



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA

IZABELA CLEUSA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE RECOBRIMENTO E FORMAÇÃO DA MEIA
PÉROLA NA OSTRÁ PERLÍFERA *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758).**

FLORIANÓPOLIS

2017

IZABELA CLEUSA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE RECOBRIMENTO E FORMAÇÃO DA MEIA
PÉROLA NA OSTRÁ PERLÍFERA *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758).**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Engenharia de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como pré-requisito para a obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Orientador: Prof. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque, Dr.

Co-orientadora: Giulia Burle Costa, M. Sc.

FLORIANÓPOLIS

2017

Cleusa Vieira, Izabela

AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE RECOBRIMENTO E FORMAÇÃO DA MEIA PÉROLA NA OSTRÁ PERLÍFERA *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758). / Izabela Cleusa Vieira ; orientador, Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque, coorientador, Giulia Burle Costa, 2017.

61p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Ciências Rurais, Florianópolis, 2017.

Inclui referências.

1. Ciências Rurais. 2. *Pteria hirundo*. 3. Meia pérola. 4. Processo de Recobrimento. 5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). I. Caivano Pedroso de Albuquerque, Marcos. II. Burle Costa, Giulia. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Rurais. IV. Título.

IZABELA CLEUSA VIEIRA

**AVALIAÇÃO DO PROCESSO DE RECOBRIMENTO E FORMAÇÃO DA MEIA
PÉROLA NA OSTRA PERLÍFERA *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758).**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Aquicultura, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 28 de NOVEMBRO de 2017.

Prof. Anita Rademarker Valença, Dr.

(Coordenadora do Curso)

Banca examinadora:

Prof. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque, Dr.

(Orientador)

Eng.º de Aquicultura: Giulia Burle Costa, M. Sc.

(Co-orientadora)

Biólogo: Carlos Henrique Araújo de Miranda Gomes, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Eng.º de Aquicultura: Graziela Cleusa Vieira, M. Sc.

Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico este trabalho à minha
família: Cleusa, Manoel e
Graziela.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família, pelo apoio durante toda a minha graduação, por nunca me deixar faltar nada e acreditar no meu potencial. Mãe, foi o seu cuidado e dedicação que, em alguns momentos, deram a esperança para seguir. Pai, a sua presença significou segurança e certeza de que não estou sozinha nessa caminhada. Minha irmã Graziela, por ser sempre minha segunda mãe, colega acadêmica e minha melhor amiga, obrigada. Sou eternamente grata pelo carinho e apoio, que não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Amo muito vocês ♥.

Ao meu amor, que de uma forma carinhosa e especial me deu forças e coragem para não desistir dos meus objetivos e sonhos, me apoiando em momentos difíceis e sendo meu porto seguro. Te amo ♥

Ao professor Dr. Marcos Caivano Pedroso de Albuquerque, por me dar a oportunidade de ser sua aluna, pela paciência e dedicação a mim e ao trabalho de meia pérolas, pela orientação, por transmitir todo o seu conhecimento e sabedoria, e por acreditar no meu potencial.

A minha querida e eterna amiga Giulia Burle Costa, pela dedicação e o apoio em um dos momentos mais especiais em minha vida, por ser minha co-orientadora, por ser companheira de viagem, pela amizade verdadeira e principalmente por ser essa pessoa maravilhosa e querida.

A Ana Carolina Araújo pela dedicação e ajuda nos experimentos, pesquisas e o companheirismo durante essas etapas.

Aos membros da banca Graziela Vieira e Carlos Henrique por participarem da avaliação do meu trabalho de conclusão de curso.

Sou muito grata a todos meus amigos que fiz durante a minha trajetória na graduação, pela amizade e companheirismo. Queria agradecer em especial o George, Robson, Marcelo, Mayara, Bianca e Rômulo pelo apoio e a amizade.

A Camila Lisarb, pela amizade ao longo da graduação e fora dele também. Agradecer principalmente pelos momentos bons e o companheirismo durante essa jornada acadêmica.

Aos docentes e toda a equipe técnica dos laboratórios de Moluscos Marinhos (LMM) e o de Biologia Celular, Embriologia Vegetal (LaBCEV) da UFSC.

Agradecer a equipe técnica do Laboratório central de microscopia eletrônica (LCME), em especial a técnica Eliane Medeiros.

As pessoas que de alguma forma marcaram e fizeram parte do meu crescimento intelectual e profissionalizante. Só tenho a agradecer primeiramente ao Rodrigo W. S., prof^o Marcos C. P. de A., Giulia B. C., Eder C. S, prof^a Zenilda L. B., prof^a Aime R. e a Marcia C. P. R.. Aos Professores do curso de Engenharia de aquicultura: Katt R. L., Gilberto A., Alex N., Claudio M., Anita R., José L. M., Edeimar R. A e o Paul R. M. M.

A Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de fazer o curso de Engenharia de aquicultura. Em especial ao grupo docente do departamento de aquicultura, pelo apoio e dedicação perante aos alunos. Além da equipe técnica, Jussara, Valmor, Jeff e a Dona Elena, pessoas maravilhosas e iluminadas, que sempre estiveram dispostas a ajudar o próximo sem medir esforços. Só tenho que ser grata a todos, saibam que levarei um pedacinho de cada um comigo para sempre.

Ao Canna Verde, pelo apoio e compreensão nesse momento tão importante para mim. Muito obrigada!

Ao Carlos Henrique Araújo de Miranda Gomes, por ser um dos membros que introduziu a espécie de ostra perlífera *P. hirundo* no LMM.

Ao Rafael Alves "*in memoriam*", pelas suas excelentes pesquisas da espécie *P. hirundo* que contribuíram muito para o meu trabalho.

“É preciso que eu suporte duas ou três larvas se quiser conhecer as borboletas. Dizem que são muito belas”

O pequeno príncipe

RESUMO

A *Pteria hirundo* é uma espécie nativa do Brasil. Trata-se de uma espécie da família Pteriidae com grande potencial econômico para aquicultura, por possuir um bom desempenho em cultivo, serem comestíveis e terem a capacidade de produzir meias pérolas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o recobrimento detalhado da meia pérola ao longo das semanas com o auxílio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O estudo foi realizado no Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM, UFSC), na praia do Sambaqui (27°29'22.3" S e 48°32'16.7" W). Os animais foram anestesiados com fenoxetol propileno (2,5 mL.L⁻¹), inoculados com um núcleo esférico de plástico (6mm). Em seguida, as ostras foram colocadas em lanternas definitivas e postas no mar, suspensas em sistemas flutuantes de long-line. Foram coletadas amostras de nucleação e manto de espécimes semanalmente entre a 1ª e 15ª semanas (animais após a inoculação) (n=3 por coleta, 45 animais no total). As amostras foram fixadas 2,5 % paraformaldeído e Tampão Fosfato a 0,1 M (pH 7,2), desidratadas em série etanólica crescente, secas com hexadimetil disilazona (HDMS) (amostras de nucleação), secas com ponto crítico (amostras de manto), recobrimento com ouro (espessura de 30 nm) e analisadas a 10 kV (JEOL Ltd; LCME, UFSC) juntamente com detector de raio X EDS-RX Thermo-electro. As análises macroscópicas mostram sucessivos ciclos de recobrimento e deposição de matriz e cristais (calcita e aragonita). Estas deposições aumentam a rigidez e iridescência durante a formação da pérola. Estas deposições são bem demonstradas quando vistas ao MEV, estas micrografias demonstram sucessivas deposições de espículas de aragonita e, sequencialmente, um novo recobrimento de matriz que reorienta as espículas de aragonita em pellets e reorganizando um recobrimento em torno do núcleo formador da pérola. A finalização do processo se dá com a deposição de calcita que forma o nácar. Provavelmente o processo de formação de pérola completo deve levar de um a dois anos, conforme outros trabalhos com espécies do mesmo gênero. Fato observado ao final deste estudo

onde há o aumento da iridescência do recobrimento. Este estudo possui relevância ao elucidar alguns dos passos de formação de pérola por ostra nativa. Através deste estudo espera-se contribuir para a elaboração de um protocolo de cultivo comercial de pérolas com ostras perliíferas nativas.

Palavras-chave: *Pteria hirundo*, *Meia pérola*, *processo de recobrimento* e *MEV*.

ABSTRACT

Pteria hirundo is a species native to southern Brazil. Because it is a species of the family Pteriidae, it has a great economic potential for aquaculture, for having a good performance in cultivation, being edible and having the capacity to produce half pearls. This work had the objective of evaluating the detailed covering of the half pearl throughout the weeks with the aid of Scanning Electron Microscopy (SEM). The study was performed at the Marine Mollusks Laboratory (LMM, UFSC), at Sambaqui beach (27 ° 29'22.3 "S and 48 ° 32'16.7" W). The animals were anesthetized with phenoxetol propylene (2.5 mL.L⁻¹), inoculated with a plastic spherical core (6mm). The oysters were then placed in definite lanterns and placed in the sea, suspended in long-line floating systems. Samples of nucleation and mantle of specimens were collected weekly between the 1st and 15th weeks (animals after inoculation) (n = 3 by collection, 45 animals in total). The samples were fixed with 2.5% Paraformaldehyde and 0.1 M Buffer Phosphate (pH 7.2), dehydrated in increasing ethanolic series, dried with Hexadimethyl disilazone (HDMS) (nucleation samples), dried with critical point (samples of mantle), gold plating (30 nm thickness) and analyzed at 10 kV (JEOL Ltd; LCME, UFSC) together with EDS-RX Thermo-electro X-ray detector. The macroscopic analyzes show successive cycles of coating and deposition of matrix and crystals of calcite and aragonite. These depositions increase the opacity and iridescence during the formation of the pearl. These depositions are well demonstrated when viewed at SEM, these micrographs demonstrate successive depositions of aragonite spicules and, sequentially, a new matrix coating that reorients the aragonite spikes into pellets and rearranging a coating around the bead forming core. The finalization of the process occurs with the deposition of calcite that forms the nacre. Probably the complete pearl formation process should take from one to two years, according to other works with species of the same genus. This was

observed at the end of this study where there is an increase in the iridescence of the coating. This study has relevance in elucidating some of the native oyster pearl formation steps. Through this study, I hoped to contribute to the elaboration of a commercial pearl cultivation protocol with native pearl oysters.

Key-words: *Pteria hirundo*, half pearls, coating process, SEM.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Comparativo da produção de pescado mundial, provindos da pesca e aquicultura, correlacionando com o crescimento populacional.	21
Figura 2: Ilustração das espécies. A- Perna perna (mexilhão); B- Crassostrea gigas (ostra do Pacífico); C- Nodipecten nodosus (vieira). A barra de escala corresponde a 1 cm.	25
Figura 3: Sistema de cultivo do tipo long-line: A- Espinheis; B- Caixa de sementes sendo presa no espinhel; C- Lanterna definitiva amarrada no espinhel.	26
Figura 4: Anatomia geral da ostra perlífera do gênero Pinctada.	31
Figura 5: Imagem tridimensional da estrutura das moléculas de aragonita e calcita	32
Figura 6: Imagem esquemática mostrando o aspecto do manto e das camadas de deposição da concha e pérola.	33
Figura 7: Diagrama esquemático da formação de pérolas: A – Formação de meia pérola e B – Formação de pérola inteira.	35
Figura 8: Exemplos de tipos de pérolas. A - Meia pérola da espécie Pteria penguin; B - Pérola inteira da espécie Pinctada maxima.	36
Figura 9: Conchas da ostra perlífera Pteria Hirundo.	38
Figura 10: Taxonomia da ostra perlífera P. hirundo.	39
Figura 11: Ostras perlíferas Pteria hirundo.	41
Figura 12: A: Mapa da ilha de Santa Catarina com a localização do Laboratório de Moluscos marinhos na praia do Sambaqui (LMM/UFSC); B: Sistemas flutuantes de long line; C: Lanterna definitiva do experimento suspensa; D: Pterias sendo anestesiadas, E: Cunha entre as valvas para impedir que se fechem; F: Secagem na parte interior da valva para poder fixar a cola; G-H: Processo de colagem e fixação do núcleo e I: Exposição ao ar para a secagem da cola.	43

Figura 13: Imagens macroscópicas das ostras *P. hirundo* em processo de recobrimento da meia pérola durante as semanas. A – 1ª semana, B – 3ª semana, C – 4ª semana, D – 6ª, E – 7ª semana, F – 12ª semana, G – 14ª semana e H – 15ª semana. Cabeça de seta indica o processo de recobrimento. M – Estrutura do manto. Todas as barras brancas entre imagens correspondem a 1 cm.....47

Figura 14: Imagens microscópicas de MEV, evidenciando os tentáculos digitiformes e ramificados do manto, através das semanas. A - Controle; B – magnificação da imagem A; C - 1ª semana; D - 2ª semana; E – magnificação da imagem D; F - 3ª semana; G - 5ª semana; H - 6ª semana; I - 9ª semana; J - 14ª semana; K - 15ª semana; L – magnificação da imagem K. Cabeça de seta (vermelha) corresponde ao ponto de magnificação e a seta (branca) representa os cristais.50

Figura 15: Imagens microscópicas de MEV, evidenciando a superfície e papilas dos tentáculos digitiformes e ramificados do manto, através das semanas. A - Controle; B - 1ª semana; C - 2ª semana; D - 3ª semana; E - 5ª semana; F - 6ª semana; G - 9ª semana; H - 14ª semana; I - 15ª semana. Seta representa posicionamento dos cristais de calcita ou aragonita (CaCO_3).....51

Figura 16: Imagens microscópicas do MEV, evidenciando o processo superficial de recobrimentos da meia pérola, formada na ostra perlíferas *P. hirundo*, através das semanas. A – 1ª semana; B – 2ª semana; C – 3ª semana; D – magnificação da imagem C; E – 4ª semana; F – 5ª semana; G – 6ª semana; H – 7ª semana; I – 8ª semana; J – 9ª semana; K - 10ª semana; L – magnificação da imagem K; M – 11ª semana; N – 12ª semana; O – magnificação da imagem N; P – 13ª semana; Q – magnificação da imagem; R – 14ª semana; S – 15ª semana; T – magnificação da imagem S e a seta (branca) representa os cristais. Quadrados laranjas representam a área utilizada para magnificação da imagem.54

Figura 17: Imagens microscópicas do MEV, evidenciando os detalhes do processo de recobrimento da meia pérola, formada na ostra perlíferas *P. hirundo*, através das semanas. A – 2ª semana; B – 3ª semana; C – 4ª semana; D – 5ª semana; E – 6ª semana; F – 7ª semana; G – 8ª semana; H – 9ª semana; I – 10ª semana; J - 11ª semana K – 12ª semana; L – 13ª semana; M – 14ª semana; N – 15ª semana e a seta (branca) representa os cristais.56

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Registros de produção em toneladas (t), dos maiores produtores de moluscos do mundo.	23
Gráfico 2: Registros em porcentagem (%) do peso vivo de molusco em comparação com outros organismos aquáticos cultiváveis (FAO, 2016 b).	23
Gráfico 3: A evolução da produção de moluscos comercializados em Santa Catarina entre 1990 e 2015 (t).	27

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

cm – Centímetro

EDS - detector de raio X EDS-RX Thermoelectro

EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina.

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura.

HMDS - hexadimetil disilazona

LaBCEV – Laboratório de biologia celular, embriologia de vegetal (UFSC)

LCME- Laboratório de microscopia eletrônica (UFSC)

LMM – Laboratório de Moluscos Marinhos (UFSC)

MEV – microscopia eletrônica de varredura

mm – milímetro

SC – *Santa Catarina*

t – toneladas.

° - Grau

' – Minuto

"- Segundo

% - porcentagem

UD\$ - Dólar Americano

I	RESUMO.....	09
II	ABSTRACT.....	11
III	LISTA DE FIGURAS.....	13
IV	LISTA DE GRÁFICOS.....	15
V	LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS.....	16

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	20
1.1.	AQUICULTURA E A MALACOCULTURA NO MUNDO E NO BRASIL.....	20
1.1.1.	<i>Aquicultura.....</i>	20
1.1.2.	<i>Malacocultura no Mundo</i>	21
1.1.3.	<i>A malacocultura no Brasil e em Santa Catarina</i>	24
1.2.	HISTÓRICO DE PÉROLAS.	27
1.3.	CULTIVO DE OSTRAS PERLÍFERAS MARINHAS.	28
1.4.	ANATOMIA DE TECIDOS E A ESTRUTURA DA CONCHA DE OSTRAS PERLÍFERAS.	30
1.4.1.	<i>Estrutura e anatomia de ostras perlíferas.....</i>	30
1.5.	FORMAÇÃO DE PÉROLAS	34
1.5.1.	<i>Sistema imunológico de moluscos bivalves.....</i>	37
1.5.2.	<i>Biomíneralização</i>	37
1.6.	<i>PTERIA HIRUNDO</i>	38
2.	OBJETIVOS	40
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	40
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
3.1.	MATERIAL BIOLÓGICO	41
3.2.	LOCAL DO EXPERIMENTO E CONDIÇÕES DE CULTIVO	41
3.3.	MÉTODO DE NUCLEAÇÃO	42

3.4. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS E ANÁLISE EM MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA (MEV).....	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. RECOBRIMENTO MACROSCÓPICO DA MEIA PÉROLA.	45
4.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DO MANTO.	48
4.3. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) DA NUCLEAÇÃO.	53
5. CONCLUSÃO.....	58
6. REFERÊNCIAS	59

1. INTRODUÇÃO

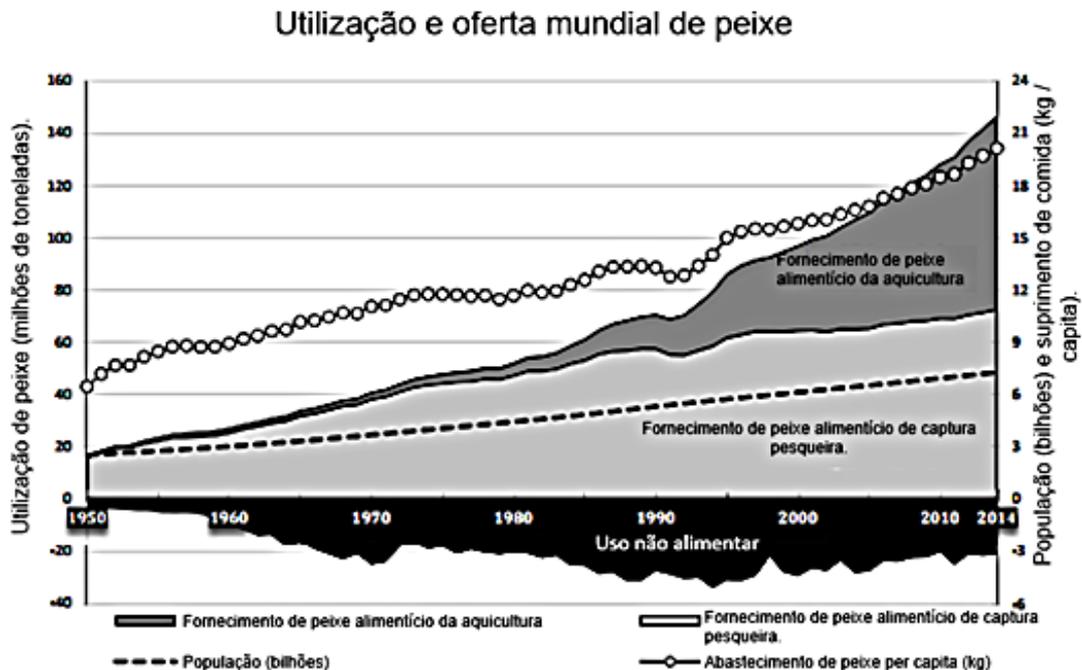
1.1. Aquicultura e a Malacocultura no mundo e no Brasil.

1.1.1. Aquicultura

A aquicultura é uma prática agrária utilizada há séculos em várias civilizações pelo mundo. Esse fato foi corroborado devido a registros históricos evidenciando técnicas simplificadas de criações de diversas espécies de peixes em documentos e manuscritos chineses de períodos antigos e também mencionadas em hieróglifos egípcios. Em tempos atuais, a atividade aquícola tem um cunho multidisciplinar, onde se destacam cultivos de espécies de plantas aquáticas, moluscos, crustáceos e peixes (OLIVEIRA, 2009). Por conseguinte, a aquicultura possui um grande papel a desempenhar em prol do futuro da humanidade pelo simples fato de criar organismos aquáticos que servem de alimento ao homem (ARANA, 1999).

A produção de pescado mundial advindo da aquicultura tem crescido constantemente nas últimas cinco décadas. Nos últimos anos, o setor aquícola de produção teve uma progressão segundo as estatísticas, e em contrapartida, o setor pesqueiro obteve um decréscimo em sua produção (Gráfico 1). O abastecimento de alimentos e derivados do pescado têm aumentado a uma taxa média anual de 3,2% no período de 1961 - 2013, o dobro do crescimento populacional mundial, resultando no aumento médio per capita (Figura 1). O consumo de pescados teve um aumento de 19,7 kg em 2013, com estimativas preliminares para 2014 e 2015 apontando um crescimento de até 20 kg per capto. Além do aumento da produção, outros fatores contribuíram para o aumento do consumo como a redução no desperdício, canais de distribuição aprimorados, crescimento populacional e o comércio internacional (FAO, 2016 a).

Figura 1: Comparativo da produção de pescado mundial, provindos da pesca e aquicultura, correlacionando com o crescimento populacional.



Fonte: FAO, 2016 b.

A produção aquícola no mundo de acordo com as últimas estatísticas disponíveis, em 2014, registrou uma alta histórica de 101.090.69,00 milhões de toneladas obtendo o valor estipulado em mais de 16 bilhões de dólares. Em ordem de destaque no quesito de valores de produção, foram produzidos 49.861.891,00 de toneladas de peixes (US\$ 10.130.199.300,00), seguido pelos crustáceos com 6.915.072,00 toneladas (US\$ 3.617.340.900,00), e 16.113.194,00 toneladas de moluscos (US\$ 1.901.240.600,00) (FAO, 2016b).

1.1.2. Malacocultura no Mundo

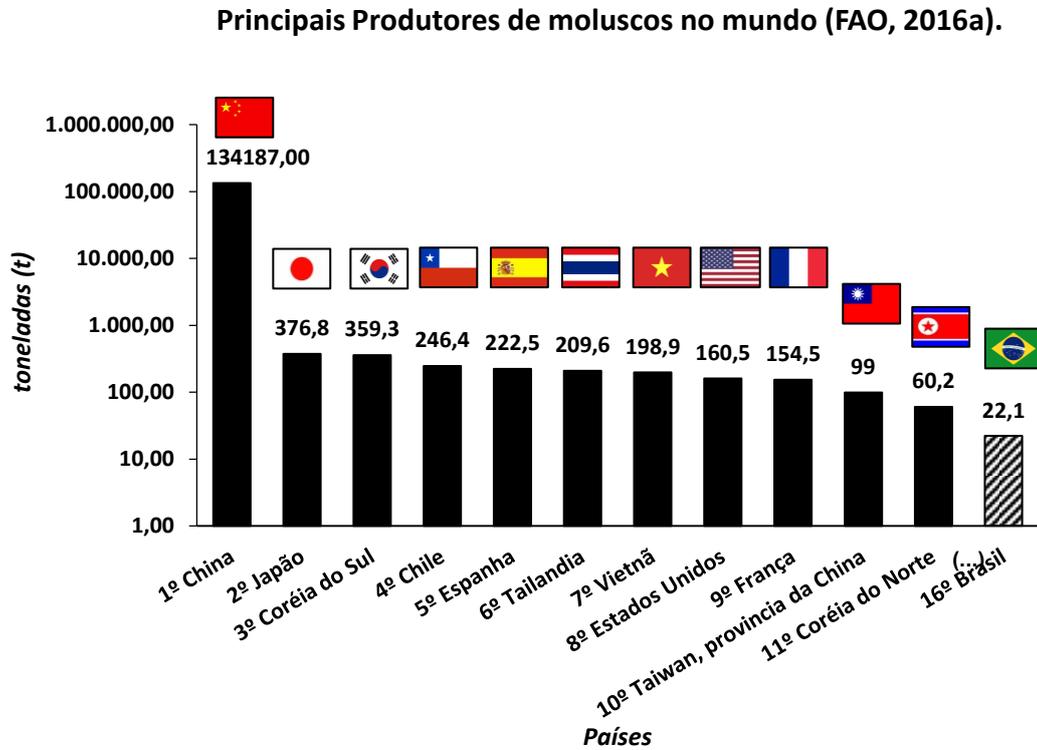
A malacocultura é o termo utilizado para o cultivo de moluscos e há registros que afirmam que sua prática é antiga e teve início na Itália em aproximadamente 95 a.C. no Império Romano, quando Serigus Arata cultivava ostras na parte interior do

lago Lucinus. Os moluscos cultivados nessa época eram vistos como iguaria culinária pela nobreza. Com o passar tempo, o prazer de comê-las se espalhou para outras partes do mundo (AVAULT, 1996). Em outras vertentes, desde tempos antigos os moluscos, além de servirem como alimento, suas valvas e pérolas eram utilizadas como adornos (STRACK, 2008).

Segundo a Food Agricultural Organization (2016a) os principais países produtores de moluscos bivalves são a China, o Japão, a Coreia do Sul e o Chile, entretanto, o Brasil se enquadra na posição de décimo sexto lugar na lista dos vinte e cinco maiores produtores de moluscos no mundo (Gráfico 1). A produção de moluscos em 2014 teve uma estimativa de 16.113.194 toneladas (rendimento de USD 19.012.406.000,00). Em 2013, a contribuição comercial em porcentagem de peso vivo de moluscos comparados aos demais organismos aquáticos cultiváveis foi de 10,4%, dentre a porcentagem citada anteriormente. Podemos subdividir os moluscos em classes de bivalves com 5,6%, cefalópodes com 4,0% e outros moluscos 0,7% (Gráfico 2).

Segundo dados estatísticos do ano de 2014, estimou-se a produção de determinados grupos de moluscos, dentre eles, destacam-se os moluscos de água doce com 167.000,00 (t); Gastrópodes com 471.000,00 (t); Ostras 5.155.000,00 (t); mexilhões 1.902.000,00 (t); Vieiras 1.922.000,00 (t); Moluscos de areia 5.360.000,00 (t); Cefalópodes 0 (t) e Moluscos marinhos diversos com 1.135.000,00 (t). Além disso, podemos ressaltar seus subprodutos produzidos por países como a China, Fiji, Polinésia, Indonésia, Japão e Papua Nova Guiné que obtiveram no ano de 2014 uma produção coletiva de 48.382 toneladas de produtos não-alimentícios (US\$ 230.287.000,00), tais como pérolas, madrepérolas e conchas para a ornamentação e decoração (FAO, 2016 b).

Gráfico 1: Registros de produção em toneladas (t), dos maiores produtores de

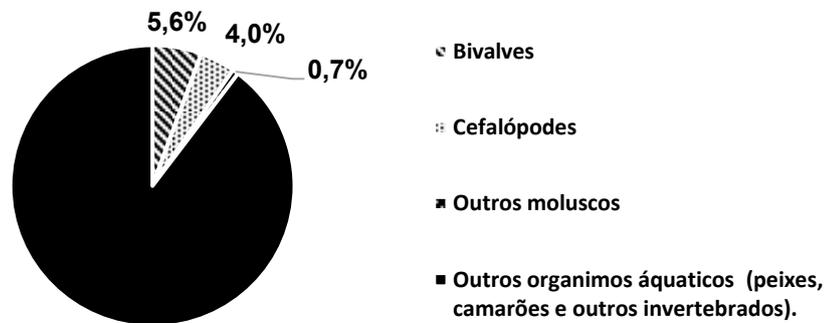


moluscos do mundo.

Fonte: (FAO, 2016 a)

Gráfico 2: Registros em porcentagem (%) do peso vivo de molusco em comparação com outros organismos aquáticos cultiváveis (FAO, 2016

Contribuição em porcentagem (%) de peso vivo de moluscos no comércio aquícola.



b).

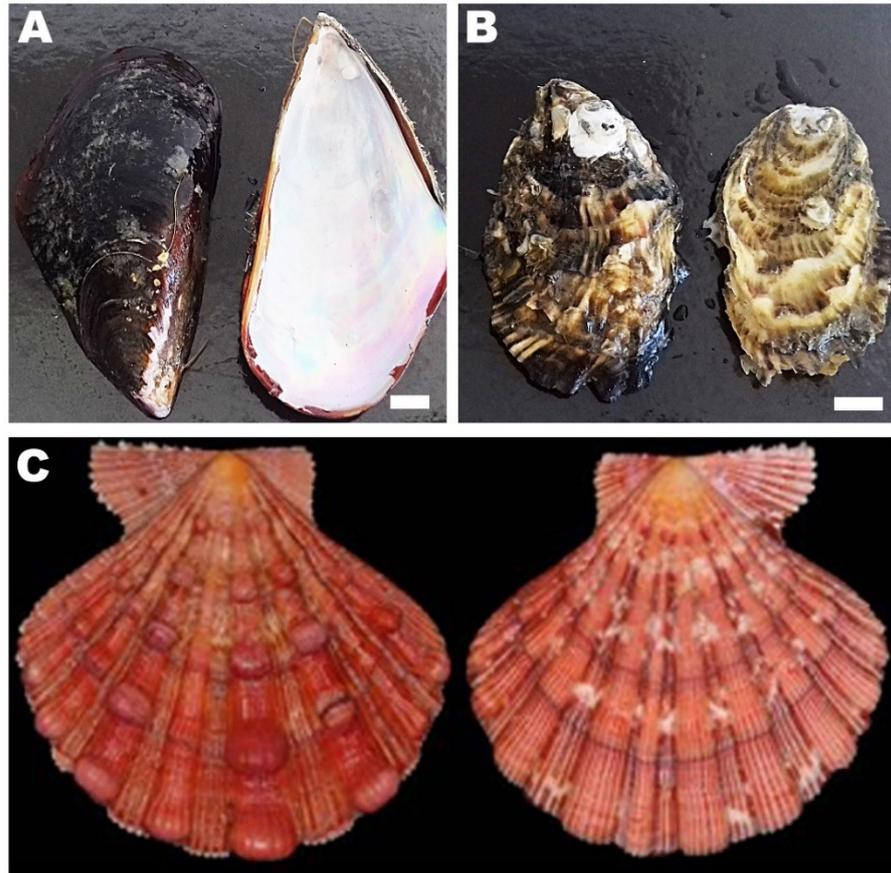
Fonte: (FAO, 2016 a).

1.1.3. A malacocultura no Brasil e em Santa Catarina

A prática da malacocultura no Brasil passou a ser considerada de fato uma atividade econômica a partir da década de 90 com as produções artesanais e familiar desenvolvidas nas regiões costeiras, especialmente de Santa Catarina (ARANA, 1999). Nos estados brasileiros a prática da malacocultura é incorporada predominantemente em regiões costeiras, mais predominantemente na região sul do país, dentre as espécies mais cultivadas no âmbito comercial, se destacam os moluscos bivalves: mexilhões (*Perna perna*), a ostra do pacífico (*Crassostrea gigas*), a ostra nativa (*Crassostrea gasar* e *C. rhizophorae*) e as vieiras (*Nodipecten nodosus*) (ANDRADE, 2016).

Em Santa Catarina, os cultivos ainda são sistemas artesanais e familiares, criado através de políticas públicas para garantia da produção e sustentabilidade de famílias de baixa renda localizadas em regiões costeiras do estado (ARANA, 1999). Segundo o Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM) (2017), a EPAGRI (órgão estadual de fomento de práticas agrícolas) e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), iniciaram nos anos 90 os primeiros estudos e parceria para a produção comercial de sementes de ostras japonesas e o abastecimento de sementes para todos os estados produtores de ostra no Brasil. No estado, as espécies mais cultivadas são a ostra exótica oriunda do Japão, *Crassostrea gigas*, o mexilhão nativo, *Perna perna* e a vieira, *Nodipecten nodosus*. (Figura 2). O cultivo de moluscos atualmente se constitui de uma cadeia produtiva completa, proporciona geração de trabalho, renda ao produtor e movimentação de renda ao município, além de revitalizar e estimular a permanência de várias comunidades litorâneas tradicionais de pescadores (FERREIRA *et al.*, 2011).

Figura 2: Ilustração das espécies. A- *Perna perna* (mexilhão); B- *Crassostrea gigas* (ostra do Pacífico); C- *Nodipecten nodosus* (vieira). A barra de escala corresponde a 1 cm.

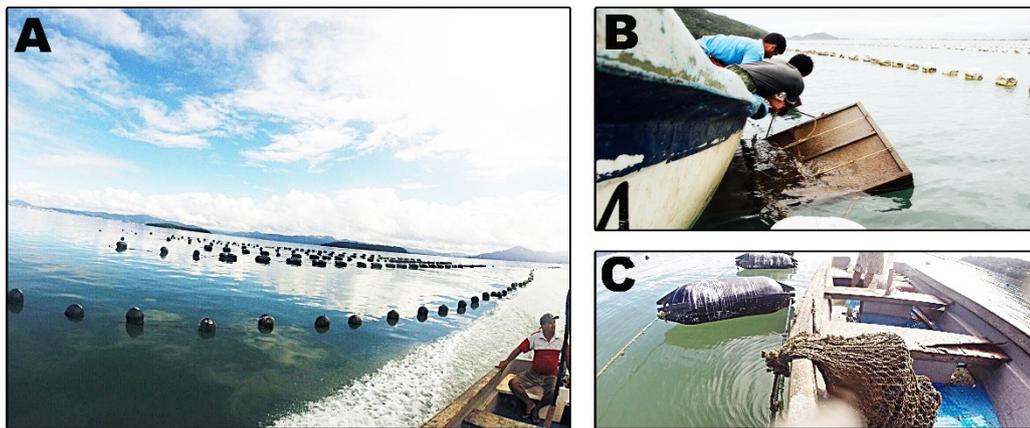


Fonte: Elaborada pelo autor (fotos A e B); * Disponível em: <http://www.xenophora.org/Iconographie/Pectinidae/Nodipecten%20nodosus%201/Cadre%20Nodipecten%20nodosus%201.html> (foto C), acessado em: 05/11/2017.

Os sistemas de cultivos adotados para o estado de Santa Catarina são originados de técnicas utilizadas em outros países, tais como, Espanha e França. Os modelos de cultivo adaptáveis para a região são: suspensos fixos, sistemas flutuantes (long-line e balsas). O sistema de cultivo mais utilizado na região é

baseado em sistemas de cultivos do tipo long-line e consiste basicamente de uma linha mestra, com tamanho variando entre 30 a 100 metros de comprimento, posicionada horizontalmente em relação à superfície da água, tendo nas duas extremidades, um sistema de poitas para fundeio. Indicado para regiões que não apresentam maré baixa acentuada, geralmente são colocados na linha mestra (espinhel) estruturas de cultivo para bivalves em diferentes estágios de produção (caixas de semente, lanternas de berçários, lanternas para juvenis e lanternas definitivas) (Figura 3) (FERREIRA e MAGALHÃES, 2004).

Figura 3: Sistema de cultivo do tipo long-line: A- Espinheis; B- Caixa de sementes sendo presa no espinhel; C- Lanterna definitiva amarrada no espinhel.

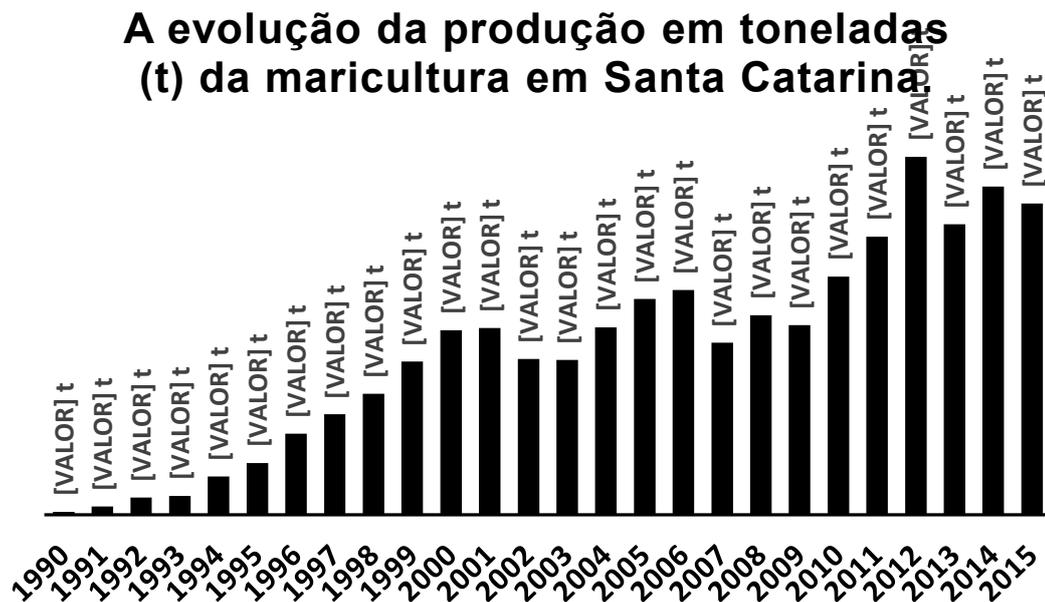


Fonte: Elaborada pelo autor (fotos A e C); * Disponível em: <http://giulianegava.com/portfolio/maricultura-em-florianopolis/> (foto B), acessado em: 05/11/2017.

No estado de Santa Catarina o cultivo de moluscos em 2015 teve uma produção total de 20.438 toneladas (Gráfico 3). Somente as ostras foram responsáveis por 3.030,26 (t), destacando a região da grande Florianópolis como a maior produtora. O mexilhão obteve uma safra de 17.370 (t) e os maiores produtores estão presentes na região de Palhoça, Bombinhas e Governador Celso Ramos. Já as vieiras obtiveram uma produção de 37,2 (t), e o principal produtor é o município de Penha. Os produtores estão organizados em 21 associações municipais e 1

estadual, 1 cooperativa e 2 federações, distribuídos em 12 municípios do litoral, compreendidos entre Palhoça e São Francisco do Sul (CEDAP, 2015).

Gráfico 3: A evolução da produção de moluscos comercializados em Santa Catarina entre 1990 e 2015 (t).



Fonte: CEDAP, 2015.

1.2. Histórico de Pérolas.

As pérolas são conhecidas mundialmente há muitos séculos e têm sido admiradas desde as antigas civilizações, incluindo impérios estabelecidos no Egito, China, Índia, Pérsia e Roma. São consideradas representantes de “gemas”, e tornaram-se itens de muita importância cultural na confecção de jóias e adornos. O histórico de obtenção de pérolas começou há várias décadas, através de extrações de ostras marinhas onde, por acidente, e raramente os coletores encontravam belas pérolas na parte interna de moluscos. Com sua cor e brilho característicos, eram altamente estimadas como pedras preciosas entre membros das classes mais

nobres. As pérolas também foram altamente valorizadas para o uso de elixires em cosméticos, devido a virtude da sua única existência no mundo natural (FUJITA, 1923; KUNZ e STEVENSON, 1908a; NISHIKAWA, 1904 a, b, c *apud* NAGAI 2013).

Com o declínio da produção natural de pérolas no século XVI até o XX, consagrou-se o encerramento do processo extrativista no ano de 1940, devido ao aparecimento de pérolas cultivadas, oriundas dos países asiáticos, principalmente do Japão (MACKENZIE *et al.*, 2003). Em 1893, o pesquisador Kokiche Mikimoto foi responsável pela primeira produção de pérolas cultivadas no Japão utilizando uma espécie do gênero *Pinctada*. Seus primeiros cultivos eram de pérolas do tipo “mabe” ou meia pérolas. Somente 15 anos mais tarde com a técnica Mise-Nishikawa se iniciou a produção de pérolas esféricas ou pérolas inteiras (ALEXANDER, 1951). Sendo que o cultivo de meia pérola permite a produção de joias com valores acessíveis para todas as classes sociais (STRACK, 2008).

1.3. Cultivo de Ostras Perlíferas marinhas.

Entre as ostras marinhas, o cultivo de pterídeos é bem-sucedido em várias partes do mundo. Esta atividade é exercida principalmente para a extração de pérolas no gênero *Pinctada* e meia pérola para o gênero *Pteria* (ALEXANDER, 1951).

As principais indústrias que cultivam pérolas estão no Japão, Austrália e Polinésia Francesa, dependem tradicionalmente da coleta de ostras perlíferas da natureza. Essas ostras coletadas são cultivadas até o tamanho ideal para produção de pérolas (conhecidas como pérolas akoy). No entanto, a reprodução em laboratório tornou-se cada vez mais importante para as indústrias nos últimos 25 - 30 anos, pois, permitiu a seleção de características comerciais importantes, como a cor do nácar (SOUTHGATE, 2008).

Cada um grupo de espécies ou uma espécie de ostra perlífera, possui a capacidade de formar uma pérola inteira ou meia pérola de qualidade singular. As pérolas designadas como Akoy, são formadas pelas espécies como a *Pinctada fucata*, *Pinctada martensii*, *Pinctada radiata* e *Pinctada imbricata* e possuem uma distribuição de cultivo que abrange os oceanos do meio leste, da Índia, da Sri Lanka

(Ceilão), Atlântico Sul e do Pacífico Norte, incluindo o Japão e a China. As demais qualidades de pérolas são conhecidas como “silverlip/goldlip” (formada pela espécie *Pinctada maxima*), “blacklip” (formada pelas espécies *Pinctada margaritifera* e *P. maxima*), “panamanian” (formada pela espécie *Pinctada mazatlanica*) e a “winged” (formada pelas espécies *Pteria penguin*, *Pteria sterna* e a *Pteria colymbus*) (SOUTHGATE *et al.*, 2008).

Os tipos de sistemas de cultivo mais utilizadas para as espécies de ostras perliíferas são os sistemas de cultivo suspenso, como balsas ou longlines, ou ainda sistemas de cultivo de fundo, como os “racks”, “treslês” e “fencelines”. Nesses sistemas de cultivos são utilizados diversos apetrechos responsáveis pela permanência das ostras nos cultivos, como painéis, cordas, lanternas e caixas. (SOUTHGATE, 2008).

As espécies da família pteriidae mais cultivadas no mundo são as *P. máxima*, *P. margaritifera*, *P. fucata*, *P. penguin* e *P. externa*. Países como as Filipinas, Austrália, Indonésia, Myanmar, França, Ilhas Cook, México China e o Japão são conhecidos mundialmente como os maiores produtores dessas espécies de ostras perliíferas (SOUTHGATE, 2007).

Apesar do número de espécies e suas amplas distribuições, apenas duas espécies do gênero *Pteria* são cultivadas comercialmente. A ostra *P. penguin* que é cultivada em todo o sudeste da Ásia, Austrália e em algumas nações insulares do Pacífico. Já a espécie *P. sterna* é comercialmente cultivada no México em algumas áreas do Golfo de Califórnia (SOUTHGATE *et al.*, 2008). Para a espécie *P. sterna*, trabalham com duas categorias de pérolas desde o final da década 1990 (meia pérola e pérola inteira). Já a espécie *P. penguin* trabalha apenas como uma categoria de perola, a meia pérola (ALAGARSWAMI *et al.*, 1989; ARJARASIRIKOON *et al.*, 2004 e SOUTHGATE *et al.*, 2008).

Na China, empreendimentos comerciais de produção de meia pérolas em *P. penguin* são desempenhados de maneira lucrativa por duas empresas na Ilha de Hainan e Leizhou Peninsula (YU e WANG, 2003). Só a espécie *P. penguin* conseguiu produzir 44.394 toneladas de pérolas, que representou US\$ 26.636.000, deixando a Indonésia em destaque como o principal produtor mundial (FAO, 2016b).

No Brasil ainda não existem registros de cultivo comerciais de ostras perlíferas. No entanto, devido a esse fator, pesquisadores do Laboratório de Moluscos Marinhos – UFSC iniciaram estudos com a ostra perlífera *P. hirundo* com o objetivo de aumentar opções de cultivos e produtos oriundos de moluscos marinhos no país. Essa espécie de ostra perlífera vem sendo estudada desde 2006, catalogada como um potencial de uma nova espécie para cultivo em Santa Catarina, e a sua escolha sucedeu-se por pertencer à família Pteriidae, que é conhecida e trabalhada em outros países tanto na parte de produção alimentícia quanto na produção de meia pérola. Entretanto, o cultivo da espécie *Pteria hirundo* ainda se dispõe como experimental no estado catarinense, ou seja, não há cultivo comercial de qualquer finalidade da espécie no Brasil (ALBUQUERQUE, 2010).

1.4. Anatomia de tecidos e a estrutura da concha de ostras perlíferas.

1.4.1. Estrutura e anatomia de ostras perlíferas

1.4.1.1. Anatomia geral.

Nos moluscos bivalves, a charneira está no lado dorsal do animal e a abertura mais larga da concha é ventral. A orientação típica da ostra perlífera é com a charneira virada para baixo, anexada ao substrato através do bisso, com o lado ventral mais alto. A boca é situada anteriormente. Os órgãos, numa massa visceral, são anexados dentro dos lobos direito e esquerdo do manto. Após remover uma valva, o grande músculo adutor está na posição posterior-ventral. Ele é separado da massa visceral, exceto dorsalmente, onde a porção do reto livre se liga à massa digestiva (FOUGEROUSE *et al.* 2008).

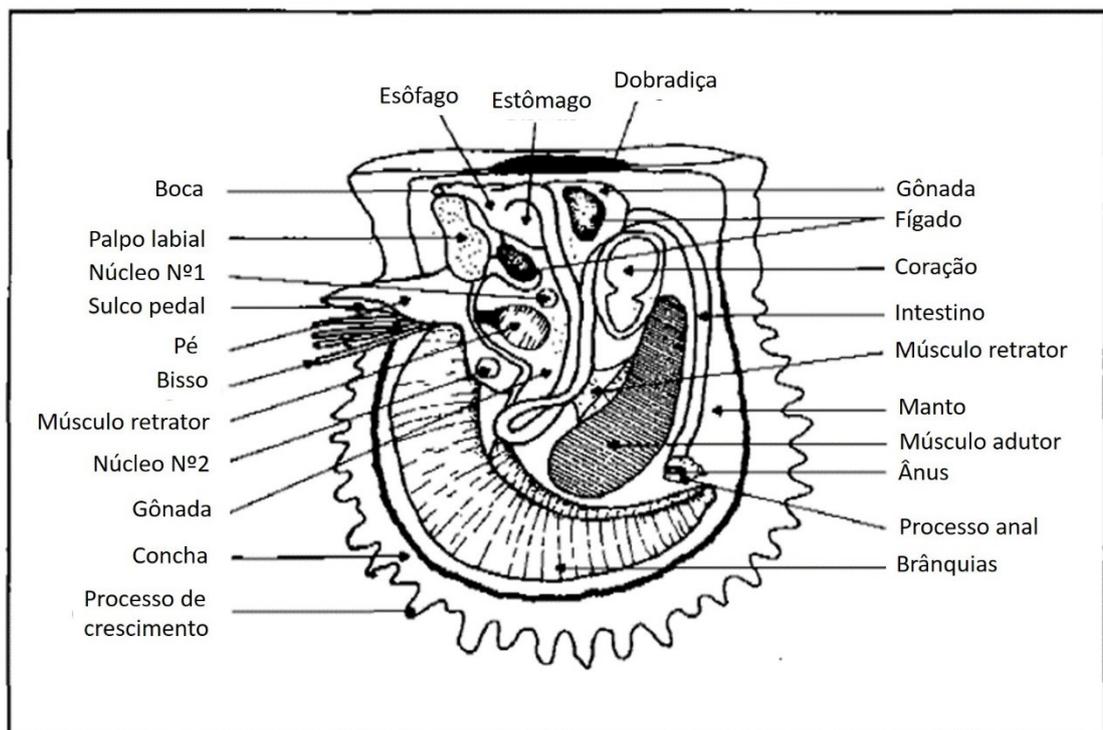
Diferente do gênero *Pinctada*, o gênero *Pteria* possui uma morfologia na concha diferenciada, pois a aurícula posterior é maior do que a aurícula anterior (ALVES, 2010).

O pé e o bisso estão na região anterior, ventral até a boca e cercado pelos palpos labiais. A massa visceral esbranquiçada está localizada na região dorsal,

englobando grande parte do sistema digestivo e as gônadas (Figura 4). A região central, entre o músculo adutor e o pé, contém o coração (um ventrículo claro e duas aurículas escuras), o músculo retrator do pé/bisso e o sistema excretor marrom percorrem ao longo a parte anterior do eixo axial (FOUGEROUSE *et al.* 2008).

Para o gênero *Pinctada*, a “bolsa de pérola” (local onde o núcleo da pérola é colocado durante o processo de nucleação) está localizada ventralmente. Ela contém o laço intestinal, tecido conectivo e a gônada quando o animal está com as células sexualmente bem desenvolvidas. As grandes brânquias pigmentadas estão localizadas entre os palpos labiais (FOUGEROUSE *et al.* 2008).

Figura 4: Anatomia geral da ostra perliífera do gênero *Pinctada*.



Fonte: (GERVIS & SIMS, 1992)

1.4.1.2. Manto.

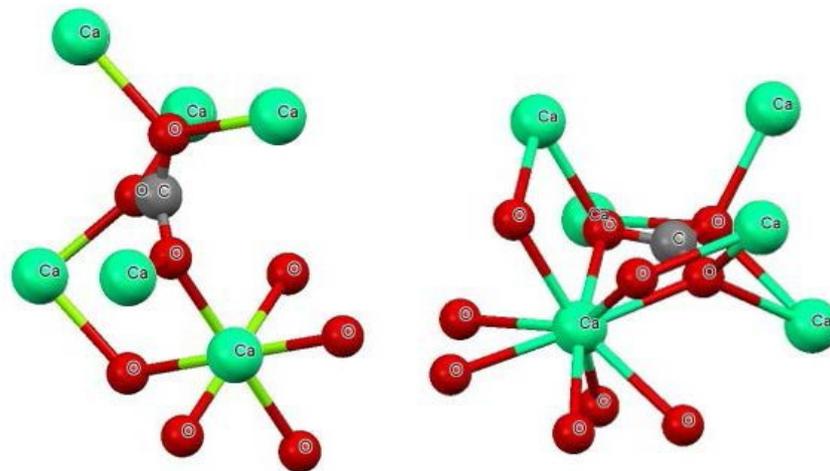
O manto é o órgão mais externo da ostra, com isso ele acaba alinhando o interior das valvas da concha e protegendo todos os outros tecidos moles e órgãos. Sua função fundamental é secretar recobrimento para a construção das valvas da concha e garantir seu crescimento. Consiste em dois lóbulos, que revestem cada

valva. Estes dois lobos estão separados anteriormente, ventralmente e posteriormente. Fundidos à massa visceral e ao músculo adutor, eles se juntam dorsalmente ao longo do ligamento entre valvas para formar o istmo. Cada lóbulo do manto pode ser dividido em quatro zonas: istmo - onde os lobos se fundem dorsalmente ao longo da dobradiça; área central - aderindo à massa visceral e ao músculo adutor; área distal - que é muito contrátil e que mostra muitos feixes musculares radiais que são visíveis a olho nu e a área marginal livre que é grosso e pigmentada e confinada com tentáculos curtos (Figura 5) (VICTOR *et al.*, 1995; FOUGEROUSE *et al.*, 2008).

1.4.1.3. Estrutura da concha.

As conchas são compostas em cerca de 95% de carbonato de cálcio, nas formas isoméricas de calcita e aragonita, e apresentam três camadas de deposição (externa, a média e a interna). A camada externa é composta por matéria orgânica de conchiolina ou perióstraco, com a composição em sua grande parte de origem proteica. A camada média é composta por uma camada prismática (óstraco) de cristais de calcita em uma matriz orgânica. Em outras palavras, os cristais de calcita são cimentados um ao outro por uma fina camada de conchiolina. A camada interna é composta de nácar (hipótraco) ou de madrepérola, e é composta por inúmeras lamelas de cristais de aragonita em uma matriz orgânica (VICTOR *et al.*, 1995; FOUGEROUSE *et al.* 2008). As estruturas dos cristais de aragonita possuem formato romboédrico. A figura 5 mostra a composição química e a forma das moléculas de calcita e aragonita (ANDRADE, *no prelo* 2017).

Figura 5: Imagem tridimensional da estrutura das moléculas de aragonita e calcita



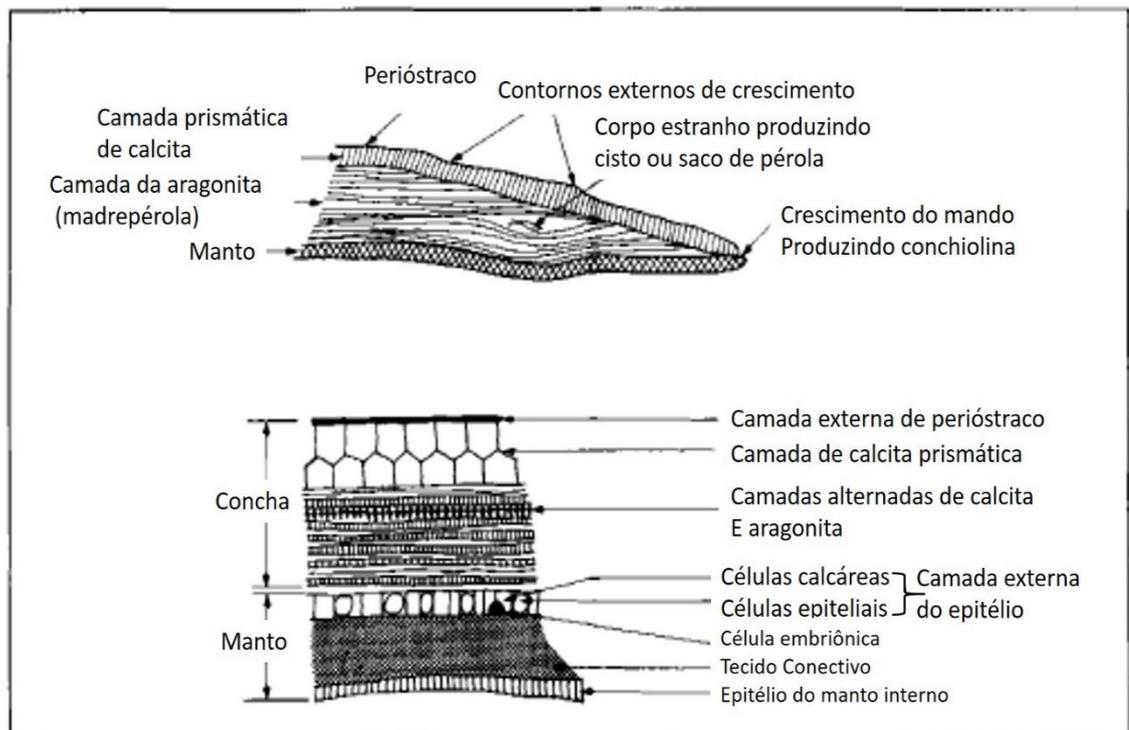
A) **Calcita**, ligação de Ca^{2+} com **seis** moléculas de oxigênio.

B) **Aragonita**, ligação de Ca^{2+} com **nove** moléculas de oxigênio.

Fonte: (ANDRADE, *no prelo* 2017)

A matriz orgânica das camadas é composta de proteínas e polissacarídeos, e ao que tudo indica, são responsáveis pelo direcionamento da formação do cristal de carbonato de cálcio e, inclusive, na formação de espículas de aragonita (MA & FENG, 2015). Em vista disso, são responsáveis pelas propriedades da formação da valva. Os diferentes polimorfismos e microestruturas do cristal das camadas de recobrimento são controlados por proteínas expelidas a partir das células epiteliais externas em diferentes regiões do manto. Em geral, a camada prismática de calcita (externa) está sempre relacionada às proteínas expelidas dos epitélios externos da borda do manto, e a camada nacarada aragonita (interna) está relacionada com a da região dorsal do manto (Figura 6). Além disso, recentemente foi constatado a possível presença de hemócitos granulares no processo de regeneração das valvas (ZHANG, *et al.*, 2006). Portanto, também é possível que várias proteínas da matriz venham dos hemócitos (MOUNT *et al.* 2004).

Figura 6: Imagem esquemática mostrando o aspecto do manto e das camadas de deposição da concha e pérola.



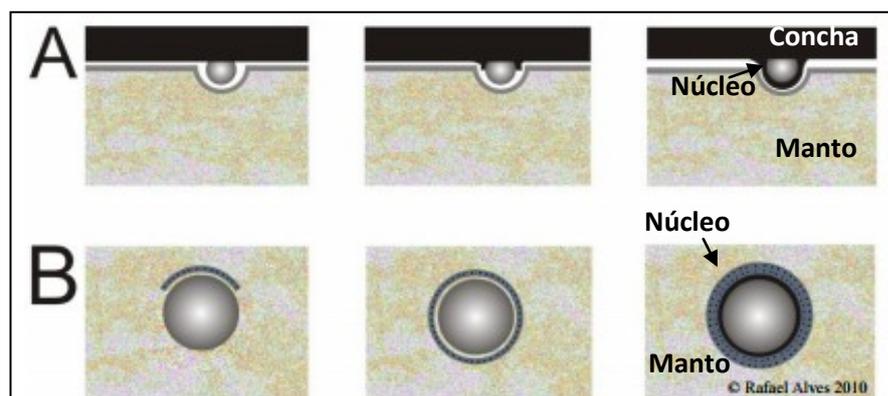
Fonte: (GERVIS & SIMS, 1992)

1.5. Formação de pérolas

A formação de uma pérola natural em uma ostra perliífera consiste na presença de partículas orgânicas e/ou inorgânicas, que se denomina um corpo estranho. Estas pequenas partículas ou até mesmo pequenos organismos entram na ostra quando as valvas estão abertas para alimentação e respiração. Em resposta a este estímulo (defesa), o corpo estranho é invaginado pelo epitélio externo do manto e um “saco perlífero” é formado em torno dele. O termo “saco perlífero” é derivado da camada interna ou externa do epitélio do manto ou das placas de brânquia. As células epiteliais do “saco perlífero” secretam o nácar que se deposita sobre o corpo estranho, formando uma pérola inteira. As pérolas podem ser produzidas dentro do manto, em outros tecidos moles da ostra (saco perlífero) ou até mesmo entre o manto e a superfície interior da concha (FAO, 1991; ALVES, 2010).

Devido a diferentes estratégias para produção de uma pérola, as mesmas podem ser classificadas como meia pérola e pérola inteira. A meia pérola é formada devido a presença de uma partícula estranha que se deposita entre o manto e a concha da ostra. Com o passar do tempo, o manto secreta conchiolina e aragonita, que depositará camadas de nácar na parte de cima da partícula à camada interna da concha (Figura 7 a). Já a pérola inteira consiste quando uma partícula estranha penetra no manto da ostra perlífera, carregando consigo células do epitélio secretor de nácar, e estas se multiplicam envolvendo o objeto estranho em um saco (saco perlífero) e o recobrendo com sucessivas camadas de nácar, criando uma concreção (Figura 7 b) (ALVES, 2010).

Figura 7: Diagrama esquemático da formação de pérolas: A – Formação de meia pérola e B – Formação de pérola inteira.



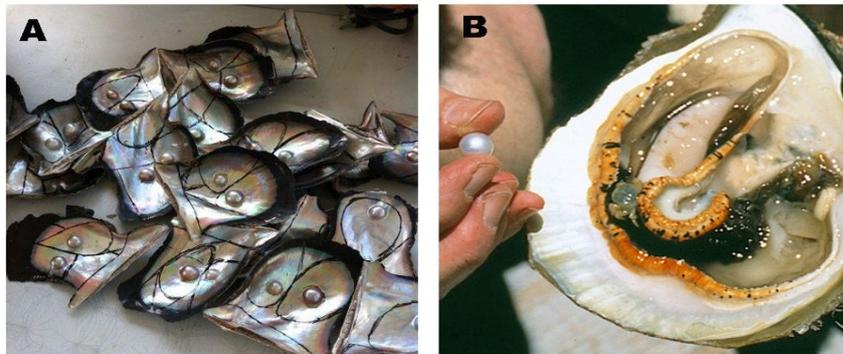
Fonte: Adaptado de ALVES, 2010.

A meia pérola pode ser conhecida na literatura como “blister”, ou até mesmo “mabe”, e não é considerada uma pérola propriamente dita. Devido às suas

questões morfológicas, ela se concretiza como uma protuberância desenvolvida na parede interna da concha (Figura 4 a). Em contrapartida, as pérolas inteiras possuem este termo, devido a formação de uma pérola esférica produzida dentro do manto da ostra, onde se envolve o corpo estranho em um saco perlífero (Figura 4 b) (TAYLOR, 2008; ALVES, 2010).

Figura 8: Exemplos de tipos de pérolas. A - Meia pérola da espécie *Pteria penguin*; B - Pérola inteira da espécie *Pinctada maxima*.

Continuação da Figura 8.



Fonte: foto A: Disponível em: <http://www.martahowell.com/new-gallery-1/>, acessado em: 05/11/2017; foto B: Disponível em: <http://www.sustainablepearls.org/pearl-farming/pearl-farming-world-map/australia>, acessado em: 05/11/2017.

As técnicas aquícolas para obtenção de pérolas podem ser classificadas em dois métodos para obtenção de um produto perlífero diferenciado. A técnica para a produção de uma meia pérola, consiste na inserção de um núcleo artificial na parte interna da valva, fixando-o com material adesivo para garantir a permanência do mesmo na valva e o recobrimento para a formação da protuberância. A outra técnica se aplica à pérola inteira, conhecida popularmente como método Mise-Nishiakawa, que consiste no processo cirúrgico de inserção de um núcleo esférico (constituído geralmente de concha de molusco) e tecido epitelial de moluscos doadores, responsável pela produção da secreção de nácar, onde é inserido dentro do manto. O tempo de resposta para a produção de ambos produtos perlíferos possuem disparidade cronológica devido a fatores intrínsecos para cada espécie, e sendo

assim, podem levar meses ou até mesmo anos (FAO, 1991; GERVIS e SIMS, 1992; WADA, 1996; ALVES, 2010).

1.5.1. Sistema imunológico de moluscos bivalves.

As respostas imunológicas dos moluscos bivalves, apresentam um sistema imune do tipo inato e natural, ou seja, não possui memória imunológica. A hemolinfa é o fluido que preenche os vasos do sistema circulatório dos moluscos, composta por células de defesas do tipo circulantes ou hemócitos. As células de defesas são os principais efetores imuno celulares dos invertebrados. As populações hemócitos são classificados como: hemócitos granulares (apresentam grânulos em seu citoplasma) e hemócitos hialinos (apresentam poucos ou nenhuns grânulos em seu citoplasma) (BARRACCO, 2017).

1.5.2. Biomineralização

A formação de pérolas depende do tipo de processo que a ostra será submetida a um corpo estranho, tipo de pérola (meia ou inteira) e da espécie em que é formada. Contudo, a expressão gênica de genes de biomineralização é necessária. No caso das pérolas inteiras, o manto doador induz a expressão gênica de genes específicos (McGINTY *et al.*, 2011). Recentemente, foi visto que as atividades fagocíticas da resposta imune são importantes também para ativar os genes de biomineralização, através do lançamento de proteínas na matriz em torno do corpo estranho (BUT e RAFTOS, 2008). Foi encontrada para *Pteria penguin* 71 genes de biomineralização (LI *et al.*, 2017) e que parecem também serem regulados por micro RNAs, silenciando os RNAs mensageiros destes genes intercalando suas expressões e coordenando as deposições de aragonita durante a formação da pérola (ZHENG *et al.*, 2015).

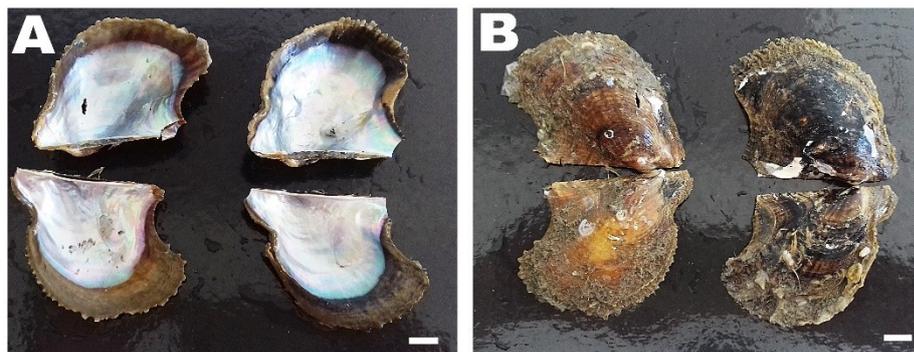
Dentre as expressões gênicas de biomineralização, Yan *et al.* (2007) demonstraram que proteínas do tipo calmodulina, presentes na matriz de concha são essenciais para regular o crescimento da calcita e a nucleação de aragonita. Estes conjuntos de expressões e proteínas do tipo calmodulina são por fim os

responsáveis pelo arranjo das camadas de aragonida, responsáveis pela durabilidade da pérola (TAYLOR e STRAK, 2008) e pela deposição do nácar, este, regulado pela quitina que alinha e encaixa as plaquetas de nácar durante sua formação (OSUNA-MASCARÓ 2015). O nácar é responsável pela iridescência da pérola, o que denota o seu valor comercial (TAYLOR e STRAK, 2008).

1.6. *Pteria hirundo*

A ostra perlífera *Pteria hirundo* (Figura 9) é uma espécie de molusco bivalve, marinha, nativa do Brasil. Pode ser encontrada aderida em corais e conchas das mais diversas profundidades (Rios, 2009). Segundo Abbott (1974), a *P. hirundo* pode ser encontrada em bibliografias com as sinonímias de *Pteria colymbus* (Rödingen, 1798) e *Pteria atlantica* (Lamarck, 1819).

Figura 9: Conchas da ostra perlífera *Pteria Hirundo*.



Fonte: Elaborado pelo autor

No quesito de taxonomia, a classificação da espécie *P. hirundo* (Figura 10) segundo autores Abbott (1974) e Rios (2009).

Figura 10: Taxonomia da ostra perlífera *P. hirundo*.

Filo:	Mollusca
Classe:	Bivalvia
Subclasse:	Pteriomorphia (Beurlen, 1994)
Ordem:	Pterioida (Newell, 1965)
Família:	Pteriidae (Gray, 1847)
Gênero:	<i>Pteria</i> (Scoploi, 1777)
Espécie:	<i>Pteria hirundo</i> (Linnaeus, 1758)

Fonte: (Abbott, 1974; Rios, 2009).

Estudos de etapas de indução a desova, métodos de larvicultura, alimentação das larvas e assentamento em laboratório já foram testados e estabelecidos para *P. hirundo* (ALBUQUERQUE, 2010). Estudos do ciclo reprodutivo, biologia e anatomia funcional (ALVES, 2010), além de recuperação de sementes em sistemas de cultivo no mar (SALVADOR *et al.*, 2011). O crescimento de adultos e sobrevivência (ALVES *et al.*, 2007), crescimento e sobrevivência de juvenis em sistemas de cultivo no mar já foram realizados para esta espécie (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012). Além de sua caracterização morfológica e funcional dos hemócitos para respostas imunológicas contra infecções por vibrio (VIEIRA *et al.*, 2017).

No ano de 2014, o laboratório de moluscos marinhos (LMM) - UFSC iniciou trabalhos acadêmicos voltados para a área de meia pérola, sendo que o primeiro trabalho teve a intenção de conseguir produzir meia pérola através da espécie *P. hirundo*. As pesquisas consistiram em desenvolver uma metodologia de nucleação testando diferentes tipos de colas comerciais, com objetivo de obter uma fixação que não apresentasse deficiências na formação da meia pérola (BACHI, 2015).

Segundo Bachi (2015) por intermédio das pesquisas do LMM, constatou-se que com aproximadamente um mês após a fixação do núcleo já se conseguia visualizar macroscopicamente manifestações de recobrimento. Com aproximadamente sete meses se obtinha meia pérola, e com as análises foi possível

adotar uma cola comercial para o processo de fixação da nucleação. No final do experimento, foi constatada a necessidade de novos estudos relacionados ao desenvolvimento do processo de recobrimento das possíveis meias-pérolas obtidas. Este estudo se torna possível utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), para avaliar com precisão o processo morfológico do recobrimento, identificar o início do recobrimento com exatidão e caracterizar o ciclo do recobrimento.

Este estudo na ostra perlífera *Pteria hirundo* contribuiu como instrumento base de caracterização do ciclo de recobrimento da meia pérola, com isso pode ser confirmado a formação da mesma. Com os resultados obtidos foi possível iniciar um protocolo de cultivo comercial e propor parâmetros de acompanhamento do desenvolvimento para avaliação da qualidade da meia pérola cultivados na região da ponta do Sambaqui (Florianópolis -SC). Nessa perspectiva, o trabalho pode contribuir para diversificar a produção de moluscos, aproveitando a cultura e a tradição do cultivo de outros moluscos já estabelecidos em Santa Catarina.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar o desenvolvimento e processo de recobrimento da meia pérola com o auxílio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

2.2. Objetivos Específicos

- ✓ Avaliar a formação da meia pérola macroscopicamente através das semanas após inserção de núcleo artificial;
- ✓ Caracterizar o ciclo do processo de recobrimento e regularidade do mesmo utilizando a técnica do MEV;
- ✓ Descrever os elementos e estruturas que compõem o recobrimento nas imagens obtidas do MEV;

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Material Biológico

As ostras perlíferas da espécie *Pteria hirundo* (Figura 11) foram fornecidas pelo parque aquícola do Laboratório de Moluscos Marinhos (LMM, CCA, UFSC) na Praia do Sambaqui, Florianópolis, SC (27°29'18,65''S e 48°32'17,96''O). Foram disponibilizadas amostras de ostras adultas com altura média de 58 - 59 cm, extraídos de lanternas definitivas de engorda. Um total de 48 ostras foram utilizados no experimento.

Figura 11: Ostras perlíferas *Pteria hirundo*.



Fonte: Elaborada pelo o autor.

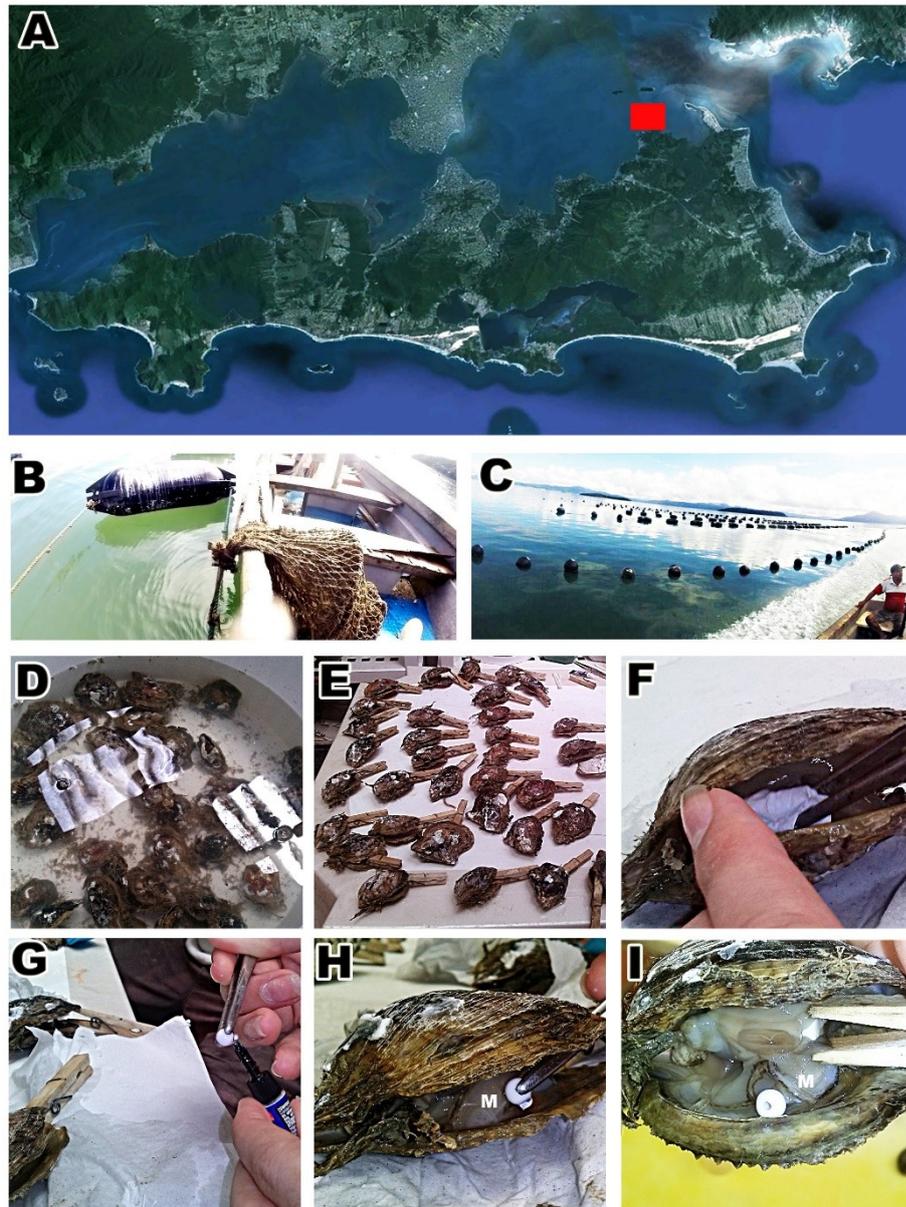
3.2. Local do Experimento e Condições de Cultivo

O experimento ocorreu na unidade de cultivo do LMM na Praia do Sambaqui, Florianópolis, SC (27°29'18,65''S e 48°32'17,96''O) (Figura 12A), e nas instalações laboratoriais foram realizados os procedimentos de anestesia, colagem dos núcleos e o preparo do material para a exposição ao mar. Os animais do estudo foram transferidos para um sistema de cultivo flutuante, mais conhecido como long-lines (Figura 2B), em lanternas de cultivo na densidade de 15 ostras por andar da lanterna.

3.3. Método de Nucleação

Para o relaxamento das ostras foi utilizado o anestésico Propileno Fenoxetol em concentração de $2,5 \text{ mL.L}^{-1}$ diluído em água do mar (ALBUQUERQUE *et al.* 2012). O tempo de exposição foi de 30 minutos, e após o relaxamento do músculo adutor e abertura da concha, foram colocadas cunhas de madeira para facilitar o manuseio e impedir que as valvas se fechassem, para que mesmo após o término do efeito relaxante fosse possível a manipulação (Figura 12 E e D). Foi inserido na valva direita o núcleo esférico de plástico com espessura de 6mm de diâmetro com uso de uma pinça metálica (Figura 12 F e G) (GERVIS & SIMS, 1992). Para fixação dos núcleos foi utilizada a cola Ester de Cianocrilato em gel (GERVIS & SIMS, 1992; BACHI, 2015) . Após a fixação, as ostras manipuladas foram expostas ao ar por aproximadamente 4 minutos até a secagem da cola (Figura 12 H e I). Em seguida, foram transferidos para um recipiente com água do mar sem anestésico, para aclimação por 15 minutos. Posteriormente foram colocadas em lanternas e transferidas para o sistema de cultivo no mar.

Figura 12: A: Mapa da ilha de Santa Catarina com a localização do Laboratório de Moluscos marinhos na praia do Sambaqui (LMM/UFSC); B: Sistemas flutuantes de long line; C: Lanterna definitiva do experimento suspensa; D: *Pterias* sendo anestesiadas, E: Cunha entre as valvas para impedir que se fechem; F: Secagem na parte interior da valva para poder fixar a cola; G-H: Processo de colagem e fixação do núcleo e I: Exposição



ao ar para a secagem da cola.

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4. Processamento das Amostras e análise em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

Foram coletadas amostras de nucleação e manto das ostras, controle (sem o processo de nucleação) e semanalmente entre a 1^a e 15^a semanas após a nucleação. Foram utilizadas repetições amostrais (n=3) em cada tempo, com total utilizado de 45 animais. As amostras foram transferidas para o Laboratório de Biologia Celular Vegetal (LABCEV, BEg, UFSC), onde foram fixadas com 2,5% Paraformaldeído, diluído em tampão fosfato a 0,1 M (pH 7,2) *overnight* (SCHMIDT *et*

al., 2009). As amostras foram desidratadas em série etanólica crescente (30, 50, 70, 90 e 100%), secas com hexadimetil disilazona (HDMS) (nucleação) ou ponto crítico (manto), e em seguida recobertas tanto com carbono quanto com ouro (espessura de 30 nm) para análise no microscópio MEV de modelo 6390 LV (JEOL Ltd., Tokyo, Japão) a 8 kV, analisadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME, UFSC.). Para análise de composição química, foi utilizado o detector de raio X EDS-RX ThermoElectro, acoplado ao microscópio de varredura citado anteriormente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

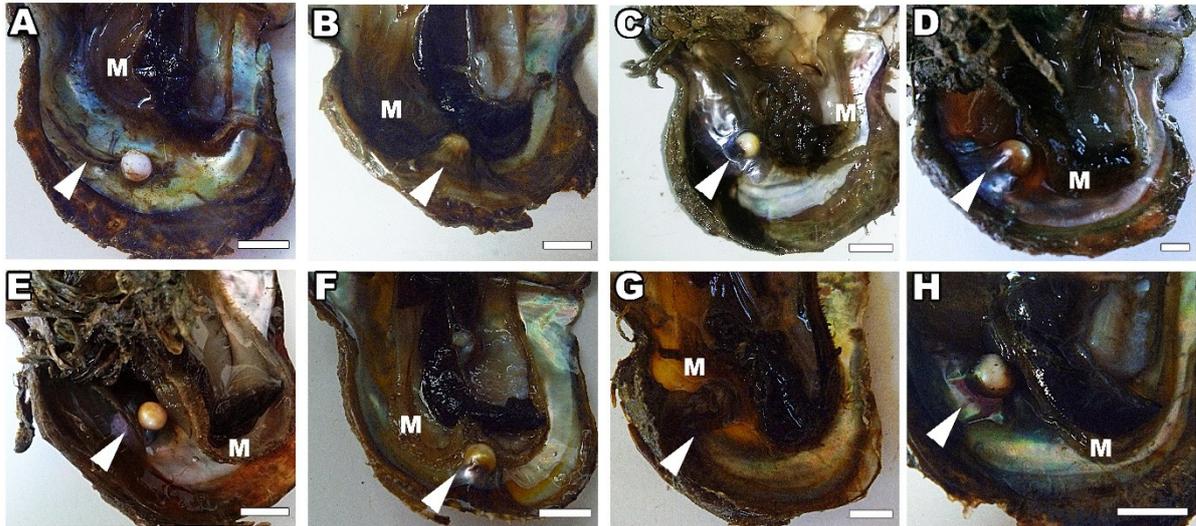
4.1. Recobrimento macroscópico da meia pérola.

Na primeira semana após a inserção do núcleo artificial, foi possível observar os primeiros sinais de recobrimento. Pode-se notar uma singela camada nacarada se aproximando do núcleo (Figura 13 - A). Entre a segunda semana e a terceira semana (Figura 13 - B), o núcleo artificial já estava todo coberto de secreção mucosa, gerando uma aglutinação de secreção por todo o núcleo. Na quarta semana (Figura 13 - C) se iniciou uma mudança na composição da secreção, pois a

camada de recobrimento com características orgânicas começou a sofrer alteração, apresentando características de biomineralização. Com isso, a aglutinação do recobrimento começou a se dissipar do núcleo para a valva. O brilho nacarado começou a se acentuar a partir da quarta semana e já na sexta semana (Figura 13 - D) a parte interior da valva, próximo a região anterior onde o núcleo foi inserido, apresentou uma nova camada de recobrimento intensa que se iniciava da região dorsal e vinha percorrendo sobre a valva até a região ventral. Além disso pode-se se notar a presença de brilho nacarado acentuado.

A partir da sétima semana (Figura 13 - E) até a décima quinta semana (Figura 13 - H) os processos de recobrimento começaram a se assemelhar, e a presença do brilho nacarado começou a se intensificar. Durante as semanas seguintes a sétima semana (Figura 13 - E), o núcleo apresentava uma camada mais grossa de recobrimento. Sendo assim, houve um aumento nas dimensões do núcleo inoculado, dando a origem a meia pérola em fase inicial. Pode-se notar também que o recobrimento gerado possuía translucidez apesar da iridescência do nácar, e com a deposição de camadas ao longo do processo de recobrimento ficou evidente a redução da translucidez a partir da décima quinta semana (Figura 13 - H).

Figura 13: Imagens macroscópicas das ostras *P. hirundo* em processo de recobrimento da meia pérola durante as semanas. A – 1ª semana, B – 3ª semana, C – 4ª semana, D – 6ª, E – 7ª semana, F – 12ª semana, G – 14ª semana e H – 15ª semana. Cabeça de seta indica o processo de recobrimento. M – Estrutura do manto. Todas as barras brancas entre imagens correspondem a 1 cm.



As características translúcidas do recobrimento podem ser justificadas como um recobrimento inicial. A cobertura suficiente de nácar do núcleo para produzir “mabe” de qualidade apropriada requer de 6 a 12 meses de cultivo (GEORGE, 1966; O’SULLIVAN et al., 1998 *apud* RUIS-RUBIO, et al., 2006). Porém em Fiji, mais especificamente na ilha de Vava’u, foram feitos estudos nos períodos de cultivos de meias pérolas na região e com isso foi comprovado que as ostras perlíferas que permaneciam um período de dezoito meses em formação de pérola “mabe”, apresentaram uma qualidade superior, quando comparados a cultivos com períodos mais curtos de processo de formação da “mabe” (YAMAMOTO & TANAKA, 1997). Segundo os autores GERVIS & SIMS (1992), a espessura mínima de recobrimento nacarado de âmbito comercial é de 2 mm. A deposição diária de nácar pode variar de zero a sete camadas por dia, com os principais fatores que determinam a taxa de deposição sendo a temperatura da água e a espécie de ostra perlífera. A qualidade é justificada devido ao fato de arranjos da camada do hipótraco, que é composta de aragonita, elementos estes importantes que dão a forma geral da pérola. Porém,

como não são visíveis, não possuem grande relação na beleza da pérola, mas sim na sua durabilidade. A pérola é finalizada após a colocação da última camada, de nácar. Esta camada está relacionada com a iridescência (brilho), que orienta e produz a beleza da pérola (TAYLOR & STRACK, 2008). O recobrimento com brilho intenso e estrutura consistente, não foi detectado no cultivo experimental devido ao curto período de tempo de formação da meia pérola, de modo que o processo de recobrimento não foi finalizado completamente. Por conseguinte, acredita-se que o nácar não foi completamente depositado até a última semana avaliada.

4.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) do manto.

O tecido do manto no qual a ostra perlífera não sofreu processo de nucleação foi analisado, e as amostras foram denominadas como o Controle (Figura 14 - A e B; Figura 15 - A). A amostragem do Controle mostrou o epitélio externo com poros e microvilosidades bem evidenciados, sem nenhum tipo de secreção aparente (Figura 15 - A). Além disso, os tentáculos digitiformes do manto apresentaram características regulares.

As demais amostras foram submetidas ao processo de nucleação de meia pérola. A primeira semana (Figura 14 - C e D; Figura 15 - B) apresentou ondulações bem intensas no epitélio externo (Figura 14 - C), pois os microvilos estavam sendo cobertos de secreção (Foto 15 - B), o que evidenciou as ondulações do tecido epitelial e recobrimento dos poros, uma vez que deles saíam as secreções (Foto 15 - B). Em comparação com a 1ª semana, a 2ª semana (Figura 14 - D e E; Figura 15 - C) apresentou inchaço nos tentáculos digitiformes do manto (Figura 14 - D e E). As ondulações ficaram bem evidentes (Figura 14 - D e E) e as secreções aumentaram (Figura 15 - C). Na 3ª semana (Figura 14 - F; Figura 15 - D) o inchaço dos tentáculos digitiformes permaneceu (Figura 14 - F), as secreções continuaram intensas (Figura 15 - D) e começaram a aparecer os primeiros cristais definidos (Figura 15 - D). A partir da 5ª semana (Figura 14 - G; Figura 15 - E), o inchaço e as secreções se intensificaram e com isso as ondulações externas do tecido epitelial começaram a se ausentar pela fusão das margens do tecido (Figura 14 - G).

Também foi mais evidente a intensificação da presença e formação definida dos cristais. Na 6^a semana (Figura 14 – H; Figura 15 – F), o processo permaneceu como no da 5^a semana, porém, os cristais apresentaram estruturas maiores e em formas prismáticas. Na 9^a semana (Figura 10 – I; Figura 15 – G), 14^a (Figura 14 – J; Figura 15 – H) e 15^a semana (Figura 14 – K e L ; Figura 15 – L), os tentáculos digitiformes do manto apresentaram um aumento no seu tamanho, devido ao inchaço consecutivo (Figura 14 – I ; Figura 14 – H e h1; Figura 14 – I e i1). As ondulações externas do manto ficaram menos evidenciadas devido aos processos inflamatórios do tecido e secreções eminentes constantes. Por outro lado, os cristais prismáticos se intensificaram e os prismas apresentaram aspectos morfológicos em forma de espículas (Figura 15 – G, H e I). Na 14^a e 15^a semana, os cristais se tornaram tão intensos e maiores, que apareceram nos tentáculos digitiformes em microscopias (MEV) de 300 x (vezes) com menor magnificação (Figura 14 – J; Figura 14 – K e L).

Figura 14: Imagens microscópicas de MEV, evidenciando os tentáculos digitiformes e ramificados do manto, através das semanas. A - Controle; B – magnificação da imagem A; C - 1ª semana; D - 2ª semana; E – magnificação da imagem D; F - 3ª semana; G - 5ª semana; H - 6ª semana; I - 9ª semana; J - 14ª semana; K - 15ª semana; L – magnificação da imagem K. Cabeça de seta (vermelha) corresponde ao ponto de magnificação e a seta (branca) representa os cristais.

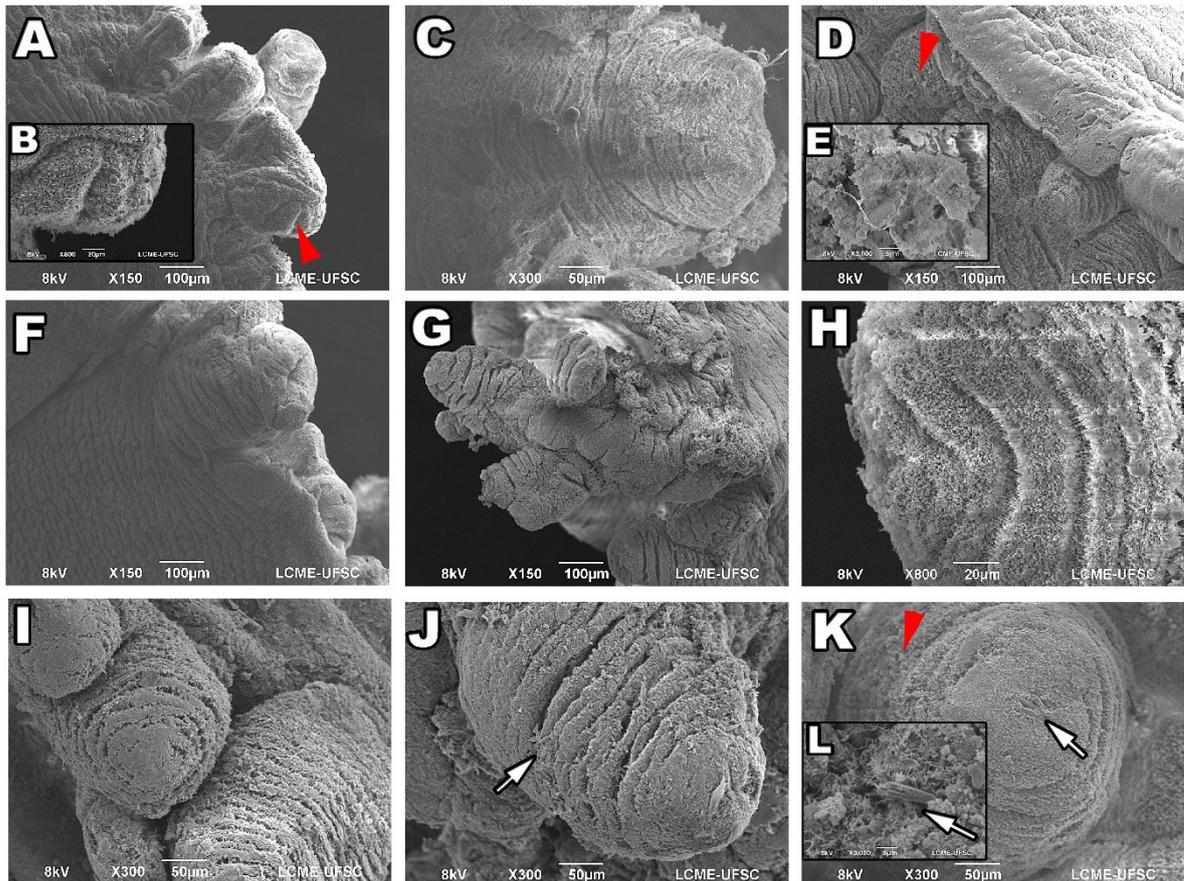
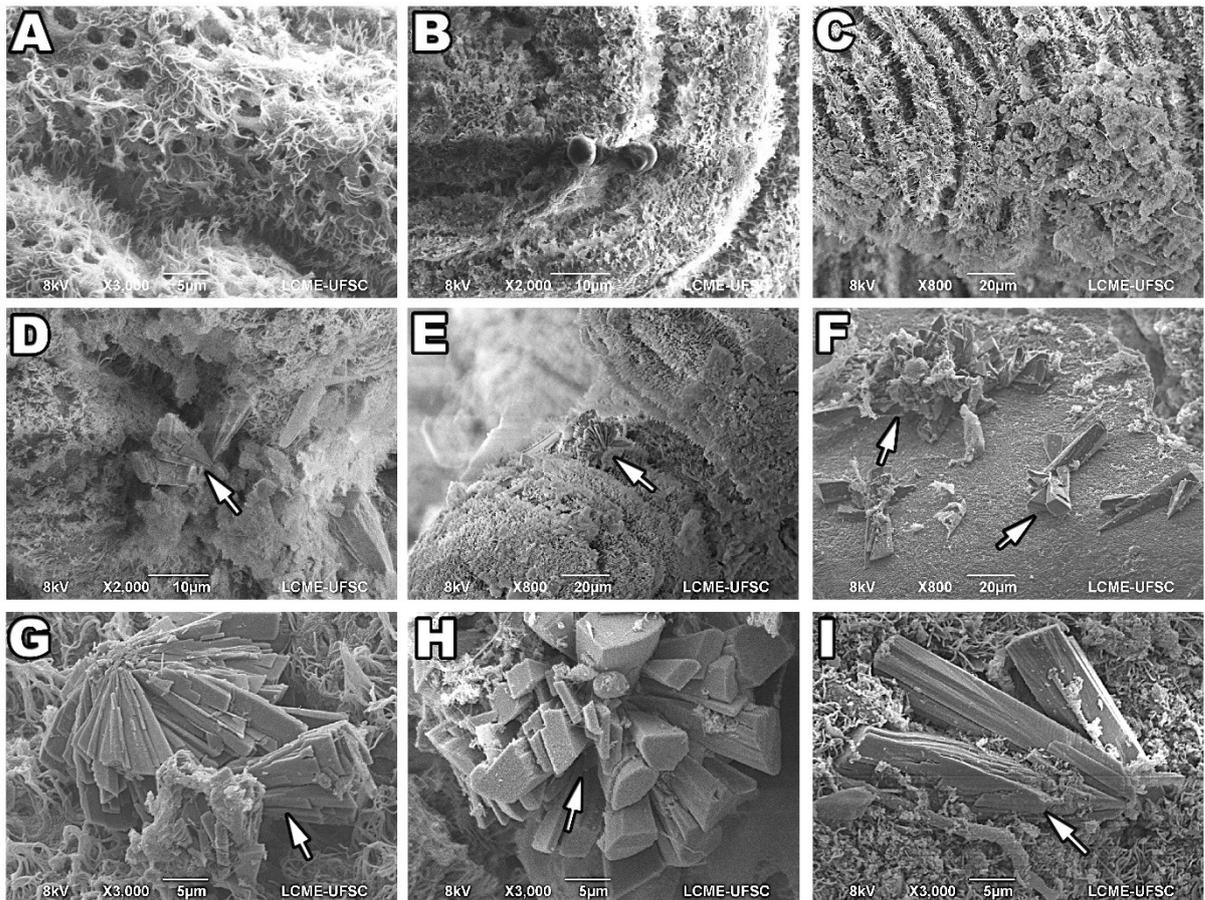


Figura 15: Imagens microscópicas de MEV, evidenciando a superfície e papilas dos tentáculos digitiformes e ramificados do manto, através das semanas. A - Controle; B - 1ª semana; C - 2ª semana; D - 3ª semana; E - 5ª semana; F - 6ª semana; G - 9ª semana; H - 14ª semana; I - 15ª semana. Seta representa posicionamento dos cristais de calcita ou aragonita (CaCO_3).



Os hemócitos desempenham papéis importantes nas respostas imunes do tipo inata nos moluscos bivalves. Estudos indicam que o sistema imunológico parece estar relacionado à biomineralização da concha dos moluscos, principalmente nos processos de crescimento e regeneração (GOU *et al.*, 2015; KISHORE & SOUTHGATE, 2015; SONG *et al.*, 2015). A matriz orgânica da concha é composta de proteínas e polissacarídeos, e tudo indica que são responsáveis pelo direcionamento da formação do cristal de carbonato de cálcio para construção da concha. Os diferentes polimorfismos e microestruturas de cristal das camadas são

controlados por proteínas segregadas a partir de células epiteliais externas em diferentes regiões do manto. Em geral, a camada prismática de calcita externa está sempre relacionada às proteínas segregadas dos epitélios externos da borda do manto, e a camada nacarada de aragonita interna está relacionada com a da região dorsal do manto (ZHANG e ZHANG, 2006).

A *P. hirundo*, ao ser submetida ao processo de nucleação do tipo meia pérola, após uma semana começou a ter as primeiras respostas imunológicas contra o corpo estranho inoculado (núcleo artificial). Os tecidos do manto estavam com seus poros repletos de secreção e suas microvilosidades estavam cobertas pela secreção que eram segregadas do epitélio do manto (Figura 15 - B).

A hemolinfa de *P. hirundo* abriga três populações principais de hemócitos, denominadas granulócitos, hialinócitos e células blásticas (VIEIRA *et al.*, 2017).

Os hemócitos da hemolinfa das ostras perlíferas controlam a formação de cristais de carbonato de cálcio *in vivo*. Na espécie *Pinctada fucata* as células de defesas participam constantemente no processo de biomineralização, conhecidas como populações de hemócitos do tipo granulócitos (LI *et al.*, 2016). Estes poderiam ser liberados do manto através de cavidades secretoras (poros), distribuídas na superfície externa do centro do manto.

Estes granulócitos com cristais são transportados para a frente da biomineralização através do fluido extrapalial (FEP). Os granulócitos são fundidos nas colunas da camada prismática e gradualmente se desintegram com o amadurecimento da concha. Os granulócitos fragmentados acompanham as matrizes orgânicas secretadas a partir das células do manto, para formar o substrato e liberar os cristais de carbonato de cálcio na camada de prismática (LI *et al.*, 2016). Como a *P. hirundo* possui essa célula defesa, tudo leva a crer que os granulócitos podem estar participando do processo de biomineralização.

Na primeira semana (Figura 15 – B) pode-se notar que o manto estava secretando muco de características orgânicas, e que só na terceira semana (Figura 15 - D) foi que começaram a aparecer as primeiras secreções com segmentos de cristais. No final do experimento, na 14^a e 15^a semana, foi possível notar que, conforme a secreção ia aumentando, mais cristais eram formados e suas estruturas prismáticas apresentavam tamanhos maiores e características em

formas de arranjos. Por conseguinte, foi observado que o núcleo recoberto começou a emanar brilho da camada prismática no aspecto macroscópico.

4.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da nucleação.

As análises de nucleação realizadas no MEV mostraram que, na primeira semana, o núcleo apresentou sinais de secreção na sua parte exterior. Já a 2ª semana, o recobrimento cobriu todo o núcleo artificial (Figura 16 – B), além disso, houve secreção aglutinada de padrão rugoso (Figura 17 - A). A partir da 3ª semana o núcleo apresentava-se uniforme (Figura 16 – C), com fusão das aglutinações (Figura 16 – D) e iniciou-se o processo de deposição de camadas de recobrimento (Figura 17 – B). Na 4ª semana, houve as primeiras aparições de cristais (Figura 16 – E; Figura 17 - C), e na quinta semana, houve a reorganização da camada com formatos poligonais (Figura 16 – F; Figura 17 – D). Observou-se na 6ª semana a maior fusão da camada de recobrimento, possivelmente para receber as próximas camadas de deposição e, também em padrões hexagonais (Figura 16 – G) ou escamosos (Figura 17 – E).

Na 7ª semana, observou-se a finalização do processo de recobrimento, com camadas de recobrimento sequenciais, no formato geométrico hexagonal (Figura 16 – H; Figura 17 – F). Foi também nessa fase que se observou que adquiriu a característica macroscópica de meias pérolas. Já na 8ª semana, os cristais apresentavam formas de espículas grandes (Figura 17 – G), com aparente processo de nivelamento dos cristais em porções menores e processo característico de deposição de camadas com aspectos hexagonais (Figura 16 – H). Durante a 9ª semana foi possível observar a regularidade do recobrimento (Figura 12 – I) e a presença de sucessivas camadas de formato hexagonal (Figura 17 – H). No entanto, entre a 10ª até 13ª semanas, foi possível observar a chegada de cristais de dimensões maiores para serem incorporados à próxima camada de recobrimento (Figura 16 – M-Q; Figura 17 – I-L). Para décima quarta e décima quinta semana, foi constatada a presença de cristais maiores e em maiores quantidades (Figura 16 – R-T; Figura 17 – M), e então, na décima quinta semana foi possível notar (através de

uma ruptura no recobrimento) a sobreposição das camadas compostas por cristais (Figura 17 – N).

Figura 16: Imagens microscópicas do MEV, evidenciando o processo superficial de recobrimentos da meia pérola, formada na ostra perliíferas *P. hirundo*, através das semanas. A – 1ª semana; B – 2ª semana; C – 3ª semana; D – magnificação da imagem C; E – 4ª semana; F – 5ª semana; G – 6ª semana; H – 7ª semana; I – 8ª semana; J – 9ª semana; K - 10ª semana; L – magnificação da imagem K; M – 11ª semana; N – 12ª semana; O – magnificação da imagem N; P – 13ª semana; Q – magnificação da imagem; R – 14ª semana; S – 15ª semana; T – magnificação da imagem S e a seta (branca) representa os cristais. Quadrados laranjas representam a área utilizada para magnificação da imagem.

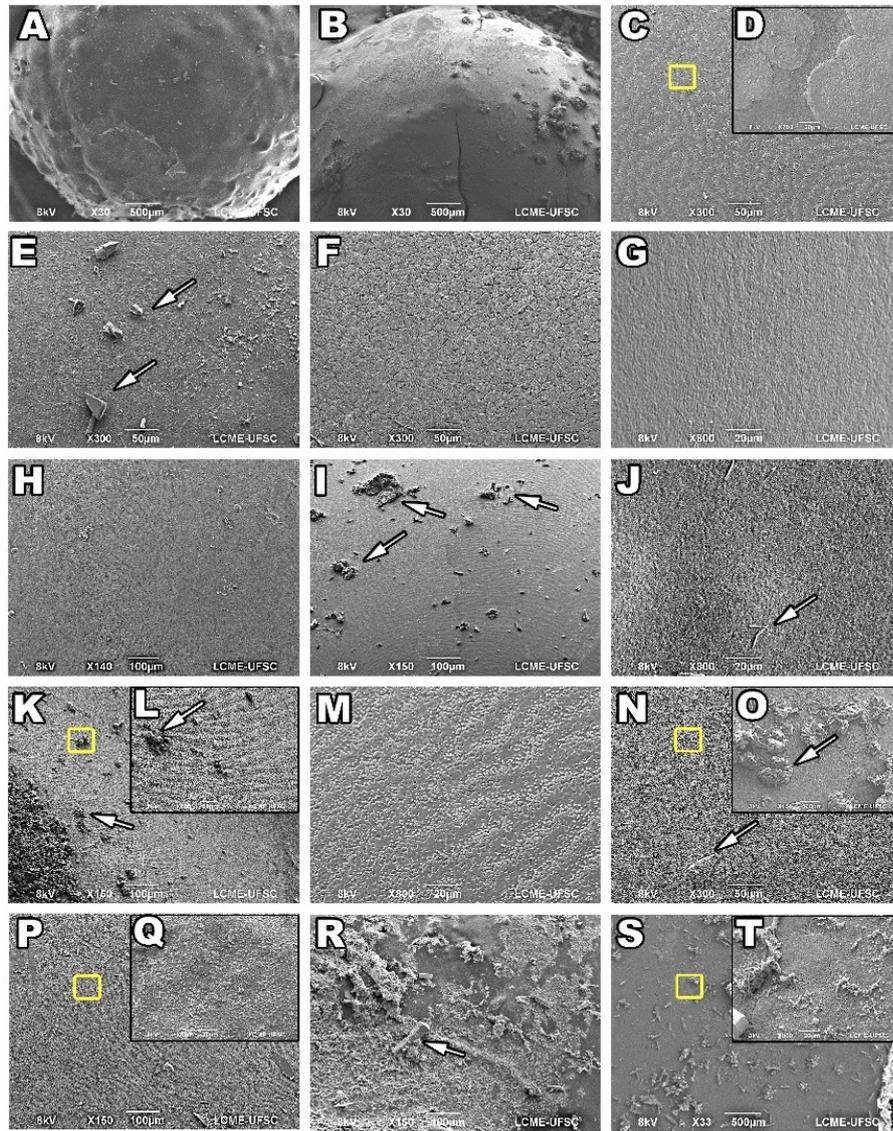
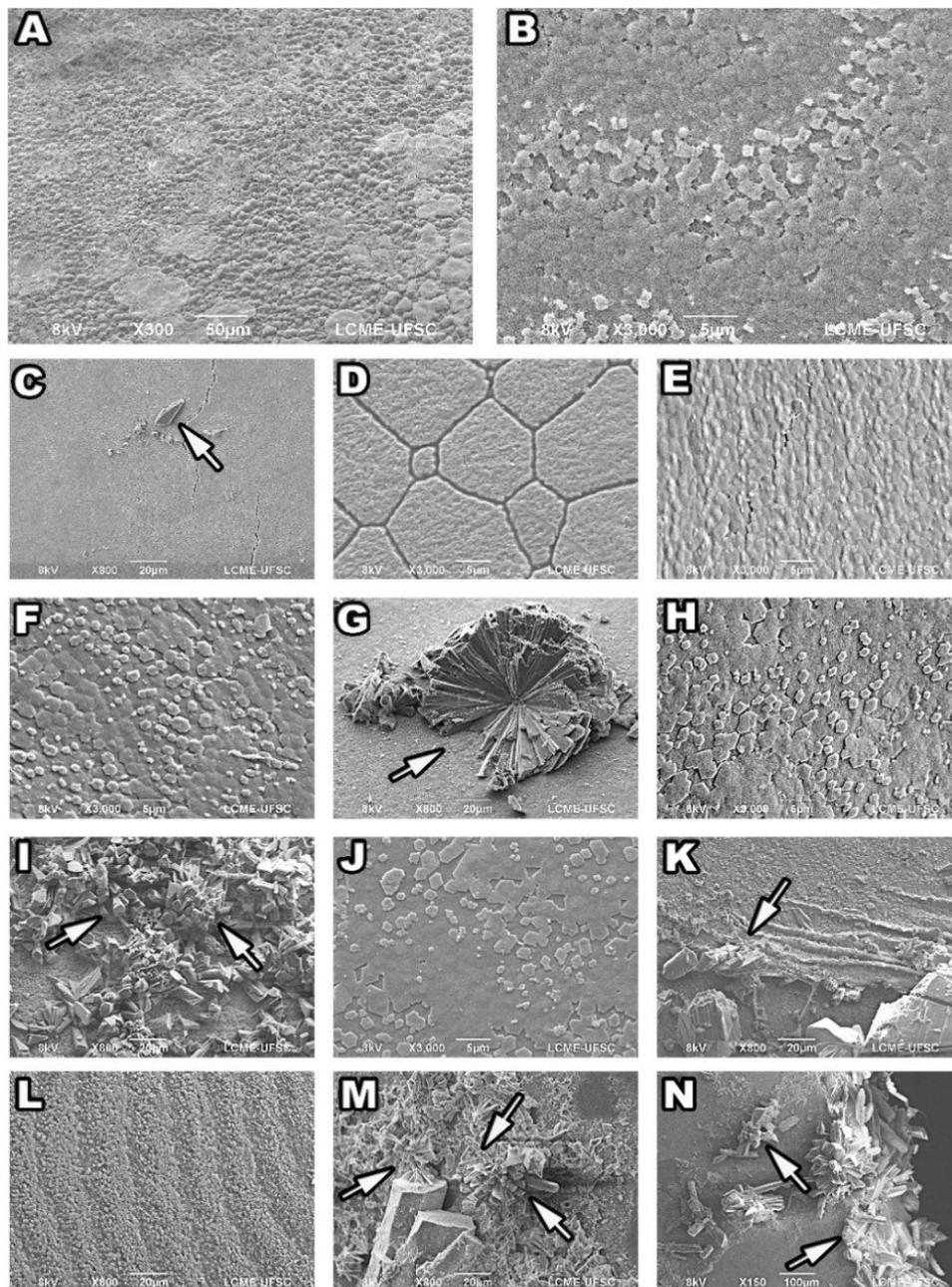


Figura 17: Imagens microscópicas do MEV, evidenciando os detalhes do processo de recobrimento da meia pérola, formada na ostra perliíferas *P. hirundo*, através das semanas. A – 2ª semana; B – 3ª semana; C – 4ª semana; D – 5ª semana; E – 6ª semana; F – 7ª semana; G – 8ª semana; H – 9ª semana; I – 10ª semana; J – 11ª semana K – 12ª semana; L – 13ª semana; M – 14ª semana; N – 15ª semana e a seta (branca) representa os cristais.



Os resultados obtidos com MEV detalharam a biomineralização, e corroboram tanto com a sequência descrita dos resultados obtidos com as mudanças morfológicas macroscópicas, quanto com os processos entre inchaços do manto e suas regressões sobre o núcleo indutor de pérola. Nas primeiras semanas, onde observou-se uma camada translúcida sobre o núcleo, ocorreu uma deposição vista ao MEV de secreção sobre o núcleo. Consta na literatura que esta secreção é composta de substâncias como quitina, sacarídeos e proteínas, como calmodulinas, que possuem a função de direcionar os cristais de cálcio ali depositados (YAN *et al.*, 2007). Esta análise ao MEV sugere que, a partir da quarta semana, as deposições sejam de aragonita como também descrito por Southgate (2007). Os sucessivos recobrimentos do núcleo, observados neste trabalho, sugerem que os grandes cristais sejam depositados e logo após recobertos com uma nova camada secretora com substâncias que direcionam os cristais, para que estes sejam partidos e orientados na formação de camadas (ou *pellets*) em torno do núcleo (OSUNA-MASCARÓ 2015).

Por fim o surgimento de uma fina camada com iridescência, indicando presença de nácar, é visto como o início de uma finalização do recobrimento inicial (OSUNA-MASCARÓ 2015). As secreções, após direcionarem a calcita, formam por fim a camada de nácar (SOUTHGATE *et al.*, 2008). Quanto maior a camada de calcita, maior será a iridescência.

5. CONCLUSÃO

Os principais resultados obtidos pelo presente estudo foram:

- O inchaço dos tentáculos digitiformes durante a formação da meia pérola na ostra perlífera *Pteria hirundo*;
- Secreções de recobrimento emanados pelo tecido do manto;
- Sequências de formações de deposição de camadas;
- Formações de cristas de carbonato de cálcio.

Foi observado sucessivos ciclos de recobrimento do núcleo artificial adesivado em *P. hirundo* para formação da meia pérola. Estes ciclos evidenciaram a intercalação de camadas orgânicas (secreção de muco) com depósitos e concretização de depósito de minerais de carbonato de cálcio. As microscopias de varredura detalharam cada passo destas etapas de recobrimento, mostrando alternância de cristais maiores, e depois a realocação de pequenos cristais para formar uma camada de recobrimento sobre o núcleo da pérola. A finalização mostra externamente o aumento da iridescência que corresponde ao nácar.

A análise ao MEV permitiu o detalhamento de cada etapa de deposição durante o desenvolvimento da pérola. Os resultados coletados foram de extrema importância para o desenvolvimento de protocolos comerciais para o cultivo de ostra perlífera nativa e subsequentemente o acréscimo de mais um ramo da aquicultura no Brasil, a criação e comercialização de meias pérolas de ostras nativas. O tempo de cultivo ideal para a formação de uma meia pérola de qualidade na ostra perlífera *P. hirundo*, é estimado de um a dois anos, pois conseguiriam adquirir uma espessura rígida de qualidade, como outras espécies de com valor econômico, porém é necessário análises de qualidade de joalheria para confirmação. Há, ainda, a necessidade de trabalhos que comparem a qualidade das deposições juntamente com qualidade da água dos locais onde as ostras perlíferas serão cultivadas, bem como necessidades nutricionais e melhorias no protocolo de cultivo. Além disso, estudos complementares devem ser desenvolvidos no que se refere à qualidade da pérola, como seu aspecto externo (formato, coloração), seu brilho e sua rigidez.

6. REFERÊNCIAS

- ABBOTT, R. T. **American Seashells**. New York: Van Nostrad Reinhold, 1974. 663 p.
- ALAGARSWAMI, K.; DHARMARAJ, S.; CHELLAM, A.; VELAYUDHAN, T. S. Larval and juvenile rearing of black-lip pearls oyster, *Pinctada margaritifera* (Linnaeus), **Aquaculture**. v. 76, n. 1-2, p. 62-71, 1989.
- ALBUQUERQUE, M. C. P. **Novas opções de cultivo de moluscos bivalves marinhos no Brasil: *Pteria hirundo* (Linnaeus, 1758) e *Cyrtopleura costata* (Linnaeus, 1758)**. 2010. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2010. 218 p.
- ALBUQUERQUE, M.C.P. **Aplicação de anestésicos em ostra perlífera nativa do Brasil *Pteria hirundo* (L. 1758)**. Relatório de Pós-Doutorado apresentado ao Programa de Pós-Graduação de Aquicultura UFSC. 2012. 54p.
- ALEXANDER, A. E. Pearl and the pearl Industry. In: TRESSLER, D.K.; LEMON, J.M. **Marine products of commerce**. New York: Van Nostrad Reinhold, 1951. p. 107-123.
- ALVES, R.; ZANANDREA, A. C. V.; ALBUQUERQUE, M. C. P.; MAGALHÃES, A. R. M. Crescimento de *Pteriahirundo* (Linnaeus, 1758) em condição de cultivo. In: XX Encontro Brasileiro de Malacologia, 2007, Rio de Janeiro. **Anais do XX Encontro Brasileiro de Malacologia**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Malacologia, 2007. 371 p.
- ALVES, R. **Biologia de *Pteria hirundo*, ostra perlífera nativa do Brasil**. 2010.. Tese (Doutorado em Aquicultura) - Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2010. 163 p.
- ANDRADE, V. M. S. **Algas calcárias da região entremarés da costa brasileira: uma descrição qualitativa e quantitativa dos carbonatos**. 2017. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos, algas e plantas) - Centro de Ciências Biológicas,

Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas, Florianópolis, 2017.102p.

ANDRADE, G. J. P. O. de. Maricultura em Santa Catarina: a cadeia produtiva gerada pelo esforço coordenado de pesquisa, extensão e desenvolvimento tecnológico.. **Extensio Ufsc: Revista eletrônica de extensão**, Florianópolis - Sc, v. 13, n. 24, p.204-217, 2016. Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). <http://dx.doi.org/10.5007/1807-0221>. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/extensio/article/viewFile/1807-0221.2016v13n24p204/33299>>. Acesso em: 05 dez. 2017.

ARANA, L. A. V. **Aquicultura e desenvolvimento sustentável**: subsídios para a formulação de políticas de desenvolvimento da aquicultura brasileira. Ed. UFSC, Florianópolis. 1999. 214 p.

ARJARASIRIKOON, U., KRUATRACHUE, M., BLANC, F., BONHOMME, F. Evidence for male-biased effective sex ratio and recente step-by-step colonization in the bivalve *Pinctada mazatlanica*. **Jornal of Evolutionary Biology**, v.16, p. 790 – 796, 2003.

AVAVULT, J. W. **Fundamentals of Aquaculture**: A Step-by-step Guide to comercial Aquaculture. AVA Publishing. Baton rouge. LA. 1996. 882 p.

BACHI, G. C. **Avaliação de diferentes adesivos para produção de meia pérola na ostra perlífera *Pteria hirundo***. 2015. Trabalho de conclusão de curso (graduação em zootecnia). Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, Santa Catarina, 2015. p. 1–39.

BARRACO, M. A. 2017. Hemolinfa e sistema imune de *Perna perna*. Disponível em: <<http://www.ufpb.br/labipi/contents/capitulos-de-livro/cap1-imunologia-perna-book-chapter-imunologia-perna-perna.pdf> > Acesso em: 06/12/2017

BUTT, D.; RAFTOS, D. Phenoloxidase-associated cellular defence in the Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata*, provides resistance against QX disease infections. **Developmental and Comparative Immunology**, v. 32, 299–306. 2008.

CEDAP. **Síntese Informativa da Maricultura** 2015. Florianópolis. 8 p.

FAO 1991. **Pearl oyster farming and pearl culture – training manual 8**. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB726E/AB726E11.htm>> Acesso em: 31/10/2017.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture** - Contributing to food security and nutrition for all. Roma. 200 p. 2016 a.

FAO. **Yearbook 2014 Fishery and Aquaculture Statistics** – Aquaculture Production. II, 246 p. 2016 b.

FERREIRA, J. F. Repensando o mar para o século XXI – Maricultura. In: **II Workshop Regional Sul sobre o Mar**. Florianópolis, p. 83-89, 1998.

FERREIRA, J. F.; MAGALHÃES, A. R. M. Cultivo de mexilhões. In-**Aquicultura: Experiências brasileiras**, orgs. Poli, C. R., Poli, A.T.B., Andreatta, E., Beltrame, E. Multifatorial editor. Florianópolis, 2004. p. 221-250.

FERREIRA, J. F.; SILVA, F. C.; GOMES, C. H. A.; FERREIRA, F.M. Produção programada e rastreabilidade de larvas e sementes de moluscos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** (Impresso), v. 35, p. 192-197, 2011.

FOUGEROUSE, A.; ROUSSEAU, M.; LUCAS, J. S. Soft tissue anatomy, shell structure and biomineralization. In: SOUTHGATE, P.C.; LUCAS, J. (Eds.) **The pearl Oyster**. Elsevier 1st Ed, 2008. p. 77 - 102.

GERVIS, M.H.; SIMS, N.A. **The biology and culture of pearl oysters (Bivalvia:Pteriidae)**. ICLARM Stu. London. Rev. 21, 1992. p. 49.

GUO, X.; HE, Y.; ZHANG, L.; LELONG, C.; JOUAUX, A. Immune and stress responses in oysters with insights on adaptation. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 46, n. 1, p. 107–119, 2015.

KRIPA, V.; MOHAMED, K.S.; APPUKUTTAN, K.K.; VELAYUDHAN, T.S. Production of Akoya pearls from the southwest coast of India. **Aquaculture**. v. 262, 347–354. 2007.

- KISHORE, P & SOUTHGATE, P. C. Haemocyte persistence after grafting for pearl production in *Pinctada margaritifera* (Linnaeus, 1758). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 42, n. 2, p. 530–532, 2015.
- LI, H.; LIUA,B.; HUANG, G.; FANA, S.; ZHANGA, B.; SU, J.; YUA, D. Characterization of transcriptome and identification of biomineralization genes in winged pearl oyster (*Pteria penguin*) mantle tissue. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part. 21 p. 67–76. (2017).
- LI, S.; LIU, Y.; LIU, C.; HUANG, J.; ZHENG, G.; XIE, L.; ZHANG, R. Hemocytes participate in calcium carbonate crystal formation, transportation and shell regeneration in the pearl oyster *Pinctada fucata*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 51, p. 263–270, 2016.
- MA, Y.; FENG, Q. A crucial process: organic matrix and magnesium ion control of amorphous calcium carbonate crystallization on β -chitin film. **CrystEngComm**, v. 17, 32–39, 2015.
- MACKENZIE, C. L.; TROCCOLI, L.; LEON, B. L. History of the Atlantic pearl-oyster, *Pinctata imbricata*, industry in Venezuela and Colombia, with biológica and ecological observations. **Marine fisheries review**. v.65, n.1, p. 1-20. 2003.
- MATLINS, A. L. **The Pearl Book**: The Definitive Buying Guide: How to Select, Buy, Care for & Enjoy Pearls. GemStone Press, Woodstock, 1996. 198 p.
- McGINTY, E. L.; ZENGER, K. R.; TAYLOR, J. U. U.; EVANS, B. S.; JERRY, D. R. Diagnostic genetic markers unravel the interplay between host and donor oyster contribution in cultured pearl formation. **Aquaculture**, v. 316. p. 20–24. 2011.
- MOUNT, A. S.; WHEELER, A. P.; PARADKAR, R. P.; SNIDER D. Hemocyte-Mediated Shell Mineralization in the Eastern Oyster. **Science**, v. 304, pp. 297-300. 2004.
- NAGAI, K. A History of the Cultured Pearl Industry. **Zoological Science**, v. 30, p. 783. 2013.
- NORTON, J.H.; LUCAS, J.S.; TURNER, I.; MAYER, R.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, 1–17. 2000.

OGIMURA, T., FUTAMI, K., KATAGIRI, T., MAITA, M., GONÇALVES, A.T., ENDO, M., Deformation and blemishing of pearls caused by bacteria. **Fisherie Science** 78, 1255–1262. 2012.

OSUNA-MASCARÓ, A. J.; CRUZ-BUSTOS, T.; MARIN, F. CHECA, A. G. Ultrastructure of the Interlamellar Membranes of the Nacre of the Bivalve *Pteria hirundo*, Determined by Immunolabelling. **Plos one**, p. 1-12. 2015

RIOS E. C. **Compendium of Brazilian sea shells**. Editora Evangraf, Brasil, 2009. 668P

RUIZ-RUBIO, H.; ACOSTA-SALMÓNAC, H.; OLIVERAABD, A.; SOUTHGATEC, P. C.; RANGEL-DÁVALOSAE, C. The influence of culture method and culture period on quality of half-pearls ('mabé') from the winged pearl oyster *Pteria sterna*, Gould, 1851, v. 254, p. 279-274, 2006.

SALVADOR, G.C., ALBUQUERQUE, M.C.P.; FERREIRA, J.F. Influence of the collector type and at-sea cultivation period on seeds recovery rate and growth out of *Pteria hirundo* in southern Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 37 (4): 327-340. 2011.

SCHMIDT, E. C.; SCARIOT, L. A.; ROVER T.; BOUZON, Z. L., Changes in ultrastructure and histochemistry of two red macroalgae strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales), as a consequence of ultraviolet B radiation exposure. **Micron**, v. 40, 860-869. 2009.

SILVA, N.J.R. da. A extensão rural e o desenvolvimento da aquicultura. **Panorama da aquicultura**, [S.l.] p. 50-53, 2011.

SONG, L.; WANG, L.; ZHANG, H.; WANG, M. The immune system and its modulation mechanism in scallop. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 46, n. 1, p. 65–78, 2015.

SOUTHGATE P. C.; BEER, A. C. Hatchery and early nursery culture of black lip oyster (*Pinctada margaritifera* L.). **Journal of Shellfish Research**, v. 16, n.2, p. 561-567, 1997.

SOUTHGATE, P. C. Pearl oyster culture. In: SOUTHGATE, P.C.; LUCAS, J. (Eds.) **The pearl Oyster**. Elsevier 1st Ed, 2008. p. 231-272.

SOUTHGATE, P. C. Overview of the cultured marine pearl industry. In- **Pearls oyster health management: a manual**, ed. Bondad-reantso; M.G.; Megladdery, S.E & Berthe. F. C. J., FAO, Rome, p 7 -17. 2007.

SOUTHGATE, P. C., STRACK, E., HART, A., WADA, K. T., MONTEFORTE, M., CARIÑO, M., LANGY, S., LO, C., ACOSTA-SALMÓN, H., WANG, A. Exploitation and culture of major commercial species. In: SOUTHGATE, P. C.; LUCAS, J. S. (ed.). **The Pearl Oyster**. Oxford, UK: Elsevier, 2008, p. 303-355.

STRACK, E. **Introduction**: the pearl oyster eds P. C. SOUTHGATE and J. S. LUCAS. Elsevier, Oxford. 2008. p 474.

TAYLOR, J. J.; STRACK, E. Pearl production. In: SOUTHGATE, P. C., LUCAS, J. S. (ed.) **The Pearl Oyster**. Oxford, UK: Elsevier. p. 2008. 273-302.

VIEIRA, G. C.; DA SILVA, P. M.; BARRACO, M. A.; HERING, A. F.; ALBUQUERQUE. M. C. P.; COELHO, J. R.; SCHIMIDT, E. C.; BOUZON, Z. L.; ROSA, R. D.; PERAZZOLO, L. M. Morphological and functional characterization of the hemocytes from the pearl oyster *Pteria hirundo* and their immune responses against *Vibrio* infections. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 70, p. 750–758, 2017.

VICTOR, A. C. C.; CHELLAN, A.; DHARMARAJ, S.; VELAYUDHAN, T. S. Manual on pearl oyster seed production, farming and pearl culture. **CMFRI Special Publication**, v. 63, n. 1, p. 60, 1995.

WADA, K. T.; KOMARU, A. Color and weight of pearls produced by grafting the mantle tissue from a selected population for white shell color of the Japanese pearl oyster *pinctada fucata martensii* (Dunke), **Aquaculture**, v. 142, n.1, p. 25-32, 1996.

YAMAMOTO, T. & TANAKA, H.. Potential of commercial development of mabe pearl farming in Vava'u islands, Kingdom of Tonga. 1997. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/005/AC896E/AC896E04.htm>>. Acesso em: 18 nov. 2017.

YU, X., M. WANG.. The farming of and cultivating of wing oyster *Pteria penguin* in Southern China. Secretariat of the Pacific Community, **Pearl Oyster Information Bulletin** 16, Nouméa, Nova Caledonia. 665 p. 2004.

ZANG, C. & ZANG, R. Matrix Proteins in the Outer Shells of Molluscs. **Marine Biotechnology**. V. 8, p. 572 – 596, 2006.

ZHENG, Z.; JIAO, Y.; DU, X.; TIAN, Q.; WANG, Q.; HUANG, R.; DENG, Y. Computational prediction of candidate miRNAs and their potential functions in biomineralization in pearl oyster *Pinctada martensii*. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 23, p. 372–378. 2016.