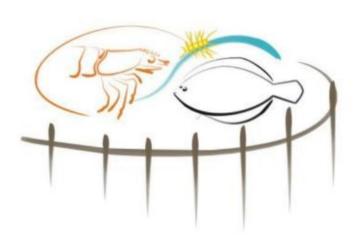


# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA



# PERÍODO REPRODUTIVO DO MARISCO BRANCO Amarilladesma mactroides (REEVE, 1854) NO EXTREMO SUL DO BRASIL

IRENE MELISSA HERRERA PEREZ

RIO GRANDE, RS

Março de 2023

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE - FURG INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

| PERÍODO REPRODUTIVO DO MARISCO BRANCO Amarilladesma mactroid | les |
|--|-----|
| (REEVE, 1854) NO EXTREMO SUL DO BRASIL.                      |     |

#### IRENE MELISSA HERRERA PEREZ

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande - FURG.

Orientador: Dr. Ronaldo O. Cavalli

RIO GRANDE, RS Março de 2023

|  | Ficha Catalográfica |  |
|--|---------------------|--|
|  |                     |  |
|  |                     |  |
|  |                     |  |

# ÍNDICE

| AGRADECIMENTOS   | viii |
|--|------|
| LISTA DE TABELAS   | ix   |
| LISTA DE FIGURAS   | x    |
| RESUMO   | 1    |
| ABSTRACT   | 2    |
| 1. INTRODUÇÃO  | 3    |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA   | 5    |
| 3. OBJETIVO  | 12   |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS  | 12   |
| 4.1 Coleta e biometria do marisco branco                                   | 12   |
| 4.2 Histologia das gônadas   | 14   |
| 4.3 Determinação da composição bioquímica                                  | 15   |
| 4.4 Análises imunológicas  | 18   |
| 4.5 Análise dos dados  | 19   |
| 5. RESULTADOS  | 20   |
| 5.1 Parâmetros físico-químicos   | 20   |
| 5.2 Biometria  | 21   |
| 5.3 Histologia   | 24   |
| 5.4 Concentrações de proteína bruta, lipídios totais, glicogênio e lactato | 26   |
| 5.5 Análises imunológicas  | 31   |
| 6. DISCUSSÃO   | 33   |
| 7. REFERÊNCIAS   | 39   |

### **DEDICATÓRIA**

A presente dissertação é dedicada à minha mãe, Irene Perez Cubas, e ao meu pai, Jose Miguel Herrera Cornejo. Amo vocês. Vocês são meu exemplo e guia neste caminhar chamado vida.

Igualmente a meus avós falecidos, Teresa Cubas Albitres, Elias Perez Herrera e Eduardo Herrera Valladares, e para minha avó, que tem 101 anos, Irene Cornejo. Obrigada por todo o amor brindado. Vocês sempre ficam em meu coração e pensamentos. Amo vocês.

Assim como, a meus irmãos Omar Herrera, Eder Herrera, Heidy Herrera, José Herrera, Irene Marisella Herrera e Johana Herrera; meus sobrinhos Camila Herrera, Carlos Campos, Lindsay Herrera, Stacy Campos, Valery Campos, Brihana Herrera, Alessio Herrera, Mishelle Herrera, Antoine Herrera, Ireana Luján Jaime, Maria José Herrera; e meus amados padrinhos Doris Perez e Guillermo Herrera.



#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura pela oportunidade de cursar o mestrado e a CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Agradeço aos doutores Carlos Prentice Hernandez e Nuria Méndez Ubach por me abrir as portas para continuar na linha de pesquisa, sua confiança, seus conselhos e motivação para continuar na área científica. Lamento seu falecimento. Muito Obrigada, sempre ficaram em meu coração.

Agradeço meu orientador Ronaldo Cavalli, por seu apoio nas coletas ao longo do ano e seu acompanhamento na realização do presente trabalho.

Agradeço aos professores José Maria Monserrat, Luis Romano e Virgínia Pedrosa, por suas assessorias no trabalho.

Agradeço a meus colegas por seu apoio nas coletas e no laboratório, especialmente a Nahome Santos e Raira Nogueira.

Agradeço a Anderson, o motorista, por me acompanhar nas coletas quando precisava.

Agradeço a meus colegas que se tornaram amigos e por seu apoio nas coletas e no laboratório: Pablo Fernando, Nathália Byrro, José Artur Marcelino, Sandro San Miranda, Larissa Midori, Ana Paula Felipe, Astrid Muñoz, Rafael Buitrago; e amigos que eu fiz com o tempo: Jennifer Villavicencio, Ruth Guzmán, Elizabeth Saurique, Juliana Herrera, Jair González, Thais Teixeira, e Brandon Quintero. Obrigada por me conhecer, e ensinar sobre amizade, por compartilhar momentos divertidos e de tristeza, e pelas longas conversas. Fico muito feliz de conhecer pessoas maravilhosas. Muito obrigada.

Agradeço, a minhas melhores amigas do Peru por seu apoio brindado e longas conversas: Sofia Reyes, e Maria Paz.

Agradeço a minha família do Peru, por suas saudações e sempre perguntar por mim.

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Desenvolvimento gonadal do marisco branco *Amarilladesma mactroides* (Adaptado de Herrmann et al. 2009 e Bernardes 2021)......Erro! Indicador não definido.

Tabela 3. Valor médio (± DP) mensal da altura (H, mm), largura (L, mm), comprimento (C, mm), peso úmido (Wúmido, g) e seco do corpo mole (Wseco, g), peso seco das valvas (WsecoV, g) e índice de condição (CI) do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletado na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022. Valores entre parênteses representam o número amostral (n). Letras superscritas indicam diferença significativa entre os meses (p< 0.05).......Erro! Indicador não definido.

Tabela 4. Valores médios (± DP), mínimos e máximos do diâmetro dos ovócitos (μm), número de fêmeas amostradas (F) e total de ovócitos medidos (n) do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletadas mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022 (nd = não determinado). ......**Erro!** Indicador não definido.

# LISTA DE FIGURAS

| Figura 1. Diagrama sobre apresentação das mudanças entre o alimento e o metabolismo de um bivalve e seu meio ambiente. Adaptado de Albert (2002) e Sokolova (2021)Erro! Indicador não definido.2  |
|---|
| Figura 2. Medidas de altura total (H), comprimento total (C) e largura (L) do marisco branco <i>Amarilladesma mactroides</i>  |
| Figura 3. Medição do diâmetro dos ovócitos com forma irregular  |
| Figura 4. Medição do diâmetro dos ovócitos com forma redonda  |
| Figura 5. Secções histológicas das gônadas de fêmeas do marisco branco <i>Amarilladesma mactroides</i> coletadas mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022 (aumento 10 x)24   |
| Figura 6. Valores médios (barras azuis) e máximos (barras laranjas) dos diâmetros dos ovócitos do marisco branco <i>Amarilladesma mactroides</i> coletados mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 202225                        |
| Figura 7. Médias das concentrações (%) de proteína bruta (linha azul) e de lipídios totais (linha laranja) no corpo mole do marisco branco <i>Amarilladesma mactroides</i> coletado mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022 |
| Figura 8. Concentração média de glicogênio (mg.g-1) no corpo mole do marisco branco   |
| Amarilladesma mactroides coletado mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS,  |
| no período de outubro de 2021 a setembro de 2022.   |
| 29  |
| Figura 9. Concentrações médias de lactato (mg.g <sup>-1</sup> ) no corpo mole do marisco branco   |
| Amarilladesma mactroides coletado mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS,  |
| entre outubro de 2021 e setembro de 2022  |
|   |

#### **RESUMO**

O marisco branco, Amarilladesma mactroides, é um bivalve de areia naturalmente encontrado na zona infralitoral das praias do Rio de Janeiro, Brasil, até o norte da Argentina. Esta espécie vem sofrendo fortes pressões ambientais e antropogênicas nos últimos anos, o que fez com que várias populações colapsassem. Embora estudos recomendem a produção de juvenis em cativeiro, a tecnologia de produção em laboratório não está disponível, o que impede a análise da viabilidade do repovoamento de ambientes naturais ou mesmo sua aquicultura. Esta dissertação, portanto, teve como objetivo estimar o período reprodutivo de fêmeas de A. mactroides no extremo sul do Brasil por meio da análise do desenvolvimento ovariano com ferramentas histológicas em conjunto com a determinação das variações da composição bioquímica. De outubro de 2021 a setembro de 2022, coletas mensais de, pelo menos, 100 mariscos foram realizados na praia do Cassino, Rio Grande, RS, sul do Brasil. Foram medidos o comprimento, altura, largura, peso úmido total (valvas e corpo mole), peso úmido das valvas e do corpo mole; e o peso seco do corpo mole e das valvas, e realizadas análises de proteína bruta, lipídios totais, glicogênio e lactato. Adicionalmente, foram realizadas análise histológica das gônadas, incluindo diâmetro dos ovócitos, e de imunologia. Os resultados indicam que, no extremo sul do Brasil, o marisco branco apresenta dois períodos reprodutivos, um mais intenso na primavera (outubro e novembro) e outro menos no outono-inverno (de maio-junho a setembro). A definição do período reprodutivo do marisco branco foi possível graças à análise histológica dos ovários, em especial a medição do diâmetro dos ovócitos. O índice de condição e as concentrações de lipídios totais e glicogênio dos tecidos moles também se mostraram ferramentas úteis na caracterização da reprodução desta importante espécie de bivalve.

Palavras-chaves: Bivalve, reprodução, composição bioquímica, histologia, imunologia.

#### **ABSTRACT**

The yellow clam, Amarilladesma mactroides, is a sand bivalve naturally found in the infralittoral zone of beaches from Rio de Janeiro, Brazil, to the north of Argentina. This species has experienced strong environmental and anthropogenic pressures in recent years, which has caused several populations to collapse. Although previous studies recommend the production of juveniles in captivity, hatchery technology is not yet available, which prevents the analysis of the viability of the repopulation of natural environments or even its aquaculture. This study, therefore, estimated the reproductive period of A. macroides females in southern Brazil through the histological analysis of ovarian development in conjunction with the determination of variations in biochemical composition. From October 2021 to September 2022, monthly samples of at least 100 clams were carried out at Cassino Beach, Rio Grande, RS, extreme southern Brazil. The length, height, width, total wet weight (valves and soft body), and dry weight of the soft body and valves were measured, and analyzes of gross protein, total lipids, glycogen and lactate. Additionally, histological analysis of the gonads was performed, including oocyte diameter, and immunology. Our results indicate that in southern Brazil, the white clam has two reproductive periods, one more intense in spring (October and November) and one less in the fall-winter (from May-June to September). The definition of the reproductive cycle of the white clam was possible thanks to the histological analysis of the ovaries, especially the measurement of oocytes diameter. The condition index and the concentrations of total lipids and glycogen were also useful tools in characterizing the reproductive cycle of this important species of bivalve.

**Keywords:** Bivalve, reproduction, biochemical composition, histology, immunology.

## 1. INTRODUÇÃO

Os moluscos bivalves exercem importantes funções na cadeia trófica, na estrutura e nos processos ecológicos, estando relacionados a vários serviços ecossistêmicos (Joyce et al. 2021; Silva et al. 2021). Eles representam também um importante recurso econômico por apresentar espécies de alto valor comercial, como ostras, mexilhões, vieiras e mariscos (Venugopal & Gopakumar 2017; Wahidullah et al. 2021). Em vista disso, nas últimas décadas, o setor aquícola está tendo um crescimento importante e contribuindo significativamente para a segurança alimentar (FAO 2022a). Em 2020, a produção da aquicultura mundial alcançou 122,6 milhões de toneladas de pescado (FAO 2022a). Deste montante, a produção de moluscos foi estimada em 17,7 milhões de toneladas, representando um valor total de US\$ 29,8 bilhões de dólares.

A demanda por bivalves no mercado internacional aumenta gradativamente devido ao crescimento populacional (Irisarri et al. 2015; Biandolino et al. 2020), mas também graças aos benefícios a saúde humana resultante de sua composição rica em proteínas, carboidratos, vitaminas, minerais e lipídios, em especial os ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa da série n-3 (n-3 LC-PUFAs) como o eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) e docosaexaenoico (DHA, 22:6n-3) (Anacleto et al. 2014). Alguns autores (Venugopal & Gopakumar 2017; Khan & Liu 2019) chegam a considerar os bivalves como alimentos nutracêuticos, já que seu consumo é recomendado na prevenção e tratamento de diversas doenças.

As concentrações de nutrientes nos tecidos dos bivalves experimentam variações de acordo com as mudanças ambientais e em relação a idade, sexo, ciclo reprodutivo, disponibilidade e qualidade de alimento, características físico-químicas do meio aquático, habitat e sazonalidade, ou seja, a composição depende dos fatores ambientais e biológicos inerentes no momento da captura (Fonseca et al. 2011, 2013; Colombo et al. 2016; Venugopal & Gopakumar 2017; Abarca et al. 2018; Miller & Tian 2018). O conhecimento sobre a composição dos bivalves é importante ao refletir seu status fisiológico, nutricional e o período de reprodução (Bartlett et al. 2018; Arranz et al. 2021; Wahidullah et al. 2021), uma vez que cada nutriente desempenha uma função vital no desenvolvimento dos bivalves.

O "marisco branco", Amarilladesma mactroides, é um bivalve naturalmente encontrado na zona infralitoral das praias arenosas do Rio de Janeiro, Brasil, até o norte da Argentina, onde comumente é a espécie com maior biomassa (Coscarón 1959; Herrmann et al. 2011). Sua exploração como recurso alimentar ocorre há, pelo menos, 4.000 anos pelos povos que viveram nos litorais do Rio Grande do Sul (Rosa 2006) e da Argentina (Frontini & Bayón 2017). Mais recentemente, o marisco branco também vem sendo utilizado como isca para a pesca esportiva (Carvalho et al. 2015). Infelizmente, a captura excessiva ao longo dos anos fez com que várias populações entrassem em colapso (Coscarón, 1959; Defeo, 1989; Herrmann et al., 2011). Além da sobrepesca, esta espécie é suscetível à poluição e a outros efeitos antrópicos (Fontana et al. 2003; Bom & Colling 2020, 2022; Truchet et al. 2021), o que afeta a disponibilidade de recrutas e juvenis (Laitano et al. 2019). Como consequência da menor abundância, Cledón & Nuñez (2010) e Santos et al. (2020) sugerem que juvenis dessa espécie sejam produzidos em laboratório, o que permitiria se estudar o restabelecimento do estoque populacional nos ambientes naturais. Outras possibilidades seriam a produção do marisco branco em consórcio em viveiros de camarão ou peixes, a produção extensiva nas zonas entre marés de praias arenosas de modo similar ao realizado na Ásia com o molusco de areia Ruditapes philippinarum, cuja produção ultrapassou 4 milhões de toneladas em 2020 (FAO, 2022b), ou ainda a utilização no tratamento de efluentes de fazendas de aquicultura.

Até o momento, porém, estudos sobre a reprodução do marisco branco em laboratório são escassos, o que limita a produção de juvenis (Santos et al. 2020; Gauthier et al. 2022, 2023). No ambiente natural, o desenvolvimento gonadal é controlado principalmente pela temperatura (Coscarón 1959). Em estudos realizados com A. mactroides na costa argentina, limite sul de distribuição da espécie, Coscarón (1959) relata a ocorrência de desovas do fim de novembro até meados de março, enquanto Capezzani et al. (1971) concluíram pela existência de dois períodos reprodutivos bem definidos, um principal na primavera e outro menos intenso no verão. Por outro lado, Hermann et al. (2009) também relataram dois eventos reprodutivos anuais, mas o primeiro ocorreria no inverno e o segundo, na primavera. Considerando essa variação, mas principalmente as diferentes condições ambientais entre as costas argentina e brasileira, especialmente termos de temperatura, salinidade em disponibilidade/qualidade de alimentos, Gauthier et al. (2023) sugerem a realização de estudos avaliando o ciclo reprodutivo de populações naturais de *A. mactroides* na costa do Brasil. A compreensão do ciclo reprodutivo de fêmeas *A. mactroides* por meio da análise do desenvolvimento ovárico com ferramentas histológicas em conjunto com a determinação das variações da composição bioquímica ao longo de um ano permitiria melhorar o entendimento sobre o período reprodutivo e, desta forma, auxiliar tanto na determinação dos períodos de maturação e desova, ferramenta decisiva para o estabelecimento da gestão e uso sustentável dos recursos marinhos (Denadai et al. 2015), como também fornecer importantes subsídios para as iniciativas de repovoamento em cativeiro desta importante espécie de bivalve.

#### 2. REVISÃO DA LITERATURA

Amarilladesma mactroides (Reeve, 1854), anteriormente Mesodesma mactroides, é um habitante endêmico infaunal de praias arenosas com inclinação suave e expostas as ondas (Fiori & Cazzaniga, 1999; Fiori et al. 2004; Thompson & Sánchez De Bock 2009, Cledón & Nuñez 2010). Se caracteriza por apresentar uma valva alongada, oval, ligeiramente inflada, frágil, magra; margem anterior aguda, margem posterior subtruncada; umbo baixo, colocado próximo a extremidade posterior, que anterior; superfície externa com linhas concêntricas delicadas cobertas por um perióstraco pelúcido a amarelo baixo; internamente branco, com cicatriz muscular anterior lenticular, posterior oval (Signorelli 2019). As duas valvas são unidas por um condróforo, onde o ligamento da proteína está localizado, e por uma dobradiça dorsal (Fiori et al. 2019).

De acordo com o *World Register of Marine Species* (WORMS, 2019) e Signorelli (2019), a situação taxonômica atual do marisco branco é:

- Reino Animalia
- Filo Mollusca
- Classe Bivalvia
- Ordem Venerida
- Superfamília Mactroidea
- Família Mesodesmatidae (Gray, 1840)
- Gênero *Amarilladesma* (Huber, 2010)

#### Espécie *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854c)

A. mactroides é sinonímia de Donacilla solenoides d'Orbigny, 1845 (non King, 1832, as Erycina); Mesodesma arechavalettoi Pilsbry, 1897. Popularmente, a espécie é conhecida como "almeja amarilla" no Uruguai e Argentina (Herrmann et al. 2011) e como "marisco branco" no sul do Brasil.

O marisco branco se distribui ao longo do sudoeste do Oceano Atlântico do Rio de Janeiro, Brasil, até a baía de San Blas, Argentina (24-41°S). Nestas praias é comumente a espécie com maior biomassa (Coscarón 1959; Herrmann et al. 2011; Fiori 2019; Signorelli 2019) e apresenta uma distribuição vertical (Bergonci et al. 2008). Cledón & Nuñez (2010) informam que sua distribuição e abundancia estão vinculados principalmente por fatores abióticos, como temperatura e tamanho dos grãos do sedimento. A espécie se caracteriza pela alimentação em suspensão, também designada como alimentação por filtração. Obtêm seu alimento principalmente como partículas orgânicas e inorgânicas suspensas na coluna da água, principalmente fitoplâncton, mas podem também consumir microzooplâncton e matéria particulada em suspensão (Defeo & Scarabino 1990; Bergonci & Thomé 2008; Silva et al. 2021); e alimentação sedimentadora ou em depósito, quando se alimenta de material orgânico particulado que se deposita no sedimento. Este é gerado pela produtividade primaria bentônica e pela sedimentação de partículas orgânicas da coluna de água, que podem corresponder a fitoplâncton, biodepósitos (fezes e/ou pseudofezes) e/ou detritos presentes no sedimento (Navarro et al. 2008). É considerada uma espécie osmoconformadora, eurialina moderada ao tolerar faixas de salinidade de 15 até 35 (Carvalho et al. 2015). No ambiente natural, apresentam longevidade de cerca de 6 anos.

Apesar dos aspectos da biologia e dinâmica populacional de *A. mactroides*, como recrutamento, crescimento, produção e mortalidade, terem sido relativamente bem pesquisados (Defeo et al. 1986; Defeo 1989; Fiori & Cazzaniga 1999; Fiori & Morsán 2004; Fiori & Defeo 2006; Bergonci & Thomé 2008), estudos que tratem da reprodução desta espécie são limitados às populações da costa argentina. *A. mactroides* é uma espécie dióica e sem dimorfismo sexual aparente (Vázquez et al. 2016). Sua fecundação é externa, formando larvas planctônicas, as quais, ao final do desenvolvimento, passam ao ambiente bentônico, geralmente fundos arenosos onde podem se enterrar (Herrmann et al. 2009).

O desenvolvimento gonadal é controlado principalmente pela temperatura (Coscarón 1959). Na costa da Argentina, as desovas ocorrem desde o fim de novembro até meados de março (Coscarón 1959). Capezzani et al. (1971) concluíram que a espécie tem dois períodos reprodutivos bem definidos, um principal na primavera e outro menos intenso no verão, enquanto Herrmann et al. (2009) relataram a existência de dois eventos reprodutivos anuais, com o primeiro no inverno e o segundo, na primavera. Mais recentemente, um estudo realizado no litoral de Santa Catarina, Brasil, sugere que o inverno seria a melhor época para a coleta de reprodutores no ambiente e sua posterior indução a desova em laboratório (Bernardes 2021).

Nas últimas décadas, eventos de mortandade em larga escala afetaram vários estoques naturais, levando algumas populações ao colapso (Coscarón 1959; Defeo & Scarabino 1990; Herrmann et al. 2009; Thompson & Sánchez De Bock 2009; Herrmann et al. 2011). Embora as causas desse fenômeno não sejam totalmente compreendidas (Santos et al. 2020a, 2020b), muito provavelmente sejam consequência da captura excessiva, mudanças climáticas, poluição ou outros efeitos antrópicos (Fontana et al. 2003; Bom & Colling 2020, 2022), sendo, portanto, reconhecida como uma espécie vulnerável segundo os critérios da *International Union for the Conservation of Nature - IUCN* (Risoli et al. 2019). Atualmente, o marisco branco também consta no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio 2018).

Para que a reprodução possa ocorrer, os organismos demandam energia, a qual é obtida via alimentação, sendo metabolizada para a obtenção de energia química, e eventualmente armazenada na forma de componentes químicos como lipídios, proteínas e carboidratos; como gradientes iônicos; ou liberação da mesma nos processos de trabalho (durante a decomposição do acúmulo de biomassa) para produzir e manter suas estruturas corporais. Servem também para realizar suas funções fisiológicas, como a própria alimentação (filtração), ingestão, digestão, absorção e excreção, a fim de alcançar a estabilidade interna ou homeostasia (Albert 2002; Sokolova 2021) (Figura 1).

Cada uma das funções fisiológicas é realizada por um órgão especifico ou por um conjunto de órgãos. Quando o bivalve aciona o seu sifão inalante (branquial) para a captura do séston, ocorre uma primeira seleção dos itens capturados pelas brânquias (Eulamelibrânquios) e, posteriormente, pelos palpos labiais, que nada mais são do que

expansões ciliadas da boca. Os palpos, portanto, realizam a seleção final dos itens alimentares e, aqueles considerados como nutricionalmente "úteis", serão metabolizados pela glândula digestiva. Estes alimentos (proteínas, lipídios e carboidratos) são transportados pela hemolinfa e reservados ou mobilizados nos diferentes órgãos (Mathieu & Lubet 1993). As brânquias armazenam proteínas e lipídios, este último na forma de triglicerídeos; a glândula digestiva e os tecidos do ovário armazenam lipídios como triglicerídeos (Barber 1984); o manto, o pé, o musculo abdutor, a glândula digestiva e o tecido gonadal armazenam carboidratos na forma de glicogênio (Bayne 1976; Barber 1984; Darriba et al. 2005; Saucedo & Southgate 2008). Nos tecidos dos bivalves, as concentrações de nutrientes experimentam variações de acordo com as mudanças ambientais e em relação a idade, sexo, ciclo reprodutivo, disponibilidade e qualidade de alimento, características físico-químicas do meio aquático, habitat e sazonalidade, ou seja, a composição depende dos fatores ambientais e biológicos inerentes no momento da captura (Zandee et al. 1980; Fonseca et al. 2011, 2013; Colombo et al. 2016; Venugopal & Gopakumar 2017; Abarca et al. 2018; Miller & Tian 2018). O conhecimento sobre a composição dos bivalves é importante ao refletir seu status fisiológico, nutricional e período de reprodução (Zandee et al. 1980; Arranz et al. 2021; Wahidullah et al. 2021), uma vez que cada nutriente desempenha uma função vital no desenvolvimento dos bivalves. Os carboidratos, por exemplo, são importante fonte de energia devido à solubilidade em água, o que os torna disponível para uso imediato. O glicogênio é a principal fonte energética durante a vitelogênese e a espermatogênese de bivalves (Mann 1979 a, b; Mathieu & Lubet 1993; Bacca et al. 2005; Matus de la Parra et al. 2005; Anacleto et al., 2014). As proteínas são principalmente usadas em funções estruturais, como na formação dos ovócitos, na catálise de reações metabólicas, e representam uma reserva de energia em adultos bivalves, especialmente durante a gametogênese e em situações de níveis baixos de glicogênio ou em equilíbrio energético severo (Benomar et al. 2010; Anacleto et al. 2014; Ghribi et al. 2018). Além disso, suas unidades funcionais, os aminoácidos, são importantes nos processos de osmorregulação (Zurburg & De Zwaan 1981; De Zwaan 1983; Pourmozaffar et al. 2020), podendo ser usados como indicadores de estresse hiperosmótico e metabolismo anaeróbico (Zurburg & De Zwaan 1981; Pourmozaffar et al. 2020). Durante o metabolismo anaeróbico por exemplo é característico a acumulação do lactato (Zande et al. 1980), considerado como um biomarcador de estresse oxidativo o qual sustenta o processo continuo da glicólises sob condições anaeróbias, sendo uma via de obtenção de energia (Zurburg & De Zwaan 1981; Schiedek & Zebe 1987).

Por sua vez, os lipídios, devido à alta densidade calórica, representam a maior proporção das reservas de energia em bivalves. A obtenção dos lipídeos pode ser obtida por dois processos. O primeiro processo pode ser pôr o metabolismo diretamente do alimento ingerido ou por a transformação do glicogênio em lipídios. Os dois processos realizados pela glândula digestiva e ser encaminhada no requerimento do desenvolvimento gamético ao ser vitais na formação dos gametas (Ghribi et al. 2018) e no desenvolvimento de ovócitos e larvas (Matias et al., 2009, 2011, 2013), e cumprir funções estruturais e funcionais nos organismos (Anacleto et al. 2014; Peñuela-Jiménez 2021).

A reprodução é um aspecto da história de vida de qualquer espécie de molusco. Portanto, ter um entendimento sobre o processo reprodutivo é central para a gestão da pesca comercial (Barber & Blake 2006). Por fim, é importante o conhecimento do ciclo reprodutivo dos bivalves, que depende de fatores exógenos, como temperatura da água, salinidade e disponibilidade de alimento, mas também de fatores endógenos, e sistema hormonal que estão interrelacionados estrutural e funcionalmente (Zandee et al. 1980; Nagabhushanam & Mane 1988; Barber & Blake 1981; Barber & Blake 2006; Bi et al., 2016). Alguns estudos sugerem que os fatores exógenos, como a salinidade e a disponibilidade de alimento, não estão necessariamente relacionados com o início e desenvolvimento do ciclo gametogênico, o que não ocorre com a temperatura (Barber & Black 2006; Anibal et al. 2011). A elevação da temperatura teria uma sincronização com reguladores hormonais, como peptídeos semelhantes à insulina (ILPs) (Pijsetsicay et al. 1978; Zhang & He 2020), a qual seria o centro regulador do glicogênio, lipídios e metabolismo de proteína, em associação com gânglios cerebrais que secretam neuropeptídeos (APGW amide e FMRF amide) (Bayne, 1976; Zhang & He 2020). Além disso, a temperatura afeta diretamente as concentrações de oxigênio dissolvido e o pH (Weber et al., 2010).

A reprodução não pode se levar a cabo sem que os moluscos gozem de um bom estado imunológico. A reprodução e o sistema imune estão associados como indicadores de saúde no ambiente natural dos moluscos (Schwenke et al., 2016; Coates & Söderhäll,

2021). O sistema imune é formado por células de defesa que se distribuem na hemolinfa, o fluido pelo qual circulam os hemócitos e as proteínas plasmáticas, e onde ocorrem reações integradas em sistemas multiméricos que englobam componentes celulares e humorais (Carballal, 1997; Vargas-Albores & Barraco, 2001). Os hemócitos, classificados como hialinos ou granulares (Soares-da-Silva et al., 2002; Gianazza et al., 2021), cumprem várias funções e processos fisiológicos, incluindo o armazenamento e o transporte de nutrientes, e a reparação de tecidos (Beninger et al., 2003; Donaghy et al., 2009). Todos estes processos podem ser incrementados durante a maturação gonadal graças ao transporte de nutrientes e, depois da ocorrência de desovas, via reabsorção da gônada (Brokordt et al., 2019). Eles são também as únicas células circulantes importantes na imunidade inata, apresentando mecanismos de defesa que incluem: (1) quimiotaxia, (2) reconhecimento de partículas não próprias por solúveis e receptores ligados à membrana, (3) ativação de cascatas de sinalização, (4) opsonização (ou secreção de fatores para o ambiente extracelular), (5) fagocitose e (6) degradação intracelular de material estranho (Brokordt et al., 2019). Os hemócitos hialinos tem pouca representação, mas cumprem atividade de defesa citotóxica na hemolinfa (Soares-da-Silva, 2002), enquanto os hemócitos granulares tem alta atividade fagocitica (Carballal, 1997; Greco et al., 2011; Burgos-Aceves & Faggio, 2017).

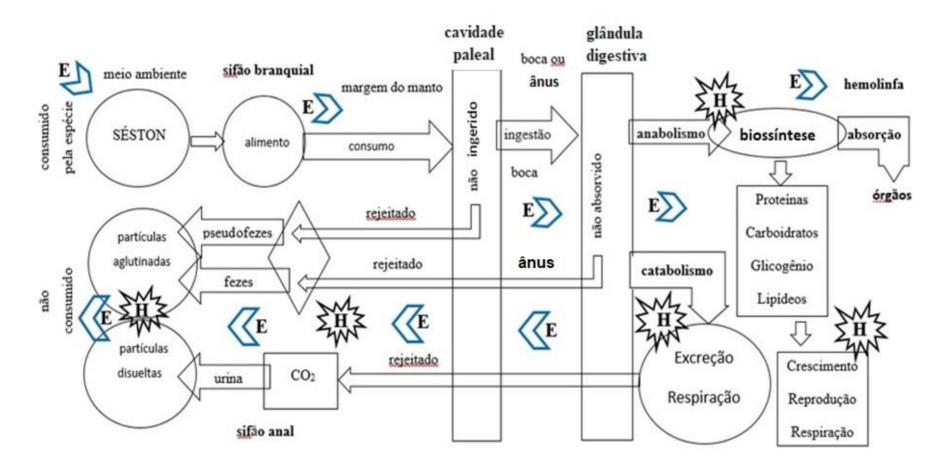


Figura 1. Diagrama sobre apresentação das mudanças entre o alimento e o metabolismo de um bivalve e seu meio ambiente (Adaptado de Albert, 2002 e Sokolova, 2021). As setas de cor azul representam o ganho da energia (E), inicialmente como energia externa, para ser metabolizada em energia química em direção à direita, e a perda da energia (H), em direção a esquerda. A letra H, parte da energia perdida como calor.

#### 3. OBJETIVO

Estimar o período reprodutivo de fêmeas do marisco branco *Amarilladesma* mactroides no extremo sul do Brasil

## 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a composição bioquímica (proteína bruta, lipídios, glicogênio e lactato) do corpo mole de *Amarilladesma mactroides*
- Determinar a quantidade de hemócitos hialinos e granulares, a concentração de proteínas e o índice fagocítico na hemolinfa de *Amarilladesma mactroides*
- Determinar os parâmetros que melhor representam o período de maturação e desova de fêmeas de Amarilladesma mactroides

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.1 Coleta e biometria do marisco branco

Embora esta dissertação envolva pesquisa experimental com animais, está isenta de atender o estabelecido na Lei Federal 11.794, de 8 de outubro de 2008, e as demais normas aplicáveis, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, por se tratar de estudo que lida com animais invertebrados. Não houve, portanto, necessidade de submissão do projeto ao comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal do Rio Grande - FURG. Este estudo foi desenvolvido no âmbito de projeto cadastrado no SISBIO - Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (No. 81015) e no SISGEN - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (No. AF0355A).

As capturas de exemplares do marisco branco foram realizadas na última semana de cada mês no período de outubro de 2021 a setembro de 2022, na zona infralitoral da praia do Cassino, Rio Grande, RS (32°13'37.1"S 52°11'54.5"W). Pelo menos 100 mariscos foram coletados em cada uma das 12 amostragens mensais com a ajuda de pás de corte. Os mariscos foram imediatamente transportados até o laboratório em caixas

térmicas com água marinha coletada no local de captura. No momento da captura, foram medidas a temperatura, salinidade e concentração de oxigênio dissolvido da água com um aparelho multiparâmetro portátil (YSI 550 A). Adicionalmente, água do local de captura foi obtida para a medição de pH em laboratório.

No laboratório, os mariscos foram colocados em um balde com gelo para efeito de anestesia. Os mariscos foram então medidos individualmente: peso úmido total (Wt, valvas com o corpo mole) com uma balança eletrônica (modelo AD3300) com precisão de 0,01g (Helm et al. 2004); comprimento total (C), altura total (H) e largura total (L) de acordo com Aydos (2005) com um paquímetro eletrônico (modelo Mtx 150 mm) de precisão de 0,01 mm (Figura 2). Indivíduos com algum dano físico, como valvas quebradas, ou que visualmente apresentaram parasitas ou epibiontes, e sifões ou pés sem movimento foram descartados. Foram utilizados somente mariscos com C igual ou superior a 50 mm para ter certeza da presença de indivíduos adultos maduros, de acordo com Coscarón (1959).

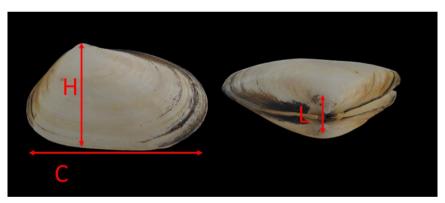


Figura 2. Medidas de altura total (H), comprimento total (C) e largura (L) do marisco branco *Amarilladesma mactroides*.

Posteriormente, com ajuda de um bisturi, as valvas foram abertas e os tecidos moles retirados. Antes de registrar o peso úmido (Wúmido, g), foi realizada a evacuação do conteúdo intestinal utilizando-se seringas de 0,05 ml com água marinha, para ter a segurança que o conteúdo intestinal não estivesse involucrado nas análises de composição bioquímica. Pré-testes demonstraram que, além de rápida, esta metodologia preservava o trato digestório dos mariscos. Anteriormente a opção por esta técnica, foi testada a depuração dos mariscos em laboratório, mas observou-se que, para a completa

evacuação do trato digestório, havia a necessidade de um período de tempo superior a 2 dias.

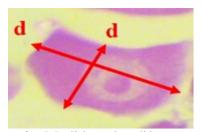
O peso seco dos tecidos moles (Wseco) e das valvas (WsecoV) de 20 indivíduos foram obtidos após 48 h em estufa a 60°C seguido de, pelo menos, 24 h em dessecador (Costa et al. 2021). A partir desses dados, o índice de condição (CI, %) foi calculado a partir da medição do peso seco dos tecidos moles e das valvas de 20 indivíduos de cada amostra mensal de acordo com Walne & Mann (1975):

$$CI = \frac{\text{peso do tecido seco}}{\text{peso das valvas seco}} \times 100$$

Após as medições, o corpo mole dos mariscos foi colocado em sacolas herméticas rotuladas e transportadas com gelo em caixa isotérmica ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), onde foram liofilizados. As amostras liofilizadas foram pesadas, acondicionadas em sacolas térmicas devidamente etiquetadas, e armazenadas em geladeira até a realização de análises posteriores.

#### 4.2 Histologia das gônadas

Amostras de gônadas com aproximadamente 1 cm³ foram extraídas com bisturi e colocadas em cassetes devidamente identificados. Os tecidos foram desidratados em soluções de etanol em série de concentrações crescentes, tratados com xilol e embebidos com Paraplast (Sigma-Aldrich, Saint Louis, Missouri, EUA) no processador automático de tecidos (LEICA TP1020). Os blocos de parafina com as gônadas foram seccionados no micrótomo (LEICA RM2245) a uma espessura de 3-5 µm, montados na lâmina e corados com Hematoxilina e Eosina (Howard & Smith 1983). Os diâmetros de 20 ovócitos de cada indivíduo foram medidos com uma regra microscópica (0,01 mm) em um microscópio ótico (Nikon Eclipse e200). Conforme a conformação dos ovócitos, foram medidos dois diâmetros (d) em ovócitos irregulares (Figura 3), e utilizada a média destas medições. Para os ovócitos arredondados, o diâmetro (d) foi medido conforme a Figura 3.



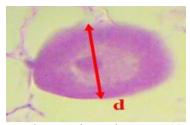


Figura 3. Medidas do diâmetro dos ovócitos do marisco branco (*Amarilladesma mactroides*) com forma irregular (Esquerda) e arredondado (Direita).

As observações histológicas e as medições dos diâmetros permitiram identificar os estágios do desenvolvimento gonadal por meio de adaptações das descrições propostas por Herrmann et al. (2009) e Bernardes (2021) (Tabela 1).

#### 4.3 Determinação da composição bioquímica

As concentrações de proteína bruta e lipídios totais do corpo mole liofilizado dos mariscos foram determinadas junto ao Laboratório de Nutrição de Espécies Aquícolas, Departamento de Aquicultura, UFSC, Florianópolis, SC. Foi utilizado o método analítico da Associação Oficial de Química Analíticas (AOAC, 2000) para determinar o teor de proteína bruta pelo método de Kjeldahl (método 981.10). Os lipídios foram determinados de acordo com Folch et al. (1957) modificado por Ways & Hanahan (1964).

As análises de glicogênio e lactato foram feitas usando o corpo mole liofilizado de 5 indivíduos, sendo realizadas quatro análises repetidas de cada indivíduo. Para as análises de glicogênio, 0,5 g do corpo mole foi triturado e colocado em um tubo de vidro com 1.500 μl de KOH 30% com 5% de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> saturado. Cada amostra foi submetida ao vórtex (KASVI basic k45-2820) até uma homogeneização completa, sendo então levada a um sonicador (Q55 Sonicator) durante 3 min. Para garantir a dissolução completa dos tecidos, se levou ao banho maria (Q215M2) (100 °C) durante 10 min. Após esfriar, se realizou duas precipitações com etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>) 95%. Para a primeira precipitação, se adicionou 3,0 mL de etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>) 95% e se homogeneizou as amostras com o vórtex. Para ocorrer a floculação e precipitação do glicogênio, a mistura foi mantida em repouso por 40 min. O sobrenadante foi então retirado com uma pipeta Pasteur de plástico (3 ml). O mesmo procedimento foi realizado para a segunda precipitação, mas com um tempo de repouso de 60 min. O conteúdo do tubo de vidro foi filtrado usando papel filtro para café

branco (V60; tamanho 02). Do filtrado, 0,05 g foi diluído com 1 ml de água destilada e homogeneizado no vórtex. Nova homogeneização foi realizada com o kit da glicose monoreagente (Bioclin K082) conforme as instruções do fabricante, e colocando a solução em uma microplaca de microtitulação de 96 poços para ser lido em uma leitora de microplacas (Modelo Synergy HT) na absorbância de 505 nm usando o protocolo de glicose enzimática do software GEN5 2.00.

Tabela 1. Desenvolvimento gonadal do marisco branco Amarilladesma mactroides (Adaptado de Herrmann et al. 2009 e Bernardes 2021).

| Herrmann et al. (2009) | Bernardes (2021)              | Descrição  |  |  |  |
|------------------------|-------------------------------|--|--|--|--|
| 0 – Repouso            | 0 – Repouso                   | Ausência total dos gametas, dificultando a distinção entre os sexos; folículos vazios apenas com células primordiais e tecido de reserva são observados.   |  |  |  |
|                        | I - Gametogênese inicial      | Folículos pequenos. Sexo distinguível, presença de espermatogônias e espermatócitos primários em machos e ovogônia e ovócitos primários em fêmeas. Tecido de reserva em grande quantidade e com paredes bem definidas.                                     |  |  |  |
| I – Ativo              | II - Gametogênese<br>avançada | Aumento do volume dos folículos. Presença de espermatócitos secundários, espermátides e alguns espermatozoides nos machos.  Ovócitos prévitelogênicos, vitelogênicos e alguns óvulos maduros em formato poligonal. Tecidos de reserva em menor quantidade. |  |  |  |
| II -Maturo             | III – Maturo                  | Folículos cheios de gametas maduros. Os espermatozoides ocupam maior parte dos folículos nos machos. Óvulos em formato poligonal livres no interior dos folículos em fêmeas. Tecido de reserva em pouca quantidade.  |  |  |  |
| III – Desova           | IV - Desova                   | Espaços vazios entre os gametas maduros em ambos os sexos. Tecido de reserva rompido, com aspecto "flácido".   |  |  |  |

A determinação do lactato usou 0,5 g do corpo mole triturado. Cada amostra foi colocada em um tubo de vidro com 250 μm de buffer Tris/HCl (0.1M; pH 7.2) até uma homogeneização completa, levando ao sonicador (Q55 Sonicator) durante 3 min., e centrifugadas (centrifuga SL-703) as amostras por 2500 rpm durante 10 min a 4°C. Posteriormente, foi retirado 10 μm do sobrenadante com uma pipeta Pasteur de plástico (3 ml) de cada amostra para ser homogeneizadas com o kit de lactato (Bioclin K084), e colocando a solução em microplaca de microtitulação de 96 poços, para leitura em microplacas (Synergy HT) na absorbância de 340 nm usando o protocolo de lactato do software GEN5 2.00. Os resultados das análises de glicogênio e lactato foram ordenados e calculados em uma planilha Excel (Microsoft Office v. 2016) mediante as informações apresentadas nas instruções dos kits, expressando-os em mg.g<sup>-1</sup>.

#### 4.4. Análises imunológicas

As amostras para as análises imunológicas foram realizadas mensalmente, sendo, a cada coleta, utilizados 10 mariscos para a coleta de hemolinfa. Dois métodos foram utilizados, um para a contagem de hemócitos e outro para a contagem de hemócitos fagocíticos. Uma alíquota de hemolinfa foi retirada da cavidade pericárdica com o auxílio de uma seringa de insulina descartável com agulha (25G) contendo anticoagulante (heparina sódica suína - HEPAMAX S). Uma porção da alíquota coletada foi utilizada para análise de contagem diferencial de hemócitos (DHC), e outra para a análise do índice fagocítico (IF%). Para a contagem diferencial de hemócitos, a alíquota de hemolinfa foi colocada em lâmina de ponta fosca e realizado um esfregaço, com posterior fixação em metanol P.A. por 10 min. As lâminas foram então coradas com May Grunwald Giemsa absoluto por 2 min. Logo, foi feita uma lavagem com água destilada por 2 min para descartar o excesso. Finalmente, as lâminas foram submetidas em Giemsa 20% durante 10 min, repetindo a lavagem das lâminas com água destilada até descartar o excesso.

Para a contagem do índice fagocítico, uma solução de 40 ml de água destilada e 40 ml de PBS (NaCl 0.137 M, KCl 2.7 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 8.1 mM, CaCl<sub>2</sub> 0.9 mM, MgCl<sub>2</sub> 0.49 mM, pH 7.4) acondicionado em frasco de cor âmbar de 50 ml foi autoclavada (Autoclave Stermax) um dia antes da coleta. Também prévio a coleta, foi preparada uma solução com 20 ml de PBS, 0,178 g de vermelho Congo (Dinâmica, CAS (573-58-0) e 1,5 g de levedura (Fermento biológico Fleischmann). No momento da coleta, a

hemolinfa foi misturada com a solução em uma proporção 1:1, sendo a mistura disposta em lâmina de ponta fosca para a realização de esfregaço.

Para realizar a contagem, as lâminas de ambas as análises foram divididas em 10 campos. A contagem foi realizada com microscópio óptico (Nikon Eclipse e200). Em cada campo (40 x), para a contagem de hemócitos, se contabilizou a quantidade de hemócitos hialinos (HH) e granulares (HG), enquanto para a contagem de hemócitos fagocíticos (40 x), se contabilizou sua quantidade por campo. Os dados foram ordenados em uma planilha Excel (Microsoft Office v. 2016) e expressos em porcentagem (%).

Adicionalmente, foi analisada a concentração de proteínas totais da hemolinfa. Para isso, foi usado uma alíquota de 25 µl de hemolinfa, a qual foi acrescentado com 250 µm do buffer Tris/HCl (0.1M; pH 7.2) até a homogeneização completa. Logo, levados a centrifugar a 1000 rpm durante 5 min a 4°C. Posteriormente, 25 µm do sobrenadante de cada amostra foi homogeneizado com o kit de proteínas totais monoreagente (Bioclin K031). A solução foi colocada em microplaca de microtitulação de 96 poços para ser lida em uma leitora de microplacas (Modelo Synergy HT) em uma absorbância de 545 nm usando o protocolo de proteínas totais do software GEN5 2.0.

Os resultados de cada uma das análises foram ordenados e calculados em uma planilha Excel (Microsoft Office v. 2016) e expressos em µg.mL<sup>-1</sup>.

#### 4.5 Análise dos dados

Para determinar a existência de variância entre as variáveis da biometria (mm), peso úmido e peso seco do corpo mole (g), peso seco das valvas (g), diâmetro dos ovócitos (μm), concentrações de glicogênio (mg/g), lactato (mg/g), proteína da hemolinfa (μg.mL<sup>-1</sup>), contagem de hemócitos e contagem de hemócitos fagocíticos (%), foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis seguido da comparação múltipla. Para as análises das concentrações de proteína bruta (%), lipídios totais (%) e índice de condição foram utilizadas a análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do Teste de Tukey. Todas as análises consideraram um nível mínimo de significância de 5% (p < 0,05). Os gráficos foram delineados usando SIGMA PLOT vers. 12. Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão (DP), exceto onde indicado.

#### 5. RESULTADOS

## 5.1 Parâmetros físico-químicos

Ao longo das 12 coletas anuais, a temperatura máxima (28,2°C) se observou no mês de fevereiro de 2022 e a mínima (9,8°C), no mês de junho, enquanto a salinidade máxima (38) ocorreu nos meses de dezembro de 2021 e janeiro de 2022, e a mínima (28) em junho de 2022 (Tabela 2). A concentração de oxigênio dissolvido (OD) sempre esteve acima de 6,0 mg.L<sup>-1</sup>. A concentração máxima de OD foi observada no mês de junho de 2022, com 9,76 mg.L<sup>-1</sup>, e a mínima (6,31 mg.L<sup>-1</sup>), em abril de 2022. Por sua vez, o pH variou entre 7,65, em maio e setembro de 2022; e 8,69 em junho do mesmo ano.

Tabela 2. Temperatura (°C), salinidade, concentração de oxigênio dissolvido (OD; mg.L<sup>-1</sup>) e pH da água do mar no momento da coleta de adultos do marisco branco *Amarilladesma mactroides* na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022 (nd = não determinado).

| Mês            | Temperatura | Salinidade | OD   | pН   |
|----------------|-------------|------------|------|------|
| Outubro 2021   | 21,5        | 34         | 8,46 | 8,06 |
| Novembro 2021  | 21,7        | 35         | 7,80 | 8,32 |
| Dezembro 2021  | 23,7        | 38         | 7,34 | 7,80 |
| Janeiro 2022   | 26,0        | 38         | 6,32 | 7,84 |
| Fevereiro 2022 | 28,2        | 37         | 6,34 | 7,84 |
| Março 2022     | 19,5        | 37         | 6,64 | 8,69 |
| Abril 2022     | 20,2        | 33         | 6,31 | 8,28 |
| Maio 2022      | 16,3        | 32         | 8,12 | 7,65 |
| Junho 2022     | 9,8         | 28         | 9,76 | nd   |
| Julho 2022     | 15,0        | 35         | 7,54 | 8,32 |
| Agosto 2022    | 15,3        | 32         | 9,04 | 7,89 |
| Setembro 2022  | 15,0        | 32         | 8,80 | 7,65 |

#### 5.2 Biometria

Na tabela 3 se apresentam os valores médios (± DP) mensais da altura, largura, comprimento, pesos úmido e seco do corpo mole, peso seco das valvas e o índice de condição desde outubro de 2021 até setembro de 2022. Todas as medidas biométricas dos mariscos brancos aqui amostrados apresentaram variações significativas ao longo dos 12 meses.

Entre os organismos selecionados, a altura média (H) variou entre 30,8 e 34,1 mm, sendo a menor observada no mês de dezembro de 2021 (30,84 mm) e a maior (34,07 mm), no mês seguinte (janeiro de 2022). Ao longo dos 12 meses, as médias de largura (L) variaram de cerca de 14 a 15,5 mm, com exceção de outubro de 2021, que teve L médio de 16,07 mm. A mesma tendência de mariscos maiores em outubro de 2021 se observou em relação ao comprimento (C), cuja média (62,87 mm) foi significativamente maior que nos demais meses, exceto em agosto de 2022 (média de 61,84 mm). Em relação ao peso úmido do corpo mole (Wúmido), as maiores médias foram obtidas nos meses de outubro (6,27 g) e novembro (6,01 g). A partir daí se observou uma significativa diminuição até janeiro de 2022, mês em que os mariscos apresentaram o menor Wúmido (2,52 g). Nos meses seguintes, de fevereiro a abril de 2022, o Wúmido permaneceu relativamente baixo (variando entre 3,13 g e 3,67 g) e sem diferenças significativas. A partir de maio, se observou um aumento significativo até o mês de setembro, quando o Wúmido médio atingiu 5,97 g (Tabela 3). As variações das médias do peso seco do corpo mole (Wseco) ao longo dos 12 meses foram bastante similares ao observado ao Wúmido (Tabela 3). A maior média de Wseco foi no mês de outubro de 2021 (1,64 g), sendo observada uma diminuição significativa, mês a mês, até abril de 2022, quando o menor peso seco (0,47 g) foi observado. A partir de maio, se observou um aumento progressivo e significativo do Wseco até setembro (1,39 g). Ao longo dos 12 meses, as médias dos pesos secos das valvas (WsecoV) variaram significativamente entre 3,2 g e 6,1 g (Tabela 3). As menores médias de WsecoV foram observadas nos meses de fevereiro e abril de 2022 (ambos com 3,18 g), enquanto as maiores médias ocorreram nos meses de outubro e novembro de 2021, e março, junho, julho, agosto e setembro de 2022. Finalmente, as maiores médias do índice de condição (CI) se observaram nos meses de outubro e novembro de 2021 (31,34 e 29,19, respectivamente). A partir destes máximos, o CI diminuiu significativamente até alcançar as menores médias nos meses de março e abril de 2022 (15,06 e 14,92, respectivamente), as quais voltaram a

apresentar médias significativamente maiores nos meses de maio, junho, julho de 2022 (Tabela 3).

Tabela 3. Valor médio (± DP) mensal da altura (H, mm), largura (L, mm), comprimento (C, mm), peso úmido (Wúmido, g) e seco do corpo mole (Wseco, g), peso seco das valvas (WsecoV, g) e índice de condição (CI) do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletado na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022. Valores entre parênteses representam o número amostral (n). Letras superscritas indicam diferença significativa entre os meses (p< 0.05).

| Mês            | Н                                | L                              | С                           | Wúmido                         | Wseco                           | WsecoV                      | CI                           |
|----------------|----------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Outubro 2021   | 31,88 (± 5,15) ef                | 16,07 (± 1,54) <sup>g</sup>    | 62,87 (± 3,30) <sup>e</sup> | 6,27 (± 1.23) g                | 1,64 (± 0,48) g                 | 5,21 (± 1,32) <sup>cd</sup> | 31,34 (± 3,64) <sup>g</sup>  |
|                | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Novembro 2021  | 32,65 (± 1,49) def               | 15,33 (± 0,66) <sup>f</sup>    | 60,57 (± 3,04) °            | $6,01 (\pm 0,79)$ fg           | $1,50 (\pm 0,19)$ fg            | 5,25 (± 1,13) <sup>cd</sup> | 29,16 (± 4,21) fg            |
|                | (60)                             | (60)                           | (60)                        | (20)                           | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Dezembro 2021  | 30,84 (± 1,23) <sup>a</sup>      | 14,22 (± 0,78) <sup>a</sup>    | 57,70 (± 2,43) <sup>a</sup> | 5,09 (± 0,89) <sup>d</sup>     | $1,17 (\pm 0,18)$ cde           | 4,23 (± 0,45) b             | 27,72 (± 3.51) ef            |
|                | (90)                             | (90)                           | (90)                        | (81)                           | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Ionaira 2022   | 34,07 (± 1,24) <sup>g</sup>      | 14,25 (± 0,64) <sup>a</sup>    | 57,60 (± 2,19) <sup>a</sup> | 2,52 (± 0,72) <sup>a</sup>     | $1,24 (\pm 0,17)^{\text{cdef}}$ | $4,78 (\pm 0,56)$ bc        | 26,17 (± 3,95) <sup>ef</sup> |
| Janeiro 2022   | (81)                             | (81)                           | (81)                        | (81)                           | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Fevereiro 2022 | 31,69 (± 1,31) bc                | 15,49 (± 2,19) <sup>ef</sup>   | 59,14 (± 2,98) <sup>b</sup> | $3,13 (\pm 0,72)^{b}$          | $0,60 (\pm 0,13)$ ab            | 3,18 (± 0,52) <sup>a</sup>  | 19,14 (± 3,80) <sup>b</sup>  |
|                | (80)                             | (80)                           | (80)                        | (80)                           | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Março 2022     | 32,14 (± 1,68) <sup>cd</sup>     | $14,87 (\pm 0,98)$ bcd         | 60,56 (± 3,39) °            | $3,53 (\pm 0,69)$ bc           | $0,80~(\pm~0,19)^{\rm b}$       | $5,31 (\pm 0,75)$ cd        | 15,06 (± 2,63) <sup>a</sup>  |
|                | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Abril 2022     | 31,66 (± 1,68) <sup>b</sup>      | $15,44 (\pm 4,87)$ bc          | $58,81 (\pm 5,14)$ b        | $3,66(\pm 0,74)^{\text{ c}}$   | $0,47\ (\pm\ 0,13)^{\rm\ a}$    | $3,18 \ (\pm \ 0,35)^{a}$   | 14,92 (± 4,25) <sup>a</sup>  |
|                | (95)                             | (95)                           | (95)                        | (95)                           | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Maio 2022      | 30,90 (± 1,31) <sup>a</sup>      | $14,09 \ (\pm 0,75)^{a}$       | 58,12 (± 2,37) <sup>a</sup> | $5,08(\pm 0,88)$ d             | $1,09 (\pm 0,19)$ <sup>c</sup>  | $4,82 (\pm 0,60)$ bc        | $22,74 (\pm 3,34)$ cd        |
|                | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Junho 2022     | $32,12 (\pm 2,46)$ de            | $14,66 (\pm 0,77)$ b           | 60,32(± 3,92) °             | $5,62 (\pm 0,85)$ ef           | $1,35 (\pm 0,18)^{\text{def}}$  | $5,80 (\pm 1,04)^{d}$       | $23,52 (\pm 2,91)$ cd        |
|                | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Julho 2022     | $32,62 (\pm 1,61)^{\text{def}}$  | $15,17(\pm 1,29)^{\text{def}}$ | $61,69 (\pm 2,55)$ d        | $5,53 (\pm 0,99)^{\text{def}}$ | $1,14 (\pm 0,16)$ cd            | $5,62 (\pm 0,502)$ cd       | $20,29 (\pm 2,66)$ bc        |
| Juino 2022     | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Agosto 2022    | 32,70 ( $\pm$ 1,47) <sup>f</sup> | 14,91 (±0,63) <sup>cde</sup>   | $61,84 (\pm 3,78)$ de       | $5,18 \ (\pm \ 0,84)^{de}$     | $1,13 (\pm 0,21)$ cd            | $6,07 (\pm 1,19)^{d}$       | $18,83 \ (\pm 3,25)$ b       |
| Agosto 2022    | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |
| Setembro 2022  | 32,90 (± 1,66) <sup>f</sup>      | $14,76 (\pm 0.82)$ bcd         | $61,68 (\pm 2,81)^{d}$      | $5,97 (\pm 1,00)$ fg           | 1,39 (± 0,28) <sup>ef</sup>     | $5,50 (\pm 0,97)$ cd        | 25,20 (± 2,68) de            |
|                | (100)                            | (100)                          | (100)                       | (100)                          | (20)                            | (20)                        | (20)                         |

#### 5.3 Histologia

A análise das lâminas histológicas (Figura 4) sugere que as gônadas das fêmeas amostradas apresentam dois períodos de maturação ao longo dos 12 meses de amostragem. Um mais intenso em outubro e novembro de 2021, e outro menos intenso no período de agosto a setembro de 2022. Nestes meses, foi observado ovócitos repletos com formato poligonal e livres no lúmen.

Posteriormente, nos meses de dezembro de 2021 a fevereiro de 2022, a histologia das gônadas permitiu identificar que se encontravam no estágio de desova parcial, se caracterizando pela presença de ovócitos imaturos (OI), maduros e residuais, sendo que os OI possuíam formato peduncular e se encontravam aderidos às paredes. Nos meses de março e abril, as gônadas foram classificadas em estágio de repouso ou recuperação. Foi observada a presença de células imaturas, tecido conectivo abundante e sem diferenciação sexual. De maio de 2022 até julho do mesmo ano, se observaram ovócitos poligonais maduros e alguns ovócitos arredondados, indicando maturação inicial. Este processo de desenvolvimento gonadal teve sequência em junho e julho de 2022, sendo, portanto, classificado em estágios mais avançados de gametogênese pelo aumento do tamanho dos folículos.

As médias dos diâmetros dos ovócitos variaram significativamente ao longo dos 12 meses de coleta de mariscos brancos (Figura 5). Nos meses de março e abril de 2022 não foi possível determinar o diâmetro dos ovócitos, pois apenas folículos em processo de formação foram observados. Assim, para estes meses, as médias dos diâmetros dos ovócitos foram consideradas como zero (Tabela 4). Nos demais meses, a menor média foi observada em agosto de 2022, com 23,83 mm, enquanto as maiores ocorreram nos meses de novembro de 2021 a janeiro de 2022, quando as médias foram iguais ou superiores a 36 mm. O tamanho máximo dos ovócitos variou de 0 a 58 mm e, de certa forma, acompanhou a tendência das médias. Valores máximos (≥ 51 mm) foram medidos no período de outubro de 2021 a fevereiro de 2022; em marco e abril não foram identificados ovócitos; e, a partir de maio de 2022, os maiores ovócitos tinham de 39 a 46 mm de diâmetro.

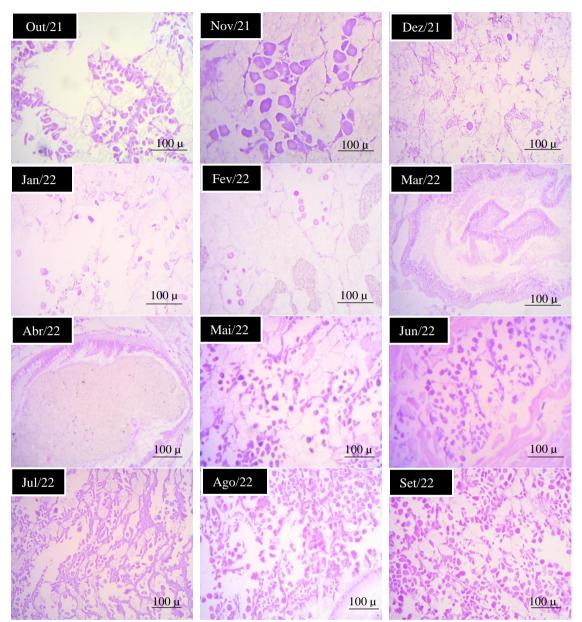


Figura 4. Secções histológicas das gônadas de fêmeas do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletadas mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022 (aumento 10 x).

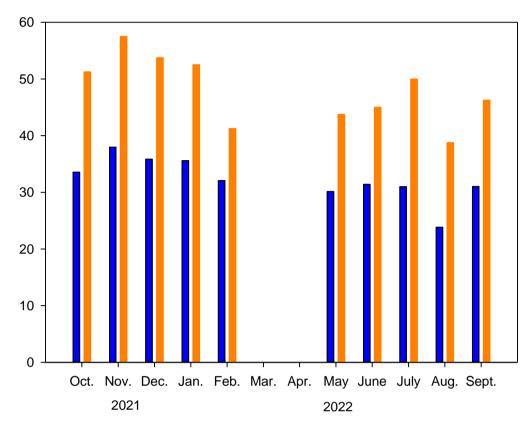


Figura 5. Valores médios (barras azuis) e máximos (barras laranjas) dos diâmetros dos ovócitos do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletados mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022.

#### 5.4 Concentrações de proteína bruta, lipídios totais, glicogênio e lactato

As concentrações médias de proteína bruta, lipídios totais, glicogênio e lactato nos tecidos dos mariscos apresentaram variações significativas ao longo das 12 coletas mensais (Tabela 5).

As concentrações médias de proteína bruta variaram de um mínimo de 46,91-47,27% nos meses de outubro e novembro de 2021 a um máximo de 64,04-66,38% em fevereiro e março de 2022 (Tabela 5). Assim, pode ser observada uma tendência de aumento nas concentrações de proteína a partir de outubro-novembro até fevereiro-março (Figura 6). A partir daí, há uma diminuição na concentração de proteínas até o mês de maio e um novo aumento até o pico em agosto, quando um novo máximo de 65,05% de proteínas brutas foi observado.

Tabela 4. Valores médios (± DP), mínimos e máximos do diâmetro dos ovócitos (μm), número de fêmeas amostradas (F) e total de ovócitos medidos (n) do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletadas mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022 (nd = não determinado).

| Mês            | Média (±DP)                    | Mínimo - Máximo | F(n)    |
|----------------|--------------------------------|-----------------|---------|
| Outubro 2021   | 33,58 (± 7,61) bc              | 14 – 51         | 5 (100) |
| Novembro 2021  | 38,00 (± 7,21) <sup>a</sup>    | 21 – 58         | 3 (60)  |
| Dezembro 2021  | 36,00 (± 6,33) <sup>a</sup>    | 18 - 54         | 5 (100) |
| Janeiro 2022   | 36,00 (± 5,06) <sup>ab</sup>   | 25 – 53         | 4 (50)  |
| Fevereiro 2022 | 32,07 (± 4,94) <sup>cd</sup>   | 20 - 41         | 4 (60)  |
| Março 2022     | nd                             | nd              | 4 (0)   |
| Abril 2022     | nd                             | nd              | 5 (0)   |
| Maio 2022      | 30,15 (± 4,67) <sup>e</sup>    | 16 – 44         | 5 (100) |
| Junho 2022     | 31,40 (± 6,53) <sup>de</sup>   | 15 – 45         | 5 (100) |
| Julho 2022     | 31,00 (± 6,26) de              | 13 – 50         | 3 (60)  |
| Agosto 2022    | 23,83 ( $\pm$ 6,14) $^{\rm f}$ | 13 – 39         | 5 (100) |
| Setembro 2022  | $31,04~(\pm~5,92)^{\rm de}$    | 16 – 46         | 5 (100) |

Tabela 5. Médias (± DP) mensais das concentrações de proteína bruta (%), lipídios totais (%), glicogênio (mg.g<sup>-1</sup>) e lactato (mg.g<sup>-1</sup>) do corpo mole do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletados de outubro do 2021 a setembro do 2022 mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS. Letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0.05).

| Mês            | Proteína bruta                      | Lipídios totais                  | Glicogênio                      | Lactato                        |
|----------------|-------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Outubro 2021   | 46,91 (± 0,88) <sup>a</sup>         | 5,25 (± 041) de                  | 1,13 (± 0,82) abc               | $0,29~(\pm~0,10)^{\rm ~cd}$    |
| Novembro 2021  | 47,27 (± 1,40) <sup>a</sup>         | $5,06 (\pm 0,23)$ <sup>cde</sup> | $0.73~(\pm~0.91)^{a}$           | $0,24~(\pm~0,10)^{abcd}$       |
| Dezembro 2021  | $50,35~(\pm~0,32)^{\rm b}$          | $4,25~(\pm~0,07)^{abc}$          | 1,86 (± 1,11) <sup>cd</sup>     | $0.18~(\pm~0.05)^{\rm a}$      |
| Janeiro 2022   | $58,69 \ (\pm \ 0.86)^{\ cd}$       | $4,42 \ (\pm \ 0,38)^{abcd}$     | $1,58 (\pm 1,11)$ bcd           | $0.32 (\pm 0.11)^{d}$          |
| Fevereiro 2022 | 66,38 ( $\pm$ 0,48) $^{\rm f}$      | $4,13~(\pm~0,25)^{ab}$           | $2,03~(\pm~0,83)^{\rm de}$      | $0,32~(\pm~0,19)^{\rm ~cd}$    |
| Março 2022     | $64,04\ (\pm\ 0,66)\ ^{\mathrm{f}}$ | 3,73 (± 0,35) <sup>a</sup>       | $2,44 (\pm 0,49)^{de}$          | $0,75~(\pm~0,11)^{\rm fg}$     |
| Abril 2022     | $61,23~(\pm~0,00)$ <sup>e</sup>     | 3,91 (± 0,30) <sup>a</sup>       | $0,92~(\pm~0,18)^{ab}$          | $0,22~(\pm~0,28)^{ab}$         |
| Maio 2022      | 57,49 (± 1,13) °                    | $5{,}18~(\pm~0{,}24)^{de}$       | $3,40 (\pm 0,38)^{fg}$          | $0.96 (\pm 0.16)^{g}$          |
| Junho 2022     | 60,70 (± 1,10) <sup>de</sup>        | $4,09~(\pm~0,26)^{ab}$           | $3,44 (\pm 0,50)$ fg            | $0,59~(\pm~0,29)^{\rm~ef}$     |
| Julho 2022     | $59,43~(\pm~0,16)^{\rm~cde}$        | $3,67~(\pm~0,29)^{a}$            | $5,45~(\pm~0,60)^{gh}$          | $0,24~(\pm~0,15)^{abc}$        |
| Agosto 2022    | 65,05 ( $\pm$ 0,59) $^{\rm f}$      | $4,78 (\pm 0,06)$ bcde           | $2,\!88\ (\pm\ 0,\!44)^{\ fg}$  | $0,40~(\pm~0,25)^{\rm de}$     |
| Setembro 2022  | $60,66~(\pm~0,25)^{\rm de}$         | 5,44 (± 0,36) <sup>e</sup>       | 7,57 ( $\pm$ 0,78) <sup>h</sup> | $0.35 (\pm 0.25)^{\text{bcd}}$ |

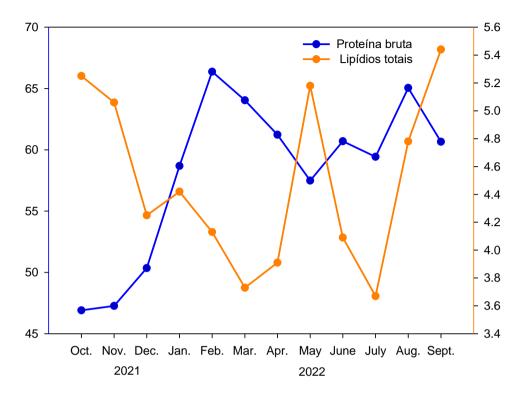


Figura 6. Médias das concentrações (%) de proteína bruta (linha azul) e de lipídios totais (linha laranja) no corpo mole do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletado mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022.

Por sua vez, a menor e a maior concentração de lipídios totais no corpo mole dos mariscos foi 3,67% e 5,44% nos meses de julho e setembro de 2022, respectivamente (Tabela 5). Há, portanto, uma diminuição significativa na concentração de lipídios a partir do mês de outubro até os meses de março e abril (Figura 6). Posteriormente, pode ser observado um aumento em maio, nova diminuição em julho e retomada de altas concentrações no mês de setembro. Além disso, é importante assinalar que o aumento e a diminuição das concentrações de lipídio totais são inversamente proporcionais às concentrações de proteína bruta (Figura 6).

As concentrações médias de glicogênio apresentaram uma variação de mais de 10 vezes, com um mínimo de 0,73 mg.g<sup>-1</sup> em novembro de 2021 e um máximo de 7,57 mg.g<sup>-1</sup> no mês de setembro de 2022 (Tabela 5). Ao longo dos 12 meses, variações significativas na concentração de glicogênio podem ser observadas (Figura 7). Há um aumento

gradativo a partir da primeira coleta, em outubro de 2021, até março de 2022, quando se observa uma diminuição significativa de 2,44 mg.g<sup>-1</sup> para 0,92 mg.g<sup>-1</sup> em abril. Há então uma nova retomada nas concentrações médias de glicogênio até alcançar 5,45 mg.g<sup>-1</sup> no mês de julho, seguido de nova diminuição em agosto (2,88 mg.g<sup>-1</sup>), até a máxima concentração no mês de setembro.

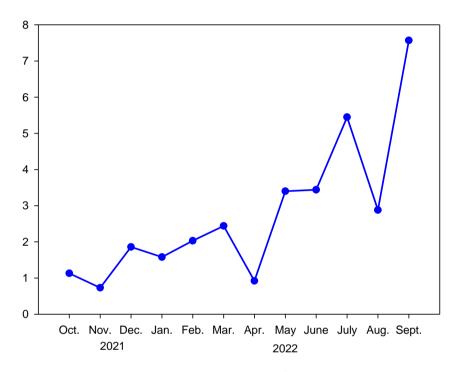


Figura 7. Concentração média de glicogênio (mg.g<sup>-1</sup>) no corpo mole do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletado mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, no período de outubro de 2021 a setembro de 2022.

As concentrações de lactato também variaram significativamente ao longo dos 12 meses (Tabela 5; Figura 8). Numericamente, a maior concentração foi observada em maio (0,96 mg.g<sup>-1</sup>), e a menor (0,18 mg.g<sup>-1</sup>), no mês de dezembro de 2021. A grande variabilidade observada se deveu a aumentos e diminuições bruscas, não observando-se uma tendência durante o período. Na maior parte dos meses, as concentrações médias de lactato se mantiveram na faixa de 0,18 a 0,40 mg.g<sup>-1</sup>, exceto no mês de março (com 0,75 mg.g<sup>-1</sup>) e maio-junho de 2022 (0,59 e 0,96 mg.g<sup>-1</sup>, respectivamente). Após estes picos de concentração de lactato, uma queda significativa pode ser observada (Figura 8).

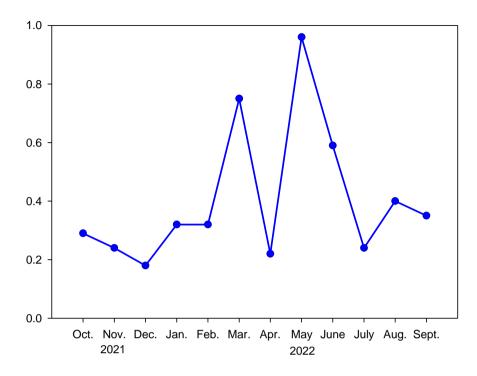


Figura 8. Concentrações médias de lactato (mg.g<sup>-1</sup>) no corpo mole do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletado mensalmente na praia do Cassino, Rio Grande, RS, entre outubro de 2021 e setembro de 2022.

## 5.5 Análises imunológicas

Embora a contagem diferencial de hemócitos (CDH) não tenha apresentado diferenças significativas (Tabela 6), foi observada uma menor proporção de hemócitos hialinos (HH) do que hemócitos granulares (HG). Em todos os 12 meses de coleta, a maior proporção de HH foi encontrada em dezembro de 2021, com 46,33%, e a menor (15,50%), em junho de 2022. A contagem de hemócitos fagocíticos (CHF) na hemolinfa também não apresentou diferenças significativas. Ao longo dos 12 meses, as médias de CHF foram idênticas (16,67%), com exceção do mês de abril de 2022, quando se observou a proporção de 16,56%. Por sua vez, as médias de concentração das proteínas totais da hemolinfa (CPH) apresentaram diferenças significativas, sendo observada uma grande variação (de 42,20 μg.mL<sup>-1</sup> no mês de junho de 2022 até o máximo de 243,27 μg.mL<sup>-1</sup> em julho de 2022).

Tabela 6. Médias (± DP) mensais da contagem diferencial de hemócitos (CDH; %), incluindo hemócitos hialinos (HH) e hemócitos granulares (HG), contagem de hemócitos fagocíticos (CHF; %) e concentração de proteínas na hemolinfa (CPH; μg.mL<sup>-1</sup>) do marisco branco *Amarilladesma mactroides* coletados de outubro do 2021 a setembro do 2022 na praia do Cassino, Rio Grande, RS. Letras indicam diferenças significativas (p<0.05) entre os meses (nd = não determinado).

| Mês            | CDH             |                 | CHF                    | СРН                              |
|----------------|-----------------|-----------------|------------------------|----------------------------------|
|                | НН              | HG              | СПГ                    | CFH                              |
| Outubro 2021   | 37,50 (± 11,04) | 62,50 (± 11,04) | 16,67 (± 2,52)         | 92,93 (± 27,24) abc              |
| Novembro 2021  | 42,17 (± 10,83) | 57,83 (± 10,83) | 16,67 (± 1,37)         | nd                               |
| Dezembro 2021  | 46,33 (± 15,59) | 53,67 (± 15,59) | 16,67 (± 1,05)         | 96,20 (± 21,50) <sup>abcd</sup>  |
| Janeiro 2022   | 42,96 (± 8,34)  | 57,04 (± 8,34)  | $16,67 \ (\pm \ 0,53)$ | 151,40 (± 27,17) <sup>cd</sup>   |
| Fevereiro 2022 | 36,17 (± 34,70) | 63,83 (± 34,70) | 16,67 (± 1,34)         | 130,45 (± 24,82) bcd             |
| Março 2022     | 34,71 (± 13,95) | 65,29 (± 13,95) | 16,67 (± 0,32)         | 62,83 (± 1,53) ab                |
| Abril 2022     | 38,83 (± 18,40) | 61,17 (± 18,40) | $16,56 \ (\pm \ 0,35)$ | 101,78 (± 24,29) <sup>abcd</sup> |
| Maio 2022      | 32,50 (± 22,50) | 67,50 (± 22,50) | 16,67 (± 1,92)         | 156,13 (± 21,89) <sup>cd</sup>   |
| Junho 2022     | 15,50 (± 18,01) | 84,50 (± 18,01) | 16,67 (± 2,03)         | 42,20 (± 3,06) <sup>a</sup>      |
| Julho 2022     | 41,00 (± 17,79) | 59,00 (± 17,79) | 16,67 (± 4,68)         | 243,27 (± 78,09) d               |
| Agosto 2022    | 36,17 (± 29,02) | 63,83 (± 29,02) | 16,67 (± 8,33)         | 113,20 (± 16,26) bcd             |
| Setembro 2022  | 39,83 (± 25,07) | 60,17 (± 25,07) | 16,67 (± 8,09)         | 63,13 (± 6,73) <sup>ab</sup>     |

## 6. DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo evidenciaram importantes variações ao longo dos 12 meses nas variáveis físico-químicas da água (temperatura, salinidade, oxigênio dissolvido e pH), nos parâmetros biométricos dos mariscos, em especial o índice de condição (CI), nas concentrações de proteína bruta, lipídios totais, glicogênio e lactato, assim como na histologia das gônadas (e diâmetro dos ovócitos) e na concentração de proteínas na hemolinfa. Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas na contagem diferencial dos hemócitos e nem dos hemócitos fagocíticos. Apesar disso, variações no ciclo reprodutivo de *A. mactroides* na costa sul do Brasil foram observados, o que está de acordo com estudos prévios realizados em outros locais onde a espécie se distribui naturalmente (Christiansen 1971; Masello 1987; Herrmann et al. 2009; Bernardes, 2021).

Baseado na histologia das gônadas, no diâmetro dos ovócitos, nas variações do índice de condição e na concentração de lipídios totais, foi possível estabelecer a ocorrência de dois períodos reprodutivos ao longo dos 12 meses deste estudo, um mais intenso na primavera, em outubro e novembro de 2021, e outro menos intenso no outonoinverno, o qual se estendeu de maio-junho a setembro de 2022. Resultados similares aos aqui observados foram relatados para populações de A. mactroides na costa da Argentina. Coscarón (1959) descreveu que a ocorrência de desovas se estenderia do fim de novembro até meados de março, enquanto Capezzani et al. (1971) concluíram pela existência de dois períodos reprodutivos bem definidos, um principal na primavera e outro menos intenso no verão. Ainda na costa argentina, Herrmann et al. (2009) relataram dois eventos reprodutivos anuais, com o primeiro ocorrendo no inverno e o segundo, na primavera. Por sua vez, para a costa do Uruguai, Masello (1987) relata que indivíduos em estado de desova foram observados durante todo o ano, mas com dois períodos mais intensos (dezembro e agosto), e três menos intensos (outubro, março e maio). Finalmente, dois eventos reprodutivos, um na primavera e outro no verão, foram relatados por Bernardes (2021) em mariscos brancos coletados no Balneário Rincão, SC, Brasil.

O padrão temporal de maturação e desova de bivalves pode diferir entre populações geográficas e também depender de fatores ambientais (Brown 1984). Como destacado acima, neste estudo foi observada a ocorrência de dois eventos reprodutivos por ano, o primeiro na primavera e o segundo no outono-inverno. Na costa da Argentina,

Christiansen (1971) e Herrmann et al. (2009) também registraram dois eventos de desova para a mesma espécie, mas estes ocorreram na primavera e início do verão e no inverno e na primavera, respectivamente. Variações no padrão temporal de maturação e desova também foram observadas para o congênere *Mesodesma donacium*, que naturalmente se encontra nas praias do oceano Pacífico oriental. Filun (1992) observou dois picos de reprodução (na primavera-verão e no outono) na costa norte do Chile, enquanto Peredo et al. (1986) observaram apenas um período de desova da mesma espécie na costa sul daquele país. Essas variações podem ser atribuídas a condições ambientais distintas. Portanto, as diferenças observadas no ciclo reprodutivo de *A. mactroides* coletados nas costas do Uruguai, Argentina ou Brasil podem ser resultado das diferenças de latitude, as quais, por sua vez, podem influir na disponibilidade de itens alimentares e nas condições ambientais, principalmente temperatura e salinidade (Sastry 1970, Peredo et al. 1986, Penchaszadeh et al. 2000, Herrmann et al. 2009, Abarca et al. 2018). Desta forma, é bastante provável que as condições ótimas para o desenvolvimento reprodutivo ocorram em diferentes meses do ano conforme a localização ou latitude.

Mudanças sazonais de temperatura normalmente desencadeiam a gametogênese (Herrmann et al. 2009), enquanto mudanças bruscas de temperatura podem estimular a desova (Helm et al. 2004). Nossos resultados indicam que, no extremo sul do Brasil, os mariscos entraram no período de repouso reprodutivo no outono, especificamente nos meses de março e abril de 2022. Nestes meses, a análise histológica não permitiu observar diferenças nas características dos tecidos gonadais, não sendo possível a medição dos ovócitos, pois apenas eram observados alguns resíduos de ovócitos, além de folículos muito pequenos e amplos espaços interfoliculares. Situação semelhante a esta foi descrita para *A. mactroides* por Masello (1987), que também relatou a dificuldade de se distinguir os sexos. De modo similar, Christiansen, (1971) observou que, depois de uma desova total, o período de repouso se caracterizava pela recuperação das células foliculares, e que a distinção do sexo só era possível graças à presença de ovócitos residuais. Herrmann et al. (2009) relataram que o período de repouso de *A. mactroides* na costa da Argentina ocorria nos meses de janeiro a março-abril, quando também não era possível a medição dos ovócitos.

Neste estudo, o período de repouso reprodutivo (meses de março e abril de 2022) ocorreu após uma abrupta diminuição da temperatura. Na coleta de mariscos realizada em

fevereiro de 2022, a temperatura da água do mar estava em 28,2°C, enquanto no mês seguinte (março) havia baixado para 19,5°C. Essa diminuição de temperatura (de 8,7°C) foi a maior observada em todo o período do estudo, o que nos permite levantar a hipótese de que a queda de temperatura possa funcionar como um gatilho para o início do período de repouso reprodutivo. Embora tenham afirmado que alterações na temperatura se correlacionam significativamente com o desenvolvimento das gônadas de *A. mactroides*, Herrmann et al. (2009) encontraram que a maturação e o tamanho máximo dos gametas observados no inverno (julho-agosto) se relacionavam às temperaturas mínimas.

O diâmetro dos ovócitos é considerado um excelente descritor do ciclo reprodutivo em bivalves, pois, além de estar em sintonia com a fase de desenvolvimento gametogênico, é diretamente influenciado por parâmetros ambientais, pela idade e estratégia de vida (Maloy et al. 2003, Mladineo et al. 2007). Como em outros bivalves, os maiores ovócitos são encontrados em indivíduos maduros e parcialmente desovados (Gribben et al. 2004; Mladineo et al. 2007). Neste estudo, o diâmetro dos ovócitos de A. mactroides variou de 13 até 58 µm, o que se assemelha aos resultados de estudos anteriores com esta espécie. Masello (1987) observou que, dependendo do grau de maturação, o diâmetro dos ovócitos ficava entre 17 a 45 µm. Por sua vez, Christiansen (1971) dividiu em três etapas o período de maturação do marisco branco conforme o tamanho dos ovócitos. Na primeira etapa, chamada de maturação incipiente, os ovócitos tinham diâmetros entre 10 até 25 µm, embora ovócitos com diâmetros maiores também fossem observados; na etapa de maturação avançada, o diâmetro dos ovócitos era superior a 35 μm e, na etapa de maturação total, os ovócitos tinham mais de 45 μm. Coscarón (1959) sugeriu que o diâmetro de um ovócito maduro (pronto para desovar) estaria na faixa de 50-55 µm, o que foi confirmado em estudos mais recentes. Herrmann et al. (2009) relataram fêmeas em desova com ovócitos variando de 43 a 58 µm, enquanto Santos et al. (2020) obtiveram óvulos recém-fertilizados com diâmetro médio de 51,2 um. Uma escala reprodutiva baseada no tamanho dos ovócitos foi proposta como método de avaliação do desenvolvimento gametogênico em bivalves (Lango-Reynoso et al. 2000). Usando esta abordagem e considerando os resultados dos estudos acima destacados, Gauthier et al. (2023) sugeriram que o diâmetro mínimo dos ovócitos maduros de A. mactroides seria 50 µm. Os nossos resultados, portanto, confirmam esta hipótese.

O índice de condição (CI) foi um dos parâmetros estimados que auxiliaram na definição do ciclo reprodutivo. Os valores significativamente mais altos de CI, na faixa de 29 a 31, ocorreram exatamente durante o período em que a análise histológica das gônadas indicava estarem em estágio maduro, ou seja, no período reprodutivo mais intenso (outubro-novembro de 2021). A posterior diminuição do CI para o patamar de 15 foi observada durante o período de repouso reprodutivo (março e abril de 2022), o que está em consonância com os resultados de histologia das gônadas e diâmetro dos ovócitos. Resultados similares foram relatados para várias espécies de bivalves (Dridi et al. 2007, Ramesha & Thippeswamy 2009, De La Hoz Aristizábal 2010, Acosta et al., 2011; Lagade et al. 2014; Acarli et al. 2015; Abarca et al. 2018, Nahar et al. 2019, Zeng & Yang 2020, Padin et al. 2021). A partir do mês de abril, com o final do período de repouso gonadal, um aumento significativo do CI foi observado, indicando a retomada da gametogênese e a preparação para um novo período reprodutivo.

As análises de lipídios totais e de glicogênio também foram úteis na definição do ciclo reprodutivo de A. mactroides. As altas concentrações de lipídios totais durante o período reprodutivo mais intenso e a subsequente diminuição até os meses de março e abril (outono), quando se observou o período de repouso reprodutivo, coincidiram com os menores valores do CI. De modo similar, Dridi et al. (2007) observaram que a ostra do Pacífico, Crassostrea gigas tinha menores concentrações de lipídios durante o verão em ocorrência de desovas, o que sugere a utilização dos lipídios durante o processo final de gametogênese. Situação similar pode ter ocorrido neste estudo durante o mês de julho de 2022, quando baixos níveis de lipídios e de CI foram observados, embora a análise histológica tenha indicado um estágio avançado de gametogênese caracterizado por folículos grandes e com formato poligonal, e a presença de gametas maduros. Em relação ao glicogênio, as variações na concentração parecem indicar seu uso como principal fonte de energia para a manutenção do marisco branco ou para a gametogênese (Gabbot 1983, Barber & Blake 1983; Barber 1984; Mathieu & Lubet, 1993; Darriba et al. 2005; Baptista et al. 2014), principalmente pela conversão dos carboidratos em ácidos graxos para serem incorporados nos ovócitos em desenvolvimento (Barber & Blake 2006).

O aumento significativo de lipídios e do glicogênio sugere seu uso prioritariamente para a gametogênese (Barber & Blake, 1983, 2006; Barber, 1984; Dridi et al., 2007; Darriba et al., 2005, Castillo-Durán et al., 2013; Baptista et al., 2014; Bi et

al., 2016) e, portanto, uma demanda de energia que pode ser atendida pelo consumo de alimento (Gabbot & Walker 1971; Bayne 1976) ou pelas reservas energéticas, como lipídios e proteínas, ao se observar suas mudanças, mas sua participação também pode estar envolvida na formação e desenvolvimento dos ovócitos.

O incremento das concentrações de lipídios totais associado ao processo de vitelogênese de espécies de bivalves de areia, como observado neste estudo, também foi relatado) para *Donax trunculus* e *Tapes philippinarum* por Ansell et al. (1980) e por Marin et al. (2003), respectivamente. Por outro lado, Aveiro et al. (2011) encontraram concentrações significativamente maiores de lipídios totais no molusco de areia *Anomalocardia brasiliana* no outono e atribuíram isso ao acúmulo de reservas energéticas para a fase de gametogênese. Estas diferenças podem ser espécie-específicas, mas também decorrência de diferentes estratégias de vida, de condições ambientais e de disponibilidade de alimento.

O aumento dos lipídios totais desde o período de repouso até a gametogênese avançada pode ser também atribuído ao catabolismo do glicogênio (Zandee et al. 1980). Durante a vitelogênese, o glicogênio pode ser catabolizado pela glândula digestiva para disponibilizar lipídios para o tecido gonadal, como sugerido para *Argopecten irradians* (Barber et al. 1984; Lomovasky et al. 2004; Barber & Blake 2006), a fim de cobrir as necessidades especificas da gametogênese (Bayne, 1976; Mathieu & Lubet, 1993; Saucedo & Southgate, 2008; Matias et al., 2009, 2011, 2013; Bi et al., 2016; Ghribi et al., 2018; Biandolino et al., 2020; Arranz et al., 2021). Devido à alta densidade calórica, os lipídios cumprem uma função importante na formação e maturação do tecido gonadal (Dupic Radic et al. 2014). Resultados similares foram observados por Dupic Radic et al. (2014), os quais assinalam um aumento dos lipídios em *Arca noae* antes do processo de desova e sua diminuição imediatamente após a ocorrência da mesma.

As mudanças nas concentrações dos nutrientes também podem ser explicadas pelo estado imunológico dos mariscos. A reprodução não ocorre em indivíduos que não disfrutem de um bom estado imunológico, uma vez que o processo reprodutivo e o sistema imune são indicadores de saúde no ambiente natural de moluscos (Schwenke et al. 2016, Coates & Söderhäll 2021). Baixas concentrações de glicogênio ou lipídios podem indicar a imaturidade das células de defesa (Travers et al., 2008) e, de certa forma, podem explicar as mudanças nas concentrações dos nutrientes a fim de manter a

homeostasia (Bi et al. 2016). Embora não tenhamos encontrado variações significativas na contagem diferencial de hemócitos e na contagem de hemócitos fagocíticos, foram observadas variações significativas na concentração das proteínas na hemolinfa. Estas variações podem ser influenciadas pelas flutuações das condições ambientais, como salinidade, influenciando na osmolalidade da hemolinfa, mantendo o volume da célula através da regulação dos aminoácidos e das mudanças nos íons, como relatado por Pourmozaffar et al. (2020). Este processo poderia ajudar a explicar as variações das concentrações de proteína durante o período reprodutivo, mas é uma hipótese que não pode ser avaliada neste estudo, por demandar análises que não foram realizadas. Também se observou uma maior proporção de hemócitos granulares do que hialinos, o que é característico em bivalves expostos a situações de estresse (Fabbri et al., 2008; Indumathi et al., 2015). A maior proporção de hemócitos granulares pode ser resultado da atividade fagocítica dos hemócitos, responsáveis pela defesa contra patógenos e materiais estranhos (Carballal et al., 1997). Rodrick & Ulrich (1984) também ressaltam que a atividade fagocítica pode ocorrer devido à degradação de bactérias fagocitadas por granulócitos, levando a síntese de glicogênio a partir de açúcares de origem bacteriana dentro da própria célula, sendo possivelmente outra via da obtenção e reserva de glicogênio. De qualquer forma, nossos resultados de contagem diferencial de hemócitos (CDH) foram semelhantes ao perfil imunológico proposto por Santos (2014) para A. mactroides, onde a proporção dos hemócitos granulares sempre foi superior à de hemócitos hialinos em todos os grupos analisados por aqueles autores.

Nossos resultados, portanto, indicam que, no extremo sul do Brasil, o marisco branco apresenta dois períodos reprodutivos, um mais intenso na primavera (outubro e novembro) e outro menos no outono-inverno (de maio-junho a setembro). O índice de condição e as concentrações de lipídios totais e glicogênio dos tecidos moles se mostraram ferramentas úteis na caracterização do ciclo reprodutivo de *A. mactroides*. A análise imunológica sugere que os mariscos amostrados neste estudo se encontravam em uma situação de normalidade em termos de perfil imunológico.

## 7. REFERÊNCIAS

- Acarli, S., Yıldız, H., Lok, A., Serdar, S., Küçükdermenci, A. 2011. Comparative growth, survival and condition index of flat oyster, *Ostrea edulis* (Linnaeus 1758) in Mersin Bay, Aegean Sea, Turkey. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi. 17(2): 203-210
- Acosta, V., Prieta A., Licett, B., Longart, Y., Montes, M. 2011. Rendimiento, índice de condición y esfuerzo reproductivo del mejillón verde *Perna viridis* en cultivo de fondo en el Golfo de Cariaco, estado Sucre, Venezuela. Zootecnia Tropical, 29(4): 399-410
- Abarca, A., Toledo, P., Oliva, D. 2018. Composición química de ejemplares de la almeja taquilla *Mulinia edulis* de bancos naturales del norte y sur de Chile. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 53: 265-272
- Aníbal, J. Esteves, E., Rocha, C. 2011. Seasonal variation in gross biochemical composition, percent edibility, and condition index of the clam *Ruditapes decussatus* cultivated in the Ria Formosa (South Portugal). Journal of Shellfish Research, 30(1): 17-23.
- Ansell, A.D., Frenkiel, L., M. Moueza, M. 1980. Seasonal changes in tissue weight and biochemical composition for the bivalve *Donax trunculus* L. on the Algerian coast. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 45(1): 105-116.
- Arranz, K., Urrutxurtu, I., Prieto, D., Ibarrola, I., Bego, U.M., Navarro, E. 2021. Methods for assessment of body tissue composition as an indication of the energetic status in bivalve populations: A comparison of biochemical and elemental analysis. Ecological Indicators, 121: 107074
- Arrieche, D., Licet, B., García, N., Lodeiros, C., Prieto, A. 2002. Índice de condición, gonádico y de rendimiento del mejillón marrón *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), del Morro de Guarapo, Venezuela. Interciencia, 27: 613-619.
- Alhashemi, A.H., Karbassi, A., Kiabi, B.H., Hassanzadeh, K.B., Monavari, S.M., Sekhavatjou, M.S. 2012. Bioaccumulation of trace elements in different tissues of three commonly available fish species regarding their gender, gonadosomatic index, and condition factor in a wetland ecosystem. Environmental Monitoring and Assessment. 184: 1865–1878

- Antunes, S.A., Ito, Y. 1968. Composição química da ostra de São Paulo e Paraná. Boletim do Instituto Oceanográfico de São Paulo. 17(1): 71-88
- Anacleto, P., Maulvault, A.L., Narcisa, Bandarra, N.M., Repolho, T., Nunes, M.L., Rosa,R., Marques, A. 2014. Effect of warming on protein, glycogen and fatty acidcontent of native and invasive clams. Food Research International, 64: 439-445.
- Aydos, B P E. 2005. Aspectos da dinâmica populacional do marisco branco *Mesodesma mactroides* Deshayes, 1854 (Mollusca, Bivalvia) em praia arenosa exposta do Rio Grande do Sul. Trabalho da conclusão do mestrado em Zoologia. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Biociências. Porto Alegre, RS. 119 pp
- Bacca, H., Huvet, A., Fabioux, C., J.-Y., D., Delaporte, M., Pouvreau, S., Van Wormhoudt, A., Moal, J. 2005. Molecular cloning and seasonal expression of oyster glycogen phosphorylase and glycogen synthase genes. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B 140: 635-646.
- Barber, B.J. 1984. Reproductive energy metabolism in the bay scallop, *Argopecten irradians* (Say). PhD Thesis, Department of Marine Science, University of South Florida. Tampa, Florida. pp. 134.
- Barber, B.J., Blake, N.J. 1981. Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 52: 121-134
- Barber, B.J., Blake, N.J. 1983. Growth and reproduction of the bay scallop, *Argopecten irradians* (Lamarck) at its southern distributional limit. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 66:247-256.
- Barber, B.J., Blake, N.J. 2006. Chapter 6 Reproductive Physiology. Editor(s): Sandra E. Shumway, G. Jay Parsons. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. 35: 357-416.
- Bartlett, J.K., Maher, W.A., Purss, M.B.J. 2018. Near infra-red spectroscopy quantitative modelling of bivalve protein, lipid and glycogen composition using single-species versus multi-species calibration and validation sets. Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 15(193):537-557.

- Babar, A.G., Jayawanti, M.S., Pawar, S.P. 2017. Nutritional profile of the freshwater edible bivalve *Lamellidens corrianus* (Lea 1834) and its relation to water quality in the Bhatsa River, India. Asian Fisheries Science, 30.2 (2017): 52-69.
- Bayne B.L. 1976. Aspects of reproduction in bivalve molluscs. In: Wiley M.L. (ed). Estuarine Processes. Academic Press, New York. pp. 432–448.
- Bi, J., Li, Q., Zhang, X., Zhang, Z. Tian, J., Xu, Y., Liu, W. 2016. Seasonal variation of biochemical components in clam (*Saxidomus purpuratus* Sowerby 1852) in relation to its reproductive cycle and the environmental condition of Sanggou Bay, China. Journal of Ocean University of China, 15:341–350.
- Benomar, S., Costil, K., Filali, E.EL., Mathieu, M., Moukrim, A. 2010. Annual dynamics of glycogen, lipids and proteins during the sexual cycle of *Perna perna* (Mollusca: Bivalvia) from south-western Morocco. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 90(2): 335-346
- Bergonci, P.E.A., Thomé, J.W. 2008. Vertical distribution, segregation by size and recruitment of the yellow clam *Mesodesma mactroides* Deshayes, 1854 (Mollusca, Bivalvia, Mesodesmatidae) in exposed sandy beaches of the Rio Grande do Sul state, Brazil. Brazilian Journal of Biology, 68(2): 297-305
- Bernardes, J. P. 2021. Aspectos reprodutivos do bivalve de areia *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854). Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Oceanografia. Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC. 35 pp.
- Betanzos-Vega, A., Capetillo-Piñar, N., Latisnere-Barragán, H., Ortiz-Cornejo, N. L., Mazón-Suástegui, J.M. 2018. Oyster production and meat yield in *Crassostrea* spp. (Bivalvia: Ostreidae) in Pinar del Rio, Cuba. Ecosistemas y recursos agropecuarios, *5*(15): 501-510.
- Beninger, P.G., Le Pennec, G., Le Pennec, M. 2003. Demonstration of nutrient pathway from the digestive system to oocytes in the gonad intestinal loop of the scallop *Pecten maximus* L. Biological Bulletin. 205(1): 83-92
- Biandolino, F., Parlapiano, I., Grattagliano, A., Fanelli, G., Prato, E. 2020. Comparative characteristics of percentage edibility, condition index, biochemical constituents and lipids nutritional quality indices of wild and farmed scallops (*Flexopecten glaber*). Water, 12: 1777

- Burgos-Aceves, M.A., Faggio, C. 2017. An approach to the study of the immunity functions of bivalve haemocytes: Physiology and molecular aspects. Fish & Shellfish Immunology, 67: 513-517
- Bom, B.F., Colling, L. A 2020. Impact of vehicles on benthic macrofauna on a subtropical sand beach. Marine Ecology; 41: e12595
- Bom, B.F., Colling, L. A 2022. The bivalves *Amarilladesma mactroides and Donax hanleyanus* as bioindicators of the impact of vehicles on Cassino Beach, southern Brazil. An Acad Bras Cienc, 94 (Suppl. 4): e20211265
- Brokordt, K., Defranchi, Y., Espósito, I., Cárcamo, C., Schmitt, Paulina., Mercado, L., de la Fuente-Ortega., Rivera-Ingraham, G. A. 2019. Reproduction immunity tradeoff in a mollusk: Hemocyte energy metabolism underlies cellular and molecular immune responses. Frontiers in Physiology, 11; 10:77.
- Cappezani, D.A.A., Olivier, S.R., Penchaszadeh, P.E. 1971. Dinámica de población. In: Olivier, S. R (Ed). Estructura de la comunidad, dinámica de población y biología de la almeja amarilla (*Mesodesma mactroides*). Desh. 1854) en Mar Azul. Instituto de Biología Marina, Argentina, Chap. 3:49-64.
- Carballal, M.J., López, C., Azevedo, C. Villalba, A. 1997. In vitro study of phagocytic ability of *Mytilus galloprovincialis* Lmk. Haemocytes. Fish & Shellfish. 7: 403-416.
- Carr, R.S., Neff, J.M. 1984. Quantitative semi-automated enzymatic assay for tissue glycogen. Comparative Biochemistry & Physiology, 77(3): 447-449
- Carvalho, Y.B.M., Romano, L.A., Poersch, L.H.S. 2015. Effect of low salinity on the yellow clam *Mesodesma mactroides*. Brazilian Journal of Biology, 75: 8-12
- Cledón, M., Nuñez, J.D. 2010. Siphon nipping facilitates lethal predation in the clam *Mesodesma mactroides* (Reeve, 1854) (Mollusca: Bivalva). Marine Biology, 157: 737-745.
- Coscarón, S. 1959. La almeja amarilla (*Mesodesma mactroides*, Deshayes) de la costa de la Provincia de Buenos Aires. Agro Publ Tec, vol. 1, no. 3, pp. 1-66.
- Coates, C.J., Söderhäll, K. 2021. The stress-immunity axis in shellfish. Journal of Invertebrate Pathology. 186:107492.
- Colombo, J., Varisco, M., Isola, T., Crovetto, C., Rost, E., Risso, S. 2016. Composición química proximal y perfil de ácidos grasos del mejillón *Mytilus edulis*

- provenientes de cultivos y bancos naturales en el Golfo San Jorge, Argentina. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 51: 293-299
- Corrêa, C.F., Nobrega, R.O., Mattioni, B., Block, J.M., Fracalossi, D.M. 2017. Dietary lipid sources affect the performance of Nile tilapia at optimal and cold, suboptimal temperatures. Aquaculture Nutrition, 23: 1–11
- da Silva, G. 2019. Sobrevivência e crescimento de sementes do marisco branco *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854) em cultivo. Dissertação (Aquicultura). Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.
- de La Hoz Aristizábal, M.V. 2010. Condición somática de la almeja *Polymesoda solida* (Veneroidea: Corbiculidae) durante el periodo lluvioso, en el Parque Natural Isla de Salamanca, Caribe colombiano. Revista de Biología Tropical, 58(1), 131-145
- Darriba, S., San Juan, F., Guerra, A. 2005. Energy storage and utilization in relation to the reproductive cycle in the razor clam *Ensis arcuatura* (Jeffreys, 1865). ICES Journal of Marine Science, 62: 886-896
- De Zwaan, A. 1983. Carbohydrate Catabolism in Bivalves. In: Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics. Editor(s): Peter W. Hochachka, Academic Press, 137-175.
- De Zwaan, A., Eertman, R.H.M. 1996. Anoxic or aerial survival of bivalves and other euryoxic invertebrates as a useful response to environmental stress A comprehensive review. Comparative Biochemistry and Physiology, 113(2): 299-312
- Delgado, M.; Camacho, A.P. 2007. Influence of temperature on gonadal development of *Ruditapes philippinarum* (Adams and Reeve, 1850) with special reference to ingested food and energy balance. Aquaculture, v.264, n. 1-4, p.398-407.
- Defeo, O. 1989. Development and management of artisanal fishery for yellow clam *Mesodesma mactroides* in Uruguay. Fishbyte, 7: 21–25.
- Defeo, O., Scarabino, V. 1990. Ecological significance of a possible deposit-feeding strategy in Mesodesma mactroides (Deshayes, 1854) (Mollusca: Pelecypoda). Atlantica. 12. 55-65.

- Defeo, O., Ortiz, E., Castilla, J.C. 1991. Growth, mortality and recruitment of the yellow clam *Mesodesma mactroides* on Uruguayan beaches. Marine Biology. 114: 429-437
- Denadai, M.R., Sueur-Maluf, L.L., Carla, G.M., Amaral, A.C.Z., Adamo, I., Yokoyama, LQ., Turra, A. 2015. Reproductive cycle of the trigonal clam *Tivela mactroides* (Bivalvia, Veneridae) in Caraguatatuba Bay, southeastern Brazil. Marine Biology Research, 11, 847-858
- Dupic Radic, I., CARIĆ, M., Najdek, M., Jasprica, N., Bolotin, J., Peharda, M., Bratos Cetinic, A. 2014. Biochemical and fatty acid composition of *Arca noae* (Bivalvia: Arcidae) from the Mali Ston Bay, Adriatic Sea. Mediterranean Marine Science, *15*(3), 520–531.
- Dridi, S., Romdhane, M.S., Elcafsi, M. 2007. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* in relation to the gametogenic cycle and environmental conditions of the Bizert lagoon, Tunisia. Aquaculture, 263 (1-4): 238-248.
- Donaghy, L., Lambert, C., Choi, K., Soudant, P. 2009. Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): current knowledge and future prospects. Aquaculture 297, 10–24.
- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022a. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome. Fisheries and Aquaculture Department, Statistics and Information Service. FAO, Rome, p 236
- FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2022b. Fishery and Aquaculture Statistics. Global aquaculture production 19502020 (FishstatJ). In: FAO Fisheries Division [online]. Rome. Updated 2022. www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstatj/en
- Fabbri, E., Franzellitti, S., Valbonesi, P. 2008. HSP expression in bivalves. Invertebrate Survival Journal, 5: 135-161
- Fauconneau, B., 2002. Health value and safety quality of aquaculture products. Revue de Médecine Vétérinaire, 153: 331-336
- Ferreira, I., Gomes-Bispo, A., Lourenço, H., Matos, J., Afonso, C., Cardoso, C., Castanheira, I., Motta, C., Prates, J.A.M., Bandarra, N.M. 2020. The chemical

- composition and lipid profile of the chub mackerel (*Scomber colias*) show a strong seasonal dependence: Contribution to a nutritional evaluation, Biochimie, 178: 181-189.
- Fiori, S.M., Cazzaniga, N.J. 1999. Mass mortality of the yellow clam, *Mesodesma mactroides* (Bivalvia: Mactracea) in Monte Hermoso, Argentina. Biological Conservation, 89:305-309.
- Fiori, S.M., Cazzaniga, N.J., Estebenet, A.L. 2004. Winter Distribution, Density and Size of Mesodesma Mactroides (Bivalvia, Mactracea) in Monte Hermoso Beach (Argentina). Brazilian Journal of Oceanography, 52(1): 1-9.
- Fiori, S.M., Morsan, E.M. 2004. Age and individual growth of *Mesodesma mactroides* (Bivalvia) in the southernmost range of its distribution. ICES Journal of Marine Science, 61: 1253-1259.
- Fiori, S., Frontini, R., Bayón, C.2019. Morphometric analysis of the yellow clam (*Amarilladesma mactroides*) to interpret fragmentary archaeological specimens, The Journal of Island and Coastal Archaeology, 14(2): 291-300.
- Filun, L.O. 1992. Ecologia reproductiva de Mesodesma donacium (Lamarck, 1818) (Bivalvia: Mesodesmatidae) en la playa de Mehuin, Provincia de Valdivia. Dissertação, Faculdade de Ciências, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. 73 pp.
- Folch, J., Lees, M., Stanley, G.H.S. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. The Journal of Biological Chemistry, 226: 497-509
- Fonseca, R.C., Marín-Vindas, C., Chavarría-Solera, F., Cruz, R.A., Toledo, A.P. 2011. Variación estacional de la composición proximal del mejillón *Tagelus peruvianus* (Bivalvia: Solecurtidae) del Golfo de Nicoya, Puntarenas, Costa Rica. Revista de Biologia Tropical, 59: 1517-1523
- Fonseca, R.C., Chavarría, S.F., Mejía-Arana, F. 2013. Variación estacional de la composición proximal en tres especies de importancia comercial del Golfo de Nicoya, Puntarenas, Costa Rica. Revista de Biologia Tropical, 61: 429-437.
- Fontana, C.S., Bencke, G.A., Reis, R.E. 2003. Livro da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul. Porto Alegre: EDIPUCRS, 632 p.
- Frontini, R., Bayón, C. 2017. Archaeomalacological remains from the Puente de Fierro

- site (Buenos Aires province, Argentina). Arqueologia, 23, 11-26.
- Furlan, E.F., Galvão, J.A., Salán, E.O., Oetterer, M. 2011. Composição centesimal e valor calórico de mexilhões *Perna perna* cultivados no litoral norte de São Paulo, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca. 37(1): 85-93
- Gabbott, P.A., Walker, A.J.M. 1971. Changes in the Condition Index and Biochemical Content of Adult Oysters (*Ostrea edulis* L.) maintained under hatchery conditions. ICES Journal of Marine Science, 34(1): 98–105.
- Gabbott, P.A. 1983. Developmental and seasonal metabolic activities in marine molluscs.In: The Mollusca. Environmental Biochemistry and Physiology, 2. Hochachka,P.W. (Ed.). Academic Press, New York. p. 165-217
- Gauthier, N.B., Góes, F.S., Quaresma, L., Pedrosa, V.F., Roselet, F., Romano, L.A., Cavalli, R.O. 2022. Design and optimization of an experimental maintenance system for yellow clam broodstock *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854). Brazilian Journal of Biology, 82, e243168
- Gauthier, N.B., Góes, F.S., Pedrosa, V.F., Roselet, F., Romano, L.A., Cavalli, R.O. 2023. Towards the control of reproduction of the yellow clam *Amarilladesma mactroides* (Reeve, 1854) in captivity: effects of different stimuli on the spawning of laboratory-conditioned and unconditioned breeders. Fishes, 8: 37.
- Giese, A., Pearse, J. 1974. Introduction general principles. In A.C. Giese, J.S. Pearse (eds.). Reproduction of marine invertebrates. Academic, New York, EUA. p 1-41.
- Ghribi, F., Boussoufa, D., Aouini, F., Bejaoui, S., Chetoui, I., Rabeh, I., El Cafsi, M. 2018. Seasonal variation of biochemical composition of Noah's ark shells (*Arca noae* L. 1758) in a Tunisian coastal lagoon in relation to its reproductive cycle and environmental conditions. Aquatic Living Resources, 31: 14.
- Gianazza, E., Eberini, I., Palazzolo, L., Miller, I. 2021. Hemolymph proteins: An overview across marine arthropods and molluscs. Journal of Proteomics, 245: 1874-3919.
- González, M. 2022. Characterization of the immune response of the north scallop Argopecten purpuratus (Lamarck, 1819) (Mollusca: Bivalvia). Ciencias Marinas: 28(3): 247-255
- Greco, L., Pellerin J., Capri, E., Garnerot, F., Louis, S., Fournier, M., Sacchi, A., Fusi,M., Lapointe, D, Couture, P. 2011. Physiological effects of temperature and an

- herbicide mixture on the soft-shell clam *Mya arenaria* (Mollusca, Bivalvia). Environmental Toxicology and Chemistry, 30(1):132-41.
- Gribben, P.E., Creese, R.G., Hooker, S.H. 2001. The reproductive cycle of the New Zealand venus clam *Ruditapes largillierti*. Journal of Shellfish Research, 20:1101–1108.
- Helm, M.M., Bourne, N., Lovatelli, A. 2004. Hatchery culture of bivalves. A practical manual. FAO Fisheries Technical Paper. No. 471. Rome, FAO. 2004. 177p.
- Herrmann, M., Alfaya, J.E.F., Lepore, M.L., Penchaszadeh, P.E., Laudien, J. 2009.
   Reproductive cycle and gonad development of the Northern Argentinean
   Mesodesma mactroides (Bivalvia: Mesodesmatidae). Helgoland Marine
   Research, 63: 207-218
- Herrmann, M, Alfaya, J.E.F., Lepore, M.L., Penchaszadeh, P.E., Arntz, W.E. 2011. Population structure, growth and production of the yellow clam *Mesodesma mactroides* (Bivalvia: Mesodesmatidae) from a high-energy, temperate beach in northern Argentina. Helgoland Marine Research, 65:285–297
- ICMBio Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2018. *Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção—Invertebrados*; ICMBio: Brasília, Brazil. 492 p.
- Indumathi, S.P., Karthik, R., Pushpam, A.C., Vanitha, M.C., Ramalingam. 2015. Dehydrogenases and ascorbic acid profile with microbial analysis between two green mussel (*Perna viridis*) populations. International Journal of Advanced Research in Engineering and Technology. 6(10): 51-61
- Irisarri, J., Fernández-Reiriz, M.J., Labarta, U. 2015. Temporal and spatial variations in proximate composition and condition index of mussels *Mytilus galloprovincialis* cultured in suspension in a shellfish farm. Aquaculture, 435: 207-216
- Joyce, P.W.S., Smyth, D.M., Dick, J.T.A., Kregting, L.T. 2021. Coexistence of the native mussel, *Mytilus edulis*, and the invasive Pacific oyster, *Crassostrea* (*Magallana*) *gigas*, does not affect their growth or mortality, but reduces condition of both species. Hydrobiologia, 848: 1859-1871
- Khan, B.M., Liu, Y. 2019. Marine mollusks: food with benefits. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 18: 548-564

- Lagade, V.M., Taware, S.S., Muley, D.V. 2014. Seasonal variations in meat yield and body indices of three estuarine clam species (Bivalvia: Veneridae). Indian journal of Geo-Marine sciences, 43(8): 1586-1593
- Laitano, M.V., Chiaradia, N.M., Nuñez, J.D. 2019. Clam population dynamics as an indicator of beach urbanization impacts. Ecological Indicators, 101: 926-932.
- Lango-Reynoso, F., Chavez-Villalba, J., Cochard, J.C., Le Pennec, M. 2000. Oocyte size, a means to evaluate the gametogenic development of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture, 190, 183–199.
- Lenz, T., Boehs, G. 2011. Ciclo reproductivo del ostión de manglar *Crassostrea rhizophorae* (Bivalvia: Ostreidae) en la Bahía de Camamu, Bahia, Brasil. Revista de Biologia Tropical, 59: 137–149.
- Li, Q., Yang, L., Ke, Q., Kong, L. 2011. Gametogenic cycle and biochemical composition of the clam *Mactra chinensis* (Mollusca: Bivalvia): Implications for aquaculture and wild stock management. Marine Biology Research, 7:4, 407-415.
- Lomovasky, B.J., Malanga, G., Calvo, J. 2004. Seasonal changes in biochemical composition of the clam, *Eurhomalea exalbida* (Bivalvia: Veneridae), from the Beagle Channel, Argentina. Journal of Shellfish Research, 23(1): 81-87
- Maloy, A.P., Barbera, B.J., Rawson, P.D. 2003. Gametogenesis in a sympatric population of blue mussels, *Mytilus edulis* and *Mytilus trossulus*, from Cobscook Bay (USA). Journal of Shellfish Research, 22:119–123
- Mann, R. 1979a. The effect of temperature on growth, physiology, and gametogenesis in the Manila clam *Tapes Philippinarum* (Adams & Reeve, 1850). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 38: 121-133
- Mann, R. 1979b. Some biochemical and physiological aspects of growth and gametogenesis in *Crassostrea gigas* and *Ostrea edulis* grown at sustained elevated temperatures. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 59, 95-110
- Matias, D., Joaquim, S., Leitão, A., Massapina, C. 2009. Effect of geographic origin, temperature and timing of broodstock collection on conditioning, spawning success and larval viability of *Ruditapes decussatus* (Linné, 1758). Aquaculture International, 17: 257-271

- Matias, D., Joaquim, S., Ramos, M., Sobral, P., Leitão, A. 2011. Biochemical compounds' dynamics during larval development of the carpet-shell clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758): effects of mono-specific diets and starvation. Helgoland Marine Research, 65: 369-379
- Matias, D., Joaquim, D., Matias, A.M., Moura, P., Teixeira, J., Sobral, P., Leitão, A. 2013. The reproductive cycle of the European clam *Ruditapes decussatus* (L, 1758) in two Portuguese populations: Implications for management and aquaculture programs. Aquaculture, 406-407: 52-61
- Matus de la Parra, A., García, O., San Juan, F. 2005. Seasonal variations on the biochemical composition and lipid classes of the gonadal and storage tissues of *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1794) in relation to the gametogenic cycle. Journal of Shellfish Research, 24: 457–467.
- Mathieu, M., Lubet, M. 1993. Storage tissue metabolism and reproduction in marine bivalves: a brief review. Invertebrate Reproduction and Development, 23(2-3): 123-129.
- Miller, M.R., Tian, H. 2018. Changes in proximate composition, lipid class and fatty acid profile in Greenshell mussels (*Perna canaliculus*) over an annual cycle. Aquaculture Research, 49:1153-1165.
- Mladineo, Y., Peharda, M., Orhanovic, S., Bolotin, J., Pavela-Vrancic, M., Treursic, B. 2007. The reproductive cycle, condition index and biochemical composition of the horse-bearded mussel *Modiolus barbatus*. Helgoland Marine Research, 61:183–192.
- Nagabhushanam, R., Mane, U.H. 1988. Neuroendocrine regulation in Lamellibranch molluscs. CMFRI Bulletin, 42 (1). pp. 210-216.
- Olivier, S.R., Capezzani, D., Carreto, J., Christiansen, H., Moreno, V., de Moreno, J.A., Penchaszadeh, P.E. 1971. Estructura de la comunidad, dinámica de la población y biología de la almeja amarilla (*Mesodesma mactroides* Desh., 1854) en Mar Azul (Pdo. de Gral. Madariaga, Bs. As., Argentina). Proy. Desarr. Pesq. FAO, Ser. Inf. Tecn. Publ., Mar del Plata, v. 27, p. 1-90.
- Orban, E., Di Lena., G., Nevigato, T., Casini, I., Caproni, R., Santaroni, G., Giulini, G. 2007. Nutritional and commercial quality of the striped venus clam, *Chamelea gallina*, from the Adriatic Sea. Food Chemistry, 101 (3): 1063-1070.

- Padin, X.A., Babarro, J.M.F., Silva, E., Longa P.M.A., Calvo, S., Nolasco, R. 2021. Variability in strength of byssus attachment and index condition of subtidal mussels during the maximum growth stage. Aquaculture Research, 52(8), 3485-3497.
- Penchaszadeh, P.E., Paredes, C., Salaya, J.J. 2000. Reproductive cycle of the south American scallop *Amusium laurenti* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Pectinidae). Aquaculture International, 8:227–235.
- Peredo, S., Parada, E., Valdebenito, I. 1986. Gametogenesis and reproductive cycle of the surf clam *Mesodesma donacium* (Lamarck, 1818) (Bivalvia: Mesodesmatidae) at Queule Beach, southern Chile. Veliger, 30:55–68.
- Peñuela-Jiménez, J.H., Guevara, M., Saucedo, P.E., Núñez, M.P., Troccolo, L., Freites, L. 2021. Influence of contrasting environmental variables on the fatty acid profile of the winged oyster *Pteria colymbus*. Regional Studies in Marine Science, 41, 101603
- Pourmozaffar, S., Tamadoni, J.S., Rameshi, H., Sadeghi, A., Bagheri, T., Behzadi, S., Gozari, M., Reza, Z.M., Abrari, L.S. 2020. The role of salinity in physiological responses of bivalves. Reviews in Aquaculture, 12(3): 1548-1566.
- Ramesha, M.M., Thippeswamy S. 2009. Allometry and condition index in the freshwater bivalve *Parreysia corrugata* (Muller) from river Kempuhole, India. Asian Fisheries Science, 22: 203-214.
- Rosa, A.O. 2006. A importância dos mariscos na subsistência de antigos grupos indígenas no Litoral Central. Pesquisas, Antropologia, 63: 259-288.
- Rodrick, G.E., Ulrich, S.A. 1984. Microscopical studies on the hemocytes of bivalves and their phagocytic interaction with selected bacteria. Helgoländer Meeresuntersuchungen, 37(1): 167-176.
- Risoli, M.C., Baldoni, A., Giménez, J., Lomovasky, B.J. 2019. Age and growth variability of the yellow clam (*Mesodesma mactroides*) in two populations from Argentina: implications under climate change. Canadian Journal of Zoology, 98(7): 481-494.
- Saucedo, P.E., Southgate, P.C. 2008. Reproduction, development and growth. In: Southgate, Paul C., and Lucas, John S., (eds.) The Pearl Oyster. Elsevier, Oxford, UK, pp. 131-186.

- Santos, J.J.S., Bernardes, J.P., Ramírez, J.R.B., De Miranda Gomes, C.H.A., Romano, L.A. 2020a. Effect of salinity on embryo-larval development of yellow clam *Mesodesma mactroides* (Reeve, 1854) in laboratory. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 92(Suppl. 1): e20190169.
- Santos, J.J.S., Bernardes, J.P., Ramírez, J.R.B., Ramos, C.O., De Miranda Gomes, C.H.A., Romano, L.A. 2020b. Embryo and larval development of the yellow clam *Mesodesma mactroides* (Reeve, 1854) in laboratory. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 92(Suppl. 1): e20190053.
- Sastry, A.N. 1970. Reproductive physiological variation in latitudinally separated populations of the bay scallop *Aequipecten irradians* Lamarck. Biological Bulletin, 138:56–65.
- Soares-da-Silva, I.M., Ribeiro, J., Valongo, C., Pinto, R., Vilanova, M., Bleher, R., Machado, J. 2002. Cytometric, morphologic and enzymatic characterisation of haemocytes in *Anodonta cygnea*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. 132(3): 541-553.
- Schiedek, D., Zebe, E. 1987. Functional and environmental anaerobiosis in the razor-clam *Ensis directus* (Mollusca: Bivalvia). Marine Biology, 94: 31–37 (1987).
- Schwenke, R. A., Lazzaro, B. P., and Wolfner, M. F. (2016). Reproduction—immunity trade-offs in insects. Annu. Rev. Entomol. 61, 239–256.
- Silva, D.C.C., Neto, J.M., Nunes, C., Gonçalves, F.J.M., Coimbra, M.A., Marques, J.C., Gonçalves, A.M.M. 2021. Assessment of seasonal and spatial variations in the nutritional content of six edible marine bivalve species by the response of a set of integrated biomarkers. Ecological Indicators, 124: 107378
- Signorelli, J.H. 2019. The Family Mesodesmatidae (Mollusca: Bivalvia). In: The Superfamily Mactroidea (Mollusca: Bivalvia). In: The Superfamily Mactroidea (Mollusca: Bivalvia) in American Waters. Springer, Cham, Switzerland.
- Travers, M.A., Silva, P.M., Goic, N.L., Marie, D., Donval, A., Huchette, S., Koren, M., Paillard, C. 2008. Morphologic, cytometric and functional characterization of abalone (*Haliotis tuberculata*) haemocytes. Fish & Shellfish Immunology. 24(4): 400-411

- Truchet, D.M.; Forero Lopez, A.D.; Ardusso, M.G.; Rimondino, G.N.; Buzzi, N.S.; Malanca, F.E.; Spetter, C.V.; Fernández Severini, M.D., 2021. Microplastics in bivalves, water and sediments from a touristic sandy beach of Argentina. Marine Pollution Bulletin, 173: 113023.
- Thompson, G.A., Sánchez De Bock, M. 2007. Mortandad Masiva de *Mesodesma mactroides* (Bivalvia: Mactracea) en el Partido de La Costa, Buenos Aires, Argentina, en Setiembre 2004. Atlantica, 29(2): 115-119
- Vázquez, N., Fiori., S., Arzul, I., Carcedo, C., Cremonte, F. 2016. Mass Mortalities Affecting populations of the yellow clam *Amarilladesma mactroides* along its geographic range. Journal of Shellfish Research, 35(4): 739–745.
- Venugopal, V., Gopakumar, K. 2017. Shellfish: nutritive value, health benefits, and consumer safety. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16: 12191242.
- Villarroel, J., Acosta, V., Arrieche, D. 2016. Condiciones fisiológicas de una población de *Arca zebra* (Bivalvia: Arcidae) del banco de Chacopata, Sucre, Venezuela. Revista de Biología Tropical, 64(3): 1345-1352.
- Wahidullah, S., Devi, P., D'Souza, L. 2021. Chemical composition, nutritive value and health benefits of edible clam *Meretrix casta* (Chemnitz) from West Coast of India. Journal of Food Science and Technology, 58(3): 1165-1176.
- Walne, P.R., Mann, R. 1975. Growth and biochemical composition in *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas*. In: 9<sup>th</sup> European Marine Biology Symposium, Barnes, H. (Ed.), Aberdeen University Press, Scotland, 587-607.
- Ways, P., Hanahan. 1964. Characterization and quantification of red cell lipids in normal man. Journal of Lipid Research, 5(3): 318-328.
- Zandee, D.I., Holwerda, D.A., De Zwaan, A.D. 1980. Energy metabolism in bivalves and cephalopods. In: Animals and Environmental Fitness: Physiological and Biochemical Aspects of Adaptation and Ecology, Gilles, R. (Ed.), Pergamon Press, Oxford, UK, 185-206.
- Zhang, H., He, M. 2020. The role of a new insulin-like peptide in the pearl oyster *Pinctada fucata martensii*. Scientific Reports, 10: 433.
- Zi-Xuan, Wu., Xiao-Pei, Hu., Da-Yong, Zhou., Zhi-Feng, Tan., Yu-Xin, Liu., Hong-Kai, Xie, Rakariyatham, K., Shahidi, F. 2019. Seasonal variation of proximate

- composition and lipid nutritional value of two species of scallops (*Chlamys farreri* and *Patinopecten yessoensis*). European Journal of Lipid Science and Technology 121 (7): 1800493.
- Zeng, Y., Yang, H. 2020. Review of molluscan bivalve condition index calculations and application in Northern Quahogs *Mercenaria mercenaria*. Aquaculture Research, 52(1): 23-36.
- Zurburg, W., De Zwaan, A. 1981. The Role of Amino Acids in Anaerobiosis and Osmoregulation in Bivalves. The Journal of Experimental Zoology. 215: 315-325