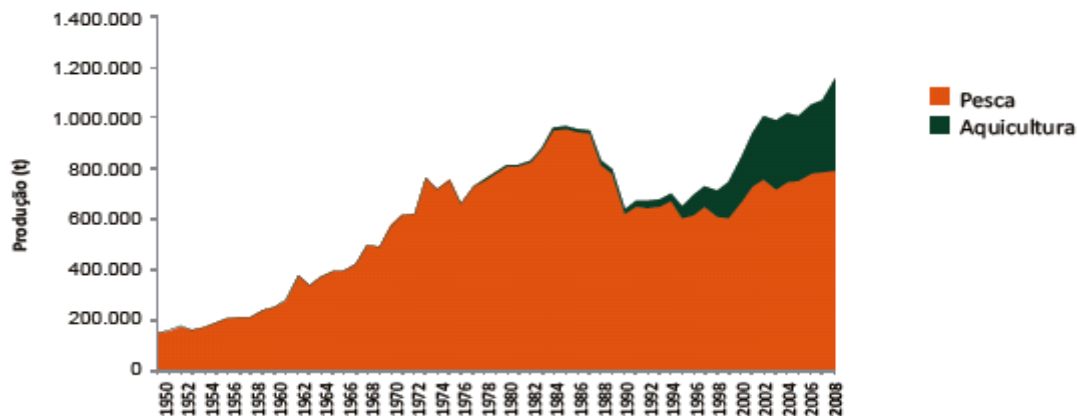


Fig. 1 – Produção (t) da pesca extrativa, e da aquicultura no Brasil, de 1950 a 2008. (FAO 2010).

Espera-se que a produção mundial oriunda da aquicultura continue a crescer por diversas razões, incluindo segurança de provisão de alimento para a crescente população mundial, aumento da demanda por frutos do mar frescos, demanda de joalherias por derivados de animais aquáticos, demanda da aquariofilia, por diversificação de indústrias primárias, reabilitação de áreas sobre exploradas e obtenção de benefícios econômicos vindos da aquicultura, como comércio e empregos. Novas iniciativas e desenvolvimento tecnológico ocorreram em todo o Mundo e estas aumentaram os resultados positivos em aquicultura nas últimas duas décadas (PRASAD, 2003).

Em Santa Catarina, o cultivo de moluscos transformou os pescadores artesanais em maricultores, favorecendo a permanência destes em seus locais de origem, como real opção de trabalho e renda. Além do aspecto econômico, atua como agente transformador social na comunidade, no orgulho de cultivar o mar e na valorização dos saberes regionais ligados a ele. É preciso dar prioridade à utilização de espécies nativas, incentivando estudos com as potencialmente cultiváveis em nosso litoral (FERREIRA, 1998).

Apesar da ampla diversidade de moluscos marinhos no Brasil (MAGALHÃES, 1995), o cultivo comercial limita-se à ostra *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) e ao mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758), sendo o estado de Santa Catarina o principal produtor (OSTRENSKY *et al.*, 2008). Atualmente, no Brasil, os moluscos são responsáveis por 4,8% da produção aquícola nacional. O mexilhão *Perna perna* (Linnaeus, 1758) representa 79,5% da produção total, seguido pelas ostras, com 20,5% (OSTRENSKY *et al.*, 2008).

Aparecem ainda tentativas de cultivo de ostras nativas, ou ostra do mangue, representadas pela *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828) (MACCACCHERO 2005) e *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819) (SILVEIRA *et al*, 2011). Em 2006, além da produção de mexilhões e ostras, Santa Catarina registrou pela primeira vez a produção comercial de vieiras *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758). Segundo Oliveira Neto (2007) as perspectivas de crescimento da pectinicultura são excelentes.

A ostra perlífera nativa *Pteria hirundo* (Linné, 1758) (Figura 2), tem sido estudada nos últimos 7 anos, como nova espécie para cultivo em Santa Catarina. A tecnologia é a mesma empregada para a ostra *Crassostrea gigas* e *Nodipecten nodosus*. No LMM, para a espécie *P. hirundo* as etapas de indução a desova, métodos de larvicultura, alimentação das larvas e assentamento em laboratório já foram testadas e estabelecidas.

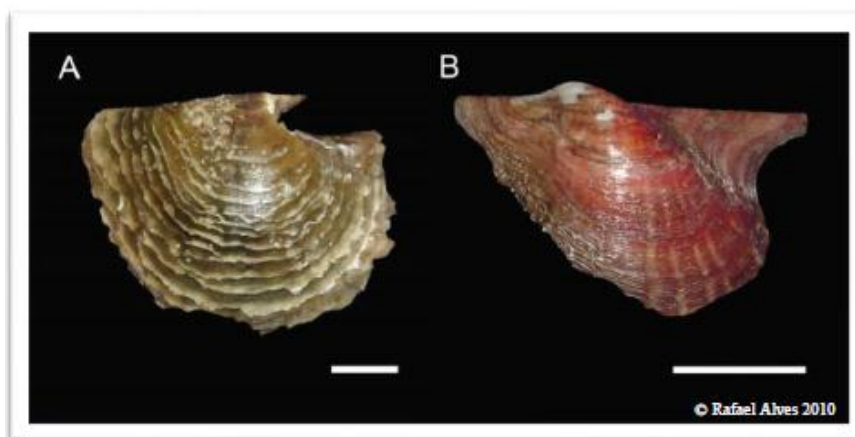


Fig. 2 – Pterídeos brasileiros coletados na Praia da Ponta do Sambaqui – Florianópolis.
A - *Pinctada imbricata* Roding 1798; B - *Pteria hirundo* (Linné, 1758). Barra = 10 mm.

Na família Pteriidae há diversas espécies extintas e está dividida em três gêneros recentes: *Pteria* Scopoli, 1777, *Pinctada* Roding 1798 e *Electroma* Stoliczka, 1871, esta última menos abundante. Segundo Alves (2010), os membros dessa família são distribuídos naturalmente nos dois hemisférios e principalmente na região intertropical. Os moluscos que estão impulsionando a indústria da produção de pérolas e madrepérolas são denominadas “ostras perlíferas” ou “ostras aladas” (HAWANG; OKUTANI, 2003, RIOS, 2009 apud ALVES, 2010).

Salvador *et al*, (2011) estudou a recuperação de sementes de *P. hirundo* em campo de cultivo após o processo de metamorfose ocorrido na larvicultura em laboratório. O autor demonstrou que essa ostra perlífera é uma espécie resistente às práticas de manejo. Albuquerque (2010) e Alves (2010) avaliaram *P. hirundo* quanto suas características de cultivo e aspectos biológicos, respectivamente. O ciclo reprodutivo também foi estudado por Alves (2010).

Diversas regiões do mundo pesquisam ostras perlíferas: *Pinctada albina* (Lamarck, 1819), *Pinctada margaritifera* (Linnaeus, 1758) (Figura 3), *Pinctada maxima* (Jameson, 1901) e *Pinctada maculata* (Gould, 1850), foram objeto de vários estudos na região Indo-Pacífica. *Pinctada fucata* (Gould, 1850), é cultivada no Japão para produção de pérolas. Na costa do pacífico do México há trabalhos com *Pteria sterna* (Gould, 1851) e *Pinctada mazatlantica* (Hanley, 1856). Na Venezuela, Colômbia e Austrália *Pinctada imbricata* demonstra grande potencial para cultivo (ALBUQUERQUE, 2010).



Fig. 3 – *Pinctada margaritifera* da região indo-pacífica para produção de pérolas (ALBUQUERQUE 2010).

Fazendas de pérolas requerem um trabalho intensivo e proporcionam empregos para os moradores próximos da fazenda. É uma indústria que causa pouco impacto ambiental e fomenta o suporte de indústrias já existentes, como a do turismo (SIMS, 2003). O cultivo de pérolas representa um potencial para o desenvolvimento econômico das comunidades costeiras através de uma gama de subprodutos valiosos. A indústria requer investimento de capital mínimo, proporcionando diversos benefícios para os proprietários, comunidades costeiras e economia nacional. As pérolas são uma mercadoria ideal para exportação. Não são perecíveis, os custos de transporte são insignificantes e os mercados lucrativos estão estabelecidos (ARJARASIRIKOON *et al.*, 2004).

O iniciador do cultivo de pérolas no Japão foi Kokichi Mikimoto (Figura 4), nascido em Toba, prefeitura de Mie. Em 1893, Mikimoto dissecou várias ostras de seus experimentos e ficou admirado ao encontrar uma pérola semi-esférica, em 5 unidades no total. Em 1919 o próprio Mikimoto conseguiu obter pérolas arredondadas, que seguiram para o mercado londrino nesse mesmo ano, vendidas a preço 25% menor ao das naturais. Não era possível distinguir uma pérola cultivada de outra natural. Os joalheiros lançaram um alarme, dizendo que as pérolas cultivadas eram falsas. Entretanto outros testes sobre gravidade específica, composição e dureza, concluíram que eram reais (NOMURA, 1978).



Fig. 4 – Kokichi Mikimoto (1858-1954), pioneiro do cultivo de pérolas no mundo (KOKICHI 2010).

A pérola é uma concreção densa e brilhante, uma gema biológica formada dentro de certos moluscos. Consiste de uma pequena partícula rodeada por camadas concêntricas de nácar, composta por conchiolina ($C_{32}H_{48}N_9O_{11}$), carbonato de cálcio na forma de aragonita ($CaCO_3$) e água (MANUTCHEHR DANAI, 2009 apud ALVES, 2010). Segundo Nomura (1978), existem dois tipos de pérolas: a ampolada, também chamada meia-pérola, que é uma protrusão da superfície interna da concha da ostra (Figura 5-B) e a encistada, formada ao redor do núcleo, dentro do corpo do molusco (Figura 5-A).

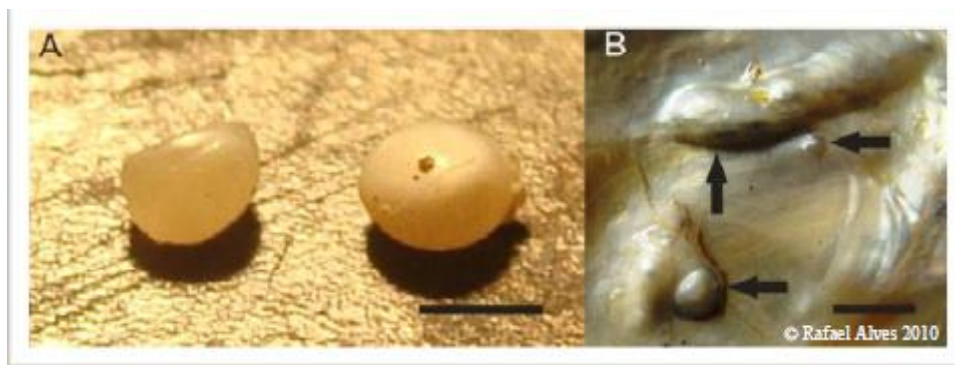


Fig. 5 – Pérolas naturais encontradas em *Pteria hirundo* originárias da Praia da Ponta do Sambaqui / Florianópolis / Brasil. A – Pérolas esferoides encontradas no manto. Barra = 1 mm; B – Meia-pérola formada por poliqueta (setas). Barra = 5mm.

A pérola é secretada pelo manto das ostras perlíferas como resposta a irritações causadas por agentes externos como grãos de areia ou outros detritos. Da mesma maneira que a pérola é encontrada em ostras no ambiente natural, ela também pode ser cultivada ALVES (2010). Os chineses do século XIII já fixavam pequenas imagens de Buda (Figura 6) na parte interna de conchas de bivalves de água doce para que o molusco a recobrisse com nácar, surgindo assim uma pérola “estimulada” pelo ser humano.

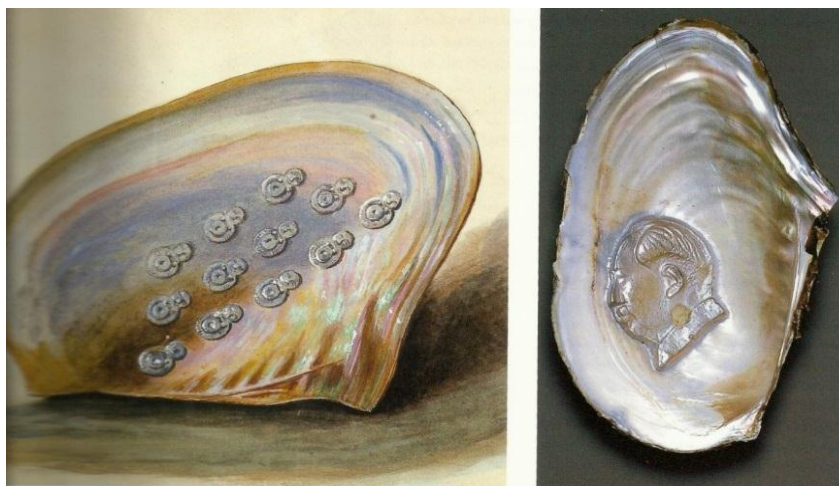


Fig. 6 – Imagens fixadas na parte interna da concha de bivalves recobertas com nácar (ALBUQUERQUE 2010).

A técnica básica para formação de pérolas esféricas ou verdadeiras consiste basicamente em incluir um corpo estranho na ostra, condicionando-a a enfraquecer, com relaxantes, para uma operação prévia. A ostra é forçada a abrir e uma incisão é feita na gônada. Um pequeno pedaço de manto vindo de outra ostra com um núcleo de concha é inserido na incisão. Da mesma forma, para produção de meia-pérola (Figura 7), a ostra é induzida a relaxar para que seja implantado o núcleo, porém abaixo da borda do manto e assim ser recoberto pelo nácar.



Fig. 7 – Meia-pérola formada na camada interna da concha de ostra perlífera (ALBUQUERQUE 2010).

O uso de anestésicos na aquicultura é importante para reduzir o estresse e a mortalidade, principalmente de peixes, durante o manejo (FAÇANHA E GOMES, 2005). Geralmente estes produtos são usados para atividades de biometrias, transporte, extrusão de gametas ou marcações (MARŠIĆ-LUČIĆ *et al.*, 2005). A anestesia é administrada geralmente de duas formas: por inalação ou via injetável. Para se escolher um anestésico, devem-se levar em conta alguns critérios: eficácia, custo, disponibilidade no mercado, segurança durante o uso e efeitos colaterais nos organismos aquáticos, humanos e meio ambiente (MARKING E MEYER, 1985).

Não há distinção entre o termo “anestesiado” e “paralisia” do músculo relaxado em ostras perlíferas. O termo “relaxado” poderá ser usado no lugar de “anestesiado” quando não há resposta a estímulo externo e o termo “relaxante” no lugar de “anestésico”, para cada produto químico utilizado para induzir este estado (GERVIS e SIMS, 1992; MONTEFORTE *et al.*, 1996; TAYLOR, ROSE e SOUTHGATE, 1998, apud ALBUQUERQUE 2011). Após a etapa do relaxamento as ostras são preparadas para implante de núcleos para a formação de pérolas.

Norton *et al.* (1996) citaram que os melhores relaxantes para uso comercial para ostras perlíferas devem ter as seguintes características: rápida indução (menos que 15 min); causar relaxamento total por 10 min ou mais; rápida recuperação (menos de 30 min.); 100% de recuperação e 100% de sobrevivência após 7 dias; uso simples e não tóxico para o operador humano. O relaxante estudado por esses autores foi o propylene phenoxetol, concentração de 2 a 3 ml/L para *Pinctada albina* e *Pinctada margaritifera*.

No entanto o método usual de produção de cultivo de pérola redonda é ineficiente. Para cada 100 ostras operadas aproximadamente 1/3 deverão morrer, 1/3 deverá rejeitar a conta de concha (núcleo) e o restante irá produzir uma pérola com qualidade inferior. Somente cerca de 5% deverão ser gemas com valor comercial (CABRAL, 1990; SCOONES, 1990). Wada (1991) também expressou opinião sobre a alta mortalidade resultante da operação para produção de pérolas redondas e a sobre produção de pérolas de baixa qualidade. A opinião geral de especialistas japoneses é de que a produção de pérola redonda em ostras do gênero *Pteria* é tecnicamente difícil (NAVA *et al*, 2000). Shirai (1981) menciona também que a maioria das ostras do gênero *Pteria* são pequenas.

No presente trabalho as técnicas de relaxamento envolvidas, servirão para testes de produção de meia pérola ou “blister”, ou ainda “mabé”, que não é uma pérola propriamente dita. Algumas vezes grãos de areia ou fragmentos de conchas se alojam entre o manto e a concha e são recobertos por camadas sucessivas de nácar formando a protuberância (TAYLOR, STRACK, 2008).

O objetivo deste trabalho foi avaliar 6 anestésicos comumente utilizados na aquicultura, em 2 concentrações (alta e baixa) em ostras perlíferas, para obter informações básicas do efeito desses produtos.

A avaliação quanto à praticidade e tempo de indução; relaxamento total sem apresentar reação a estímulos externos; rápida recuperação; sobrevivência em 24 horas dentro de laboratório; sobrevivência após 7 dias transferidas para cultivo; sobrevivência após um mês em campo; uso simples e não tóxico para o operador humano, foram analisados.

2. MATERIAL E METODOS

2.1. Material biológico

A classificação da *Pteria hirundo*, segundo ABOTT (1974) e RIOS (2009) é:

Filo: Mollusca

Classe: Bivalvia

Subclasse: Pteriomorpha (Beurlen, 1947)

Ordem: Pterioida (Newell, 1965)

Família: Pteriidae (Gray, 1847)

Gênero: *Pteria* (Scopoli, 1777)

Espécie: *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758)

Pteria hirundo ocorre nos E.U.A da Carolina do Norte até a Flórida, Texas, Oeste da Índia até o Brasil e Ilhas Bermudas (Fig. 8). No ambiente é encontrada pelo bisso em gorgônias (corais) ou em bancos de conchas com profundidade de 20 a 150 metros (RIOS, 2009). O sabor excelente da carne dessa “ostra perlífera” e o crescimento rápido para o tamanho de mercado são atributos positivos para a indústria de aquicultura. Um fator adicional é a possibilidade de utilização das ostras como organismo para produção de pérolas e semi-pérolas, como é feito em vários países (ALBUQUERQUE, 2010).

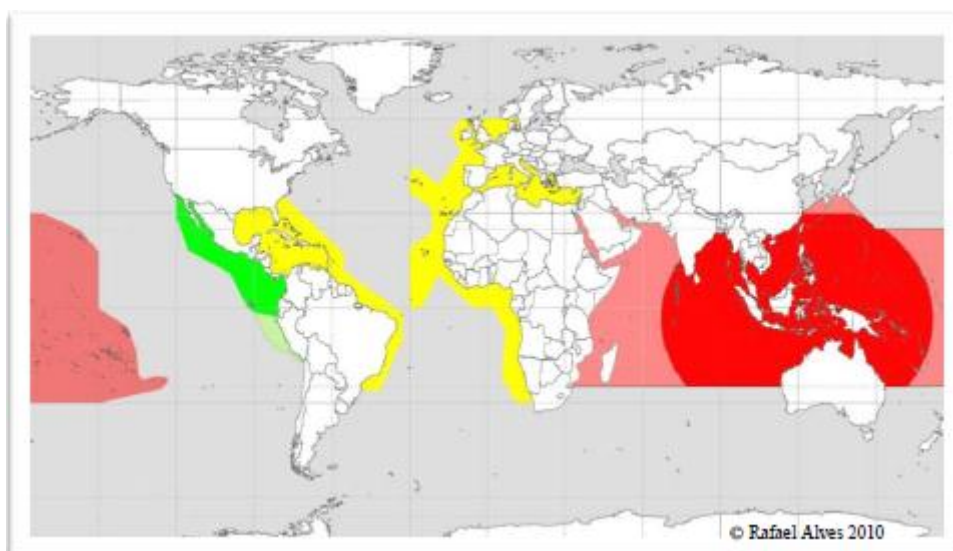


Fig. 8 – Distribuição das principais espécies da família Pteriidae. Vermelho (claro e escuro): *Pinctada margaritifera* e *Pteria penguin*. *Pinctada maxima*, somente no vermelho escuro. Verde claro e escuro: *Pteria sterna*, *Pinctada mazatlantica*, somente no verde escuro. Amarelo: complexo *Pteria hirundo*/*Pteria colymbus*.

2.2. Locais e datas dos experimentos

Durante o ano de 2011 foram efetuadas diversas atividades no Laboratório de Moluscos Marinhos – LMM (Figura 9-1), vinculado ao Departamento de Aquicultura/CCA/UFSC, situado na Praia da Ponta do Sambaqui ($27^{\circ}29'18''\text{N}$ e $48^{\circ}32'12''\text{L}$), Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. No local de cultivo a salinidade varia pouco, com média de $33,8 \pm 0,8$ ‰ ao longo do ano, porém a temperatura sofre uma maior variação, com média mínima e máxima de $16,8 \pm 0,8^{\circ}\text{C}$ e $25,4 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, respectivamente no mesmo período (ALBUQUERQUE, 2010).

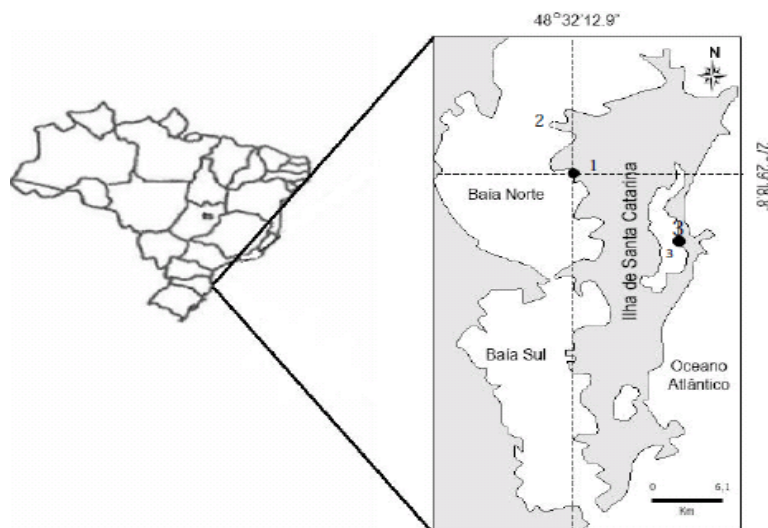


Fig. 9 – Mapa de localização das baías Norte e Sul da Ilha de Santa Catarina, onde se encontra o LMM – UFSC na Praia da Ponta do Sambaqui (2) e localização do LMM-UFSC (1) local de realização dos experimentos com anestésicos.

2.2.1 Manejo das lanternas de ostras em campo

No período de março a julho de 2011, as lanternas de *P. hirundo* foram repicadas em densidades menores, onde de um total de 13 lanternas, foram criadas 39 lanternas. De julho a outubro, foi feito manejo para selecionar as ostras perlíferas em tamanhos grandes (acima de 5 cm) e médios (entre 2,5 e 5 cm). As pequenas *Pterias* (menores de 2,5 cm) foram destinadas ao consumo. Visto que as famílias de ostras perlíferas encontradas nas lanternas já ultrapassavam a idade de um ano e meio, o descarte das menores foi proposto devido ao pouco crescimento adquirido neste intervalo de tempo, selecionando as de melhor desenvolvimento no período.

2.2.2 Experimentos em laboratório com anestésicos

Nos dias 22/09 e 29/09 foram feitos, respectivamente, 2 experimentos com anestésicos. O local para os testes foi o LMM-UFSC (Figura 9-3), vinculado ao Departamento de Aquicultura/ CCA/ UFSC, situado na Barra da Lagoa, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Foram avaliados segundo a praticidade e tempo de indução; relaxamento total das ostras sem apresentar reação a estímulos externos; rápida recuperação; sobrevivência em 24 horas.

As perlíferas foram transferidas do cultivo experimental no LMM em Sambaqui em bacias com guardanapos úmidos, um dia antes de cada experimento. Foi observada a sobrevivência das ostras perlíferas após 7 dias e um mês dos testes realizados.

2.3. Preparação dos experimentos com anestésicos

Antes de cada experimento ser realizado, as perlíferas eram submetidas à “raspagem”, limpas para retirada do material incrustante que havia na parte externa de suas conchas (Figura 10). Foram utilizados cutelos e escovas no manejo, além de dois baldes com 10L de água do mar, onde as ostras estavam imersas.



Fig. 10 – Retirada de material incrustante das ostras perlíferas

A próxima etapa foi pesar os anestésicos que se encontravam em pó e em cristal, com uma balança digital (Figura 11). Uma pipeta (Figura 12) foi utilizada para medição dos anestésicos líquidos.



Fig. 11 – Balança para pesagem dos anestésicos



Fig. 12 – Pipeta para medição dos anestésicos .

2.4. Delineamento dos experimentos com anestésicos

2.4.1 Experimento 1 (Piloto)

No primeiro experimento, dia 22/09, foram utilizados 12 tratamentos, em que cada anestésico foi avaliado em sua concentração baixa e alta NORTON *et al.* (1996). Foram 6 anestésicos testados que serão apresentados no item 2.5. Baldes com capacidade de 5L, porém com 3L de água cada, foram usados como unidades experimentais (Figura 13). Neste experimento, considerado piloto, não houve repetição dos tratamentos, a intenção foi observar a reação das ostras aos produtos no geral, para decidir sobre o planejamento experimental para o espaço cedido pelo LMM.



Fig. 13 – Unidades experimentais usadas no primeiro experimento de avaliação a anestésicos.

Entre o tempo de uma hora as ostras perliíferas foram induzidas a toques com bastão, de 15 em 15 minutos, sendo coletados dados relacionados ao relaxamento ou não dos indivíduos de cada tratamento. Ao final do experimento, após uma hora, as *Pteria* testadas com anestésicos foram transferidas, junto com as do controle, para uma caixa d'água de 500L (Figura 14), com aeradores, na sala de quarentena do LMM. Foi avaliado sobrevivência após 24 horas.



Fig. 14 – Ostras perliíferas anestesiadas e controle.

2.4.2 Experimento 2 (Triplicata)

Uma semana depois, ainda na sala de quarentena do LMM-UFSC, dia 29/09, ocorreu o segundo experimento com anestésicos (Figura 15). Os seis anestésicos foram analisados em triplicatas, esperando-se um total de 12 tratamentos, com três ostras em cada repetição, um total de 108 ostras.



Fig. 15 – Unidades experimentais utilizadas no segundo experimento de avaliação de anestésicos.

Propylene Phenoxetol (1-Phenoxy-2-propanol)

Assim como outros produtos químicos utilizados comercialmente na indústria perlífera, para o Propylene phenoxetol também devem ser tomadas precauções. Estas incluem o uso de produtos químicos em uma área bem ventilada e não permitindo contato com a solução concentrada. P.P. também é fácil de administrar e não requer nenhum buffer ou produtos químicos adicionais para torna-la efetiva (NORTON *et. al.* 1996). Custa R\$ 238,00 o litro e pode ser adquirido pela internet.

MS-222 (tricaína metano sulfonato)

Segundo ROUBACH e GOMES (2001) é um dos únicos anestésicos liberados para o uso em pescados destinados ao consumo humano nos Estados Unidos da América/EUA pelo FDA (Food and Drug Administration – Agência norte-americana reguladora de drogas e alimentos). É o anestésico para peixe mais difundido em todo mundo. Comercialmente também é vendido com o nome fantasia de Finquel comercializada pela Argent nos EUA. É extremamente solúvel em água, porém ácido, abaixando consideravelmente o pH da água. Devido a essa acidificação, muitos efeitos fisiológicos indesejáveis ocorrem nos organismos aquáticos.

A indução à anestesia é rápida e ocorre em tempo razoável (1-5 minutos), sendo a recuperação também rápida (3-5 minutos), quando usado na dose correta. Dosagem duas vezes maior que a ideal pode provocar a mortalidade. É um anestésico importado e de alto custo. Pode ser obtido diretamente das empresas através da Internet. Embalagem de 100 gramas custa US\$ 75,00, mais transporte e impostos. O custo total pode chegar perto de US\$ 160,00 (ROUBACH e GOMES, 2001).

Benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato)

É o anestésico mais utilizado no Brasil (GOMES *et al.*, 2001), que atende a maioria dos critérios estabelecidos por ROSS e ROOS (1999) de um anestésico ideal para peixes, principalmente por ser fácil de obter, barato e seguro para o usuário. É quimicamente similar ao MS-222, porém é uma solução neutra.

Anestesia frequente com benzocaína não causa diminuição no crescimento e nem problemas na reprodução das espécies já testadas. Mortalidades ocorrem apenas quando os peixes são expostos a uma dose três vezes maior que a ideal.

Como a benzocaína e MS-222 são derivados do ácido p-amino benzoico, causam redução da ventilação das brânquias devido à depressão dos centros medulares respiratórios, tendo a hipóxia como consequência. A hipóxia é intensificada pela braquicardia e depressão do decréscimo do fluxo sanguíneo entre as brânquias (TYTLER & HAWKINS, 1981).

A benzocaína pode ser removida com a filtração da solução com carvão ativado, uma vantagem no ponto de vista ecológico, pois não deixa resíduo na natureza. Pode ser facilmente obtida em empresas especializadas em produtos para aquicultura e em farmácias de manipulação. Em Manaus, AM 100 gramas de Benzocaína custa em torno de R\$ 20,00.

Óleo de Cravo (Eugenol)

O eugenol é um produto natural derivado do óleo de cravo (ISAACS, 1983) que apresenta as mesmas vantagens da benzocaína citadas acima (KEENE *et al.*, 1998), além de ser rapidamente metabolizada e excretada, não necessitando de tempo de depuração (WAGNER *et al.*, 2002). O óleo de cravo é derivado da haste, das folhas e dos brotos da árvore *Eugenia caryophyllata*, sendo utilizado em todo o mundo em aplicações que vão desde tempero até anestesia (ANDERSON *et al.*, 1997).

Os estudos sobre a utilização do eugenol como anestésico em aquicultura surgiram da necessidade de se encontrar novas substâncias eficazes, seguras e de baixo custo, podendo ser utilizado na água de imersão dos peixes (ROUBACH *et al.*, 2005). O eugenol é seguro para os animais, para o manipulador e para o meio ambiente (IVERSEN, 2003). As concentrações de eugenol necessárias para a indução anestésica e a tolerância às dosagens em decorrência do tempo variam conforme a espécie (KEENE *et al.*, 1998).

Mentol

O mentol, segundo Matos (2000), é extraído de óleos essenciais da planta menta (*Mentha arvensis* L.), conhecida também como hortelã, planta medicinal e aromática com varias aplicações industriais, entre elas, propriedades anti-inflamatória (LORENZO *et. al.* 2002). Possui fácil acesso de aquisição, podendo ser encontrado em farmácias de manipulação, no mercado local a baixo custo, além de possuir fácil utilização e conforto ao aplicador (FAÇANHA e GOMES, 2005).

Existe pouca informação sobre o uso de mentol como anestésico, mesmo em livros dedicados exclusivamente à anestesia de animais aquáticos. Uma avaliação mais precisa sobre esse anestésico dever ser realizada. O mentol pode ser facilmente encontrado em farmácias de manipulação. Em Manaus/AM 100 gramas custam R\$ 50,00 (ROUBACH e GOMES, 2001).

Bicarbonato de sódio ou hidrogeno carbonato de sódio

É composto de fórmula NaHCO_3 . É um sólido cristalino de cor branca, solúvel em água, com um sabor ligeiramente alcalino. Usa-se como antiácido, para tratar a acidez do estômago, por ter o poder de neutralizar os excessos do ácido clorídrico do suco gástrico. Em algumas formulações farmacêuticas, é misturado aos ácidos cítrico e tartárico, ambos sólidos.

Devido à capacidade do bicarbonato de sódio libertar dióxido de carbono gasoso (CO_2), também é muito usado nas receitas de culinária como agente levedante ("fermentos químicos"), para ser utilizado no crescimento das massas de pães, bolos e biscoitos durante o cozimento no forno, em especial quando misturado ao ácido tartárico e na produção de bebidas gasosas (refrigerantes).

Outras utilizações do bicarbonato de sódio são como reagente de laboratório, na eletrodeposição de ouro e platina, em curtumes, no tratamento da lã e da seda, na nutrição de animais, na cerâmica, para a preservação da manteiga e da madeira e é um dos componentes dos talcos e desodorantes. A forma anidra do composto usa-se para absorver umidade e odores.

2.6. Acompanhamento e recuperação

Dando continuidade na proposta oferecida, foi feito o acompanhamento das perlíferas para análise de sobrevivência: 24 horas após indução aos anestésicos, depois de 7 dias e no final de 30 dias. As ostras foram divididas em sacos de frutas furados, ficando cada triplicata de uma concentração em um saco de frutas, onde os tratamentos eram divididos por nós e etiquetados (Figura 16). Para biometria foram retiradas as médias de espessura e altura das perlíferas (Figura 17), de acordo com o desenho (Figura 18).



Fig. 16 – Análise de sobrevivência de *Pteria*.
Acondicionadas em sacos de frutas.



Fig. 17 – Paquímetro para Biometria das ostras perlíferas.

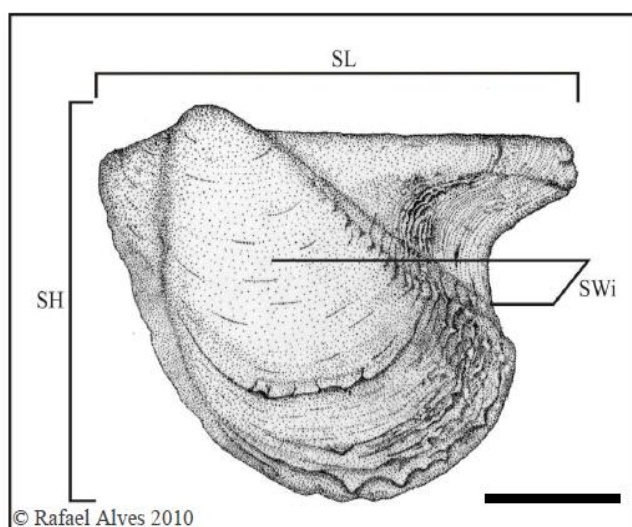


Fig. 18 – Vista externa da valva esquerda de *Pteria hirundo* com destaque para as áreas mensuradas na biometria. SH – Altura; SL – Largura e SWi – Espessura. Barra = 10 mm.

2.7. Mapeamento e protocolo de manejo das lanternas de *Pteria hirundo* em campo.

A cada manejo 6 lanternas de *Pteria* eram retiradas das estruturas de cultivo em água e levadas para terra onde eram feitas as seleções de indivíduos por tamanho e colocados nas lanternas (Figura 19). Em um ano de manejo, não se tem observado mortalidades significativas das ostras perliíferas, apresentando fácil adaptação às práticas envolvidas e aceitação ao ambiente onde foram acondicionadas.



Fig. 19 – Manejo das lanternas de *Pteria hirundo* na Praia da Ponta do Sambaqui.

Devido à fragilidade que o animal apresenta fora do ambiente marinho, baldes de 50L e caixas da água de 150L com água do mar, serviam de abrigo e para diminuição do estresse durante o manejo nas ostras perliíferas. Apesar de ser um organismo mais sensível que outros bivalves é considerada uma ostra simples de ser manejada, não se usa jatos d' água para sua limpeza, sua parte externa da concha não sofre com grandes incrustações, sendo dispensada a necessidade de cutelos para os procedimentos de operação.

Durante as atividades os indivíduos eram destacados para separar os agregados de ostras unidas pelo bisso dentro das estruturas de cultivo (Figura 20). No mesmo instante as ostras eram separadas por tamanhos, onde maiores de 4,5 cm de altura eram consideradas grandes e colocadas na densidade de 40 unidades por andar de cada lanterna (Figura 21).

Fig. 20 – Desdobre de ostras perlíferas *Pteria hirundo*Fig. 21 – Separação densidade por andar de *Pteria hirundo*

Este último manejo em densidades definidas, estava relacionado ao final do mapeamento do espínhel de *Pteria*. A intenção foi de que sempre ao sair 6 lanternas de ostras, 5 retornavam para o cultivo, atingindo no final do mapeamento uma quantidade de 20 lanternas (Tabela II) que estarão servindo de banco de reprodutores para experimentos futuros com ostra perlífera.

Tabela II – Mapeamento por tamanho

Bombona	Etiqueta	Tamanho
B1	105802	G
B2	709389	G
B3	709274	G
B4	709427	G
B5	709229	G
B6	105923	G
B7	709307	G
B8	709194	G
B9	709441	G
B10	709007	G
B11	105518	G
B12	709385	G
B13	709003	G
B14	709213	G
B15	709343	G
B16	709301	M
B17	105591	M
B18	709203	M
B19	105513	M
B20	709416	M

3. RESULTADOS

3.1. Experimento 1 (Piloto)

Durante o experimento piloto, sempre que a ostra mostrava-se relaxada, com as valvas abertas, toques com o bastonete eram feitos na borda do manto para avaliação do relaxamento total ou contração. Após uma hora foi analisado o resultado final de *Pteria* em relaxamento total (Tabela III), sem reação a estímulos externos. Nesta ocasião não houve repetições dos tratamentos; cada concentração de cada produto foi avaliada uma vez.

Tabela III – Resultados do relaxamento total por unidade de ostra no experimento 1 (Piloto).

Dia 29/09/11		Propylene Phenoxetol		Ms-222 tric.met. sulfato		Benzocaína		Bicarbonato de Sódio		Mentol em cristais		Eugenol	
Tratamentos	Tempo	2,5 mL/L	5 mL/L	0,5 g/L	1,0 g/L	1,0 mL/L	1,2 mL/L	1,0 g/L	3,0 g/L	0,25 g/L	1 g/L	0,5 mL/L	1,5 mL/L
Trat. 1	60 min	2	3	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0

O propylene phenoxetol (PP), MS-222 e benzocaína apresentaram resultados positivos quanto ao relaxamento total esperado no experimento piloto (Figura 22). PP nas duas concentrações analisadas induziu as perliíferas à desova após o tempo de 15 minutos. Para que fossem coletados dados estatísticos, foi esquematizada uma nova avaliação onde cada concentração de cada produto fosse avaliada em três repetições semelhantes.



Fig. 22 – *Pteria hirundo* exposta a anestésicos, Propylene phenoxetol, MS-222 e Benzocaína, respectivamente, da esquerda para direita. Experimento 1 (Piloto).

Pensando no estresse passado desde o transporte, raspagem da incrustação e visto o desempenho negativo para relaxamento das ostras com óleo de cravo, bicarbonato de sódio e mentol (Figura 23), decidiu-se que no segundo experimento as *Pterias* seriam expostas a toques apenas em horários definidos, onde a coleta de dados sobre o relaxamento seria feita no mesmo instante. Este procedimento foi determinado para coletar dados passíveis de análise estatística.

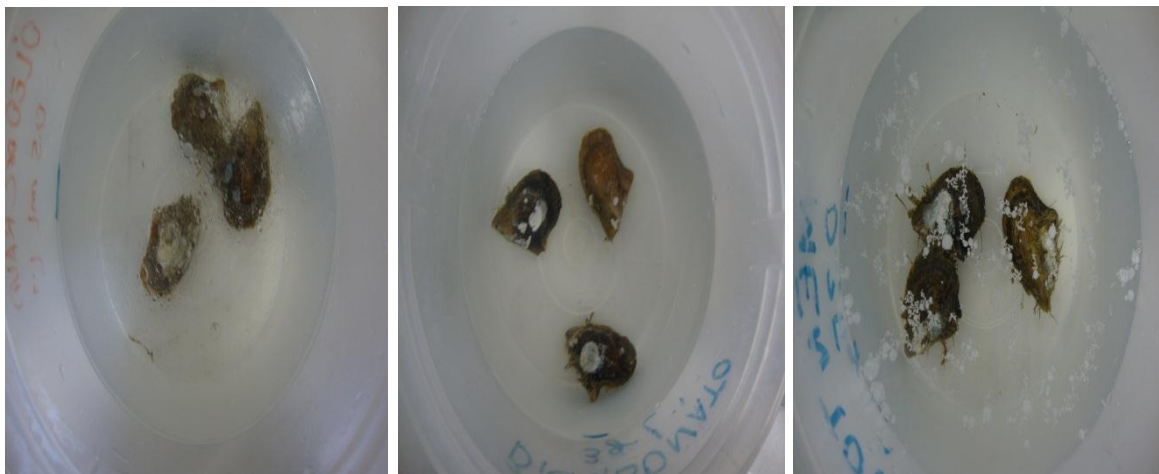


Fig. 23 - Óleo de cravo, bicarbonato de sódio e mentol usados respectivamente da esquerda para direita, no experimento piloto.

3.1.1. Sobrevivência e médias do experimento 1 (Piloto)

As *Pterias* desse ensaio estavam com aproximadamente 2 anos de vida. Foram constatados 100% de sobrevivência nas primeiras 24 horas de recuperação no laboratório.

As médias encontradas na biometria para altura e espessura (Tabela IV), foram de 5,8 e 3,8 cm, respectivamente.

Após 7 dias a sobrevivência de 18 ostras analisadas foi de 85%, com 3 mortas. As ostras que estavam no tratamento controle apresentaram 80% de sobrevivência, com total de 32 perlíferas; 7 foram encontradas mortas.

No final de 30 dias, apenas mais uma ostra estava morta, enquanto no controle, 100% de sobrevivência.

Tabela IV – Médias obtidas nas biometrias

Experimento 1		Experimento 2	
Altura	Espessura	Altura	Espessura
Medias		Medias	
5,838889	3,816667	4,787879	2,5

3.2. Experimento 2 (Triplicata)

As ostras estavam com aproximadamente 1 ano de vida e foram avaliadas quanto ao seu relaxamento total dentro do período de uma hora. Precisamente nos intervalos de 15 em 15 minutos (Tabela V), eram estimuladas com o bastonete na borda do manto, para visualização de contração ou não das valvas.

Tabela –V Resultados do relaxamento total por unidade de ostras perliíferas no experimento 2 (Triplicata).

Dia 29/09/11		Propylene Phenoxetol		Ms-222 tric.met. sulfato		Bezocaína		Bicarbonato de Sódio		Mentol em cristais		Eugenol	
Tratamentos	Tempo	2,5 mL/L	5 mL/L	0,5 g/L	1,0 g/L	1,0 mL/L	1,2 mL/L	1,0 g/L	3,0 g/L	0,25 g/L	1 g/L	0,5 mL/L	1,5 mL/L
Trat. 1	15 min	2	1	3	X	2	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 2		2	2	2	X	2	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 3		2	2	0	X	1	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 1	30 min	2	2	3	X	2	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 2		2	3	2	X	2	2	0	0	0	0	0	0
Trat. 3		3	2	0	X	1	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 1	45 min	2	2	3	X	2	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 2		2	3	2	X	2	3	0	0	0	0	0	0
Trat. 3		3	2	1	X	1	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 1	60 min	2	2	3	X	2	1	0	0	0	0	0	0
Trat. 2		2	3	2	X	3	3	0	0	0	0	0	0
Trat. 3		3	2	1	X	2	1	0	0	0	0	0	0

Propyleno phenoxetol, MS-222 e benzocaína (Figura 24), apresentaram resultados de relaxamento total da *Pteria hirundo*, no final de 15 minutos. As análises feitas com auxílio do Programa Estatístico SAS 2003, para o teste T não paramétrico, não apresentaram diferença significativa. Não houve diferença relacionada entre as concentrações testadas e os intervalos de tempos avaliados.



Fig. 24 – *Pterias* relaxadas com anestésicos Propylene Phenoxetol, MS-222 e benzocaína no experimento 2.

Para bicarbonato de sódio, mentol e óleo de cravo em concentrações de 1,0 e 3,0 g/L; 0,25 e 1,0 g/L; 0,5 e 1,5 mL/L, respectivamente, as ostras não apresentaram respostas de relaxamento total durante todo o tempo do experimento. Nesta etapa bicarbonato de sódio na concentração de 3,0 g/L (Figura 25), induziu a desova da *Pteria*.



Fig. 25 – Desova de *Pteria* induzida por bicarbonato de sódio, água turva, esbranquiçada.

3.2.1. Sobrevivência e médias no experimento 2 (Triplicata)

Foram constatados 100% de sobrevivência nas primeiras 24 horas de recuperação no laboratório.

As médias encontradas na biometria para altura e espessura, foram de 4,8 e 2,5 cm, respectivamente (Tabela IV).

Após 7 dias a sobrevivência de 99 ostras analisadas foi de 95%, apresentando 3 mortas. As ostras que estavam no controle apresentaram 100% de sobrevivência, no total de 62 ostras perlíferas.

No final de 30 dias, mais três ostras estavam mortas, tanto nas anestesiadas quanto as do controle.

4. DISCUSSÃO

Existem diversos produtos químicos testados, com o potencial de ser relaxante útil para as ostras que produzem pérolas. Aqueles que parecem mais promissores incluem propileno phenoxetol (1-Phenoxy-2-propanol), 2-fenoxietanol, mentol, cristais de mentol, óleo de cravo e benzocaína (NORTON *et al.* 1996)

NORTON *et al.* (1996), testaram propileno phenoxetol em concentrações de 2,0 a 3,0 ml/L em *Pinctada albina* e *Pinctada margaritifera* e apresentou resultados positivos, preenchendo os critérios originais de um relaxante para ostras pérola. Estes incluem indução rápida (menos de 15 min), o relaxamento completo por 10 minutos ou mais, a recuperação rápida (menos de 30 min), recuperação de 100%, 100% de sobrevivência após 7 dias, simplicidade no uso e por não provocar toxicidade para o operador humano.

Segundo OSTRENSKY *et al.* (2000) e GOMES *et al.* (2001) quanto menor o tempo de exposição de organismos aquáticos aos anestésicos, menor a temperatura da água, mais rápida é a recuperação.

Para *Pteria hirundo* Propileno phenoxetol (1-Phenoxy-2-propanol), MS-222 (triclaína metano sulfonato) e benzocaína foram eficientes nas 2 concentrações propostas (baixa e alta). Desta forma, experimentos futuros devem ser realizados, avaliando com concentrações ainda menores.

A falta de relaxamento com óleo de cravo, mentol e bicarbonato de sódio tornam esses produtos químicos sem atrativos. O mentol ainda apresentou odor muito forte em ambiente fechado, dores de cabeça e mal-estar foram causados nos operadores dos experimentos. Devido à desova das ostras induzidas pelo bicarbonato de sódio, outros testes devem ser feitos com esse produto para o esse fim.

A abertura das valvas de algumas ostras não é uma preocupação, pois se as ostras estão totalmente relaxadas, as valvas podem ser forçadas a abrir sem danos para o músculo adutor.

Existe uma variação considerável entre as espécies de moluscos e suas respostas a relaxantes (RUNHAM *et al.*, 1965;. KAPLAN, 1969;. HEASMAN *et al.*, 1995). Assim, o sucesso do uso de um relaxante para uma espécie diferente da

Pteria, apenas pode ser usado como guia para potencial uso nesse grupo de ostras perlíferas. A falta de uma associação entre o tamanho e os tratamentos utilizados, sugere que os anestésicos podem ser usados indiferentemente o tamanho da ostra. Propyleno phenoxetol em concentração de 2,5 mL/L, MS-222 em 0,5 g/L e benzocaína em 1,0 mL/L, preenche os critérios originais de um relaxante para ostras produtoras de pérolas.

No entanto, para serem usados comercialmente, os anestésicos devem apresentar mais dados sobre o efeito das concentrações em ostras perlíferas, duração da exposição e da mudança de temperatura.

Em conclusão, propyleno phenoxetol, MS-222 e benzocaína, apresentaram-se relaxantes úteis para *Pteria hirundo*. Quando usados em 2,5ml e 5,0 ml/L; 0,5 e 1,0 g/L e 1,0 e 1,2 ml/L, respectivamente, em 21°C, com tempo de exposição menor de 30 min. Estatisticamente não houve diferença significativa entre a eficiência destes anestésicos citados acima.

Deve-se fomentar a continuidade dos estudos já realizados com espécies de ostras perlíferas, adaptar e testar técnicas já desenvolvidas para a produção de pérolas e meia pérolas, assim como promover o consumo da ostra perlífera devido à sua saborosa carne.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, R.T. American Seashells, New York, van Nostrand Reinhold Co. 2° ed. 663p. 1974.
- ALBUQUERQUE, M.C.P. de. Novas opções de cultivo de moluscos bivalves marinhos no Brasil: *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758) e *Cyrtopleura costata* (Linnaeus, 1758). 218 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2010.
- ARJARASIRIKOON, U., KRUATRACHUE, M., SRETARUGSA, P., CHITRAMVONG, Y., JANTATAEME, S., UPATHAM, E.S. Gametogenic process in the pearl oyster, *Pteria penguin* (Roding, 1798) (Bivalvia, Mollusca). *Journal of Shellfish Research*, v. 23(2), p. 403-409, 2004.
- ALVES, Rafael. Biologia de *Pteria hirundo*, ostra perlífera nativa do Brasil. 163 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2010.
- ANDERSON, W.G. et al. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *J. Fish. Mgmt.*, Bethesda, v. 17, n. 2, p. 301-307, 1997.
- ARANA, L.V. Aquicultura e desenvolvimento sustentável: subsídios para formulação de políticas de desenvolvimento da aquicultura brasileira. Florianópolis: UFSC, 1999. 310 p.
- CABRAL, P. Some aspects of the abnormal mortalities of the pearl oyster, *Pinctada margaritifera* (L) in the Tuamotu Archipelago, (French Polynesia) in *Advances in Tropical Aquaculture*, Tahiti February 20-March 4 1989. *Aquacolp fremer, Actes de colloque 9*, pp. 217-226, 1990.
- FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazônica*. 35(1): 71-75, 2005.
- FERREIRA, J.F. Repensando o mar para o século XXI – Maricultura. In: *II Workshop Regional Sul sobre o Mar*. Florianópolis, p.83-89, 1998.
- GERVIS, M.H.; SIMS, N.A. The biology and culture of pearl oysters (Bivalvia: Pteriidae). *ICLARM stu. Rev.* 21 49 pp ODA, London. 1992.
- GOMES, L.C. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. World. Aquac. Soc.*, Baton Rouge, v. 32, n. 4, p. 426-431, 2001.
- HEASMAN, M.P., O'CONNOR, W.A. and FRAZER, A.W.J. Induction of anaesthesia in the commercial scallop, *Pecten fumatus* Reeve. *Aquaculture*, 131: 231-238, 1995.
- ISAACS G. Permanent local anaesthesia and anhidrosis after clove oil spillage. *Lancet*. I: 882 – 883, 1983.
- IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; MCKINLEY, R. S.; ELIASSEN, R. A. The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, v. 221, p. 549-566, 2003.
- KAPLAN, H.M. Anesthesia in invertebrates, *Federation Proceedings*, 28: 1557-1569, 1969.
- KEENNE, J.L.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D.; SOTO, C.G. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research* 29: 89 – 101, 1998.

- LORENZO, D. Essential oils *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Braz. Arch. Biol. Technol*, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 519-524, 2002.
- MACCACCHERO, G.B.; GUZENSKI, J.; FERREIRA, J.F. Allometric Growth on Mangrove Oyster *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828). Cultured in Southern Brazil. *Revista Ciência Agronômica*, v.36, p.400-403. 2005.
- MAGALHAES, A.R.M. Malacologia: Importância econômica. In: XIV Encontro Brasileiro de Malacologia. Porto Alegre, p.85-86, 1995.
- MARKING, L.L.; MEYER, F.P. Are better fish anaesthetics needed in fisheries? *Fisheries*. 10(6): 2-5, 1985.
- MARSIC-LUCIC, J.; MLADINEO, I.; TUDOR, M. Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and Propiscin as anesthetics for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax*L. *Aquaculture International*. 13: 543 – 553, 2005.
- MATOS, F.J.A Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2. ed. Fortaleza: UFC, 2000.
- MONTEFORTE, M.; ALDANA, C.; BERVERA, H.; PÉREZ, V.; RAMÍREZ, J.J., SAUCEDO, P. ; WRIGHT, H. Effects of biofouling on growth and survival of pearl oysters *Pteria sterna* and *Pinctada mazatlanica* during nursery culture at station El Merito, Bahía de La Paz, South Baja California Mexico. Abstracts of the 1996 Annual Meeting of the World Aquaculture Society (WAS96). January 29- February 2, 1996. Bangkok, Thailandia, pp. 258-259. 1996
- NAVA, M.; ARIZMENDI, E.; FARELL, S.; MCLAURIN, D. Evaluation of success in the seeding of round nuclei in *Pteria sterna* (Gould 1851), a new species in pearl culture. *SPC Pearl Oyster Information Bulletin*. v.14. p.13-16, 2000.
- NOMURA, H. Criação de moluscos e crustáceos. São Paulo: Nobel. 1978.102p.
- NORTON, John H. An evaluation of some relaxants for use with pearl oysters. *Aquaculture*. v. 144, p.39-52. 1996.
- NORTON, J.H.; LUCAS, J.S.; TURNER, I.; MAYER, Robert J. & NEWNHAM, R. Approaches to improve cultured pearl formation in *Pinctada margaritifera* through use of relaxation, antiseptic application and incision closure during bead insertion. *Aquaculture* v. 184. P.1-17, 2000.
- OLIVEIRA NETO, F.M. Bons resultados da ostreicultura fizeram a malacocultura catarinense crescer em 2006. *Panorama da aquicultura*, v.17, n.100, p.41-43, 2007.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; PEDINI, M. Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, Wagner Cotroni (editor). *Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. c. 12. P. 353-381. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, 399p, 2000.
- OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J.R.; SOTO, D. *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Secretaria Especial da Aquicultura e Pesca. Brasília, 2008.
- PRASAD, R. *Aquaculture Potential in Fiji and Other Pacific Island Countries* Micronésia Supplement. v.7. p.55-67, 2003.
- RIOS E.C. *Compendium of Brazilian sea shells*. Evangraf, Brazil, 2009.

- ROSS, L.G.; ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science, Oxford. 159p. 1999.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Publicado na Panorama da Aquicultura (2001), 11 (66): 37-40, 2001.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; LOURENÇO, J.N.P.; FONSECA, F.A.L.; SANTOS, P.J.O.; VAL, A.L. Efficacy of eugenol as an anesthetic in juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*, International Congress on biology of fishes. Tropical fish: news and news, p. 93-96, 2001.
- RUNHAM, N.W., Isarankura, K. and Smith, B.J. Methods for narcotizing and anaesthetizing gastropods. Malacologia, 2:231-238, 1965.
- SALVADOR, G.C.; ALBUQUERQUE M.C.P.; FERREIRA J.F. Influence of the collector period - sea cultivation period on seeds recovery rate and growth out of *Pteria hirundo* in southern, Brazil Boletim do Instituto de Pesca Artigo Científico BIP-793 aceito para publicação 08 setembro de 2011.
- SCOONES, R.J.S. Research on practices in the Western Australia cultures pearl industry, Fishing Industry Research and Development Council, Project BP 12, Final Report, Fisheries Research and Development Corporation, Caberra, 1990.
- SHIRAI, S. Report on the pearl resources, pearl oyster grounds and pearl culture around La Paz in Baja California, Mexico. *Journal of the Pacific Society*. 171 p 1981.
- SILVEIRA, RC; SILVA, FC; GOMES, CHM; FERREIRA, JF; MELO CMR. Larval settlement and spat recovery rates of the oyster *Crassostrea brasiliana* (Lamarck, 1819) using different systems to induce metamorphosis. Brazilian Journal of Biology (Impresso), v. 71, p. 557-562, 2011.
- SIMS, N.A. Pearl oysters. In: Wright, A., L. (Eds.), Nearshore Marine Resources of the South Pacific oysters. IPS, Suva, FFA, Honiara, ICOD, Canada, 1993.
- TAYLOR, J.J.; STRACK, E. Pearl Production. In: SOUTHGATE, P.C.; LUCAS, J.S. (Ed.). The Pearl Oyster. Oxford. UK: Elsevier. 2008. p.273-302.
- TYTLER, P.; HAWKINS, A.D. Vivisection, anaesthetics and minor surgery. In: HAWKINS, A.D.(Editor). Aquarium Systems. Academic Press, New York, p. 247-279, 1981.
- VALLE, R.P.; PROENÇA, C.E.M. de. Evolução e perspectivas da aquicultura no Brasil. In: VALENTI, Wagner Cotroni (editor). Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. c. 13. p. 383-398. Brasília: CNPq / Ministério da Ciência e Tecnologia, 399p. 2000.
- WADA, K.T. The pearl oyster, *Pinctada fucata* G Family Pteriidae. In: Menzel, W. (Ed.). Estuarine and marine bivalve mollusc culture. CRC Press, Boston, p. 246-260.1991.
- WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility os rainbow trout broodstock anesthezid with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. Aquaculture, 211: 353 – 366, 2002.

