



FELIPE SOARES DA SILVA

ESTUDO DAS CAUSAS DA MORTALIDADE DE VIEIRAS *Nodipecten nodosus*(MOLLUSCA: BIVALVIA) EM ANGRA DOS REIS, RIO DE JANEIRO

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DANATUREZA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

JoãoPessoa
2025

FELIPE SOARES DA SILVA

**ESTUDO DAS CAUSAS DA MORTALIDADE DE VIEIRAS *Nodipecten*
nodosus(MOLLUSCA: BIVALVIA) EM ANGRA DOS REIS, RIO DE JANEIRO**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas (Trabalho Acadêmico de conclusão de Curso), como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Nome da Orientadora: Profa. Dra. Patricia Mirella da Silva Scardua

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S586e Silva, Felipe Soares da.

Estudo das causas da mortalidade de vieiras
Nodipecten nodosus (MOLLUSCA:BIVALVIA) em Angra dos
Reis, Rio de Janeiro / Felipe Soares da Silva. - João
Pessoa, 2025.

51 p. : il.

Orientação: Patrícia Mirella da Silva Scardua.

TCC (Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas) -
UFPB/CCEN.

1. Histopatologia. 2. Neoplasia disseminada. 3.
Saúde de Bivalves. I. Scardua, Patrícia Mirella da
Silva. II. Título.

UFPB/CCEN

CDU 57(043.2)

FELIPE SOARES DA SILVA

ESTUDO DAS CAUSAS DA MORTALIDADE DE VIEIRAS *Nodipecten nodosus* (MOLLUSCA: BIVALVIA) EM ANGRA DOS REIS, RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas, como requisito parcial à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Paraíba.

Data: 29 de Setembro de 2025

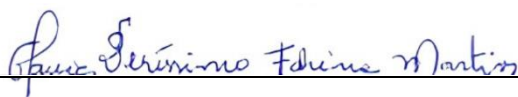
Resultado: APROVADO

BANCA EXAMINADORA:



Profa. Dra. Patrícia Mirella da Silva Scardua – DBM/CCEN/UFPB

Orientadora



Profa. Dra. Gláucia Veríssimo Martins – DBM/ CCEN/UFPB

Avaliadora



Prof. Dr. Fernando Ramos Queiroga – DBM/CCEN/UFPB

Avaliador

*Dedico este trabalho à minha mãe, pelo amor, apoio e pelas lágrimas derramadas para que eu
pudesse estar aqui.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade e privilégio de estar vivo e por ter me colocado exatamente onde estou neste momento. Sem fé n'Ele, nada eu seria e não haveria motivos para viver.

Aos meus pais, que sempre se doaram e continuam se doando diariamente para oferecer melhores condições de vida a mim e ao meu irmão. Só Deus sabe o que enfrentamos durante esses quatro anos de curso no ambiente familiar. Em meio a tantos sinais de queda e dificuldade, sempre houve fôlego e esperança sustentados pela fé. Obrigado por me ensinarem a ser um ser humano melhor.

À minha amada Vitória, que esteve ao meu lado em todos os momentos — difíceis e felizes — e que é, para mim, um grande exemplo de responsabilidade e dedicação profissional.

Ao meu irmão, meu melhor amigo, com quem compartilhei a formação básica em quase tudo o que hoje faço e gosto.

Aos meus amigos, que jamais chamarei de colegas, pois todos me marcaram e têm um lugar especial no meu coração.

À minha orientadora, não apenas pela paciência com meus atrasos, mas principalmente por me ensinar que, independentemente do sucesso profissional, o mais importante é manter um coração humilde e bonito para viver a vida intensamente.

Ao Natan, por todos os ensinamentos e paciência — além do Valorant nunca concretizado.

Ao LABIPI, minha segunda casa, onde aprendi o verdadeiro significado de fazer ciência.

E, por fim, à UFPB, por permitir que pessoas em situações de vulnerabilidade também possam sonhar e alcançar seus objetivos.

RESUMO

A vieira *Nodipecten nodosus* é um dos bivalves cultivados no Brasil de maior valor econômico. A maior produção nacional de vieiras ocorria, até 2017, na Baía da Ilha Grande (RJ), quando iniciaram episódios de mortalidade consecutivos, comprometendo severamente a produção e levando a perdas econômicas importantes. As mortalidades recorrentes representam um entrave para a continuidade e sustentabilidade do setor. Eventos de mortalidade em bivalves já foram registrados em populações de bivalves de outros continentes, cujas causas foram tanto associadas a agentes infecciosos específicos quanto a uma combinação de fatores. Este estudo teve como objetivo analisar a saúde das vieiras coletadas em Angra dos Reis e Cabo Frio e buscar por potenciais agentes associados aos eventos sucessivos de mortalidade. Entre maio e junho de 2024, foram coletadas vieiras de cultivos de Angra dos Reis (N = 50), alguns dias após um evento de mortalidade; e de Cabo Frio (N = 20, área controle – sem registro de mortalidade). Os animais foram abertos e os tecidos foram retirados e conservados para procedimentos diagnósticos: PCR para detecção do protozoário *Perkinsus* spp. e do herpesvírus de ostra (OsHV-1); e cortes histológicos para avaliação do estado de saúde geral. Os resultados mostraram em vieiras de Angra dos Reis a presença esporádica, não patológica, de alguns microrganismos: ciliados no lúmen do intestino, protozoários não identificados, fagocitados, no epitélio do intestino e copépodes no lúmen do estômago. Não foi detectado *Perkinsus* spp. ou herpesvírus. Todos os animais de Angra dos Reis exibiram uma significativa alteração da glândula digestiva, órgão que assimila os nutrientes, caracterizada por atrofia dos túbulos digestivos e acúmulo de material de coloração amarelo-amarronzado no lúmen. No epitélio do estômago e do intestino houve desorganização da arquitetura, com perda de coesão entre as células e infiltração hemocitária (47%). No epitélio do manto, algumas regiões apresentaram exacerbada melanização (42%). Foi observada (26%) a presença de células infiltradas no tecido conjuntivo de vários órgãos, com características anaplásicas, hipertrofiadas e com alta relação núcleo-citoplasma, associada à presença de figuras mitóticas, caracterizando proliferação celular. Estas características são típicas de neoplasia disseminada de bivalves, que tem possível origem hemocitária. Em Cabo Frio, ocorreu somente acúmulo de material amarelo-amarronzado (40%) sem atrofia dos túbulos digestivos e intensa melanização no manto (10%). É possível concluir que as alterações histopatológicas detectadas nas vieiras de Angra dos Reis indicam uma situação de estresse fisiológico dos animais, mas não há como afirmar que seja a causa das mortalidades das vieiras. A neoplasia disseminada, se confirmada, seria o primeiro caso desta enfermidade em bivalves pectinídeos.

Palavras-chave: Histopatologia, Neoplasia disseminada, Saúde de Bivalves.

ABSTRACT

The scallop *Nodipecten nodosus* is one of the most economically valuable bivalves cultivated in Brazil. Until 2017, the largest national production of scallops occurred in Ilha Grande Bay (RJ), when consecutive mortality episodes began, severely compromising production and leading to significant economic losses. Recurrent mortalities represent an obstacle to the continuity and sustainability of the sector. Mortality events in bivalves have already been recorded in bivalve populations on other continents, the causes of which have been associated with both specific infectious agents and a combination of factors. This study aimed to analyze the health of scallops and search for potential agents associated with successive mortality events. Between May and June 2024, scallops were collected from a farm in Angra dos Reis (N = 50) a few days after a mortality event and from Cabo Frio (N = 20, control area). The animals were opened, and tissues were removed and preserved for diagnostic procedures: PCR for detection of the protozoan *Perkinsus* spp. and oyster herpesvirus (OsHV-1); and histological sections for assessment of overall health status. The results showed sporadic, non-pathological presence of some microorganisms in scallops from Angra dos Reis: ciliates in the intestinal lumen, unidentified protozoa, possibly phagocytosed, in the intestinal epithelium, and copepods in the stomach lumen. *Perkinsus* spp. or herpesvirus were not detected. All animals from Angra dos Reis showed significant changes in the digestive gland, the organ responsible for nutrient assimilation, characterized by atrophy of the digestive tubules and accumulation of yellow-brown material in the lumen. In the epithelium of the stomach and intestine, there was disorganization of the architecture, with loss of cohesion between cells and hemocyte infiltration (47%). In the mantle epithelium, some regions showed exacerbated melanization (42%). The presence of infiltrated cells in the connective tissue of various organs was observed (26%), with anaplastic, hypertrophied characteristics and a high nucleus-cytoplasm ratio, associated with the presence of mitotic figures, characterizing cell proliferation. These characteristics are typical of disseminated neoplasia in bivalves, which may have a hemocyte origin. In Cabo Frio, there was only an accumulation of yellow-brown material (40%) without atrophy of the digestive tubules and intense melanization in the mantle (10%). It is not possible to conclude that the histopathological changes detected are the cause of scallop mortality, but they indicate a situation of physiological stress in the animals. If confirmed, disseminated neoplasia would be the first case in pectinids.

Keywords: Disseminated neoplasia, Histopathology, Molecular analysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Coleta de vieiras <i>N. nodosus</i> no Estado do Rio de Janeiro. Coleta e processamento realizado pelos pesquisadores da FIPERJ (A). Áreas de coleta das vieiras – Fazenda do Louro (Angra dos Reis) e Enseada do Forno (Arraial do Cabo) (B).....	26
Figura 2. Representação esquemática da metodologia experimental desenvolvida.....	27
Figura 3. Hipnósporo de <i>Perkinsus</i> spp. visualizado no meio RFTM	28
Figura 4. PCR convencional em amostras de <i>N. Nodosus</i> (Nn) de Angra dos Reis para detecção de Herpesvírus (A) e <i>Perkinsus</i> spp (B). Marcador 1kb (M). <i>P. marinus</i> (Pm) e <i>P. beihaiensis</i> (Pb). Circulo vermelho = amplificação do controle positivo.....	31
Figura 5. Secções histológicas de <i>N. nodosus</i> . A e B. Copépodes no lúmen do estômago (LE) (seta). C. Metazoário indefinido no LE (seta). D. Ciliado <i>Ancistrocoma</i> (seta) no lúmen do intestino (LI). Barras = 100 µm. Ep: epitélio.....	32
Figura 6. Secção histológica do epitélio do intestino de <i>N. nodosus</i> . A. Possível trofozoíto de <i>Perkinsus</i> sp. (seta) fagocitado por uma célula de defesa. Barra = 100 µm.....	33
Figura 7. Secções histológicas da glândula digestiva de <i>N. nodosus</i> . A-B. Túbulos digestivos saudáveis, onde se observa dilatação associada com o processo digestivo normal. C-D. Túbulos digestivos apresentando alterações de formato e sinais de necrose. Barras = 100 µm.....	34
Figura 8. Secções histológicas da glândula digestiva de <i>N. nodosus</i> . A-B. Acúmulo de substância amarelo-amarronzada no lúmen dos túbulos digestivos que apresentam perda total das células epiteliais e ruptura e degradação. Barras = 100 µm.....	34
Figura 9. Secções histológicas de <i>N. nodosus</i> . A-C. Epitélio do intestino (EI) desorganizado, com perda de coesão celular (seta), acompanhado de infiltração hemocitária (seta grossa) no tecido conjuntivo. Barras = 100 µm.....	35
Figura 10. Secções histológicas do manto de <i>N. nodosus</i> . A-B. Intensa melanização no epitélio da borda do manto (seta). D. Ocelo (seta grossa) localizado na borda do manto. Barra = 500 µm Barra = 100 µm para B e C. Barra = 1000 µm para D.....	36

Figura 11. Secções histológicas da glândula digestiva de *N. nodosus*. A. Intensa infiltração de células neoplásicas (seta grossa) no tecido conjuntivo. TD: Túbulos digestivos. B. Túbulos digestivos apresentando perda do epitélio e das células basófilas (seta). C-D. Comparação entre hemócitos saudáveis (C) e células neoplásicas (D). E Note a alta relação núcleo/citoplasma.

Barras = 100
 µm..... 37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	12
2.1 Bivalves – Biologia e produção.....	12
2.2 Família Pectinidae	14
2.3 Estressores físicos e químicos.....	15
2.4 Estressores biológicos	16
2.5 Virose epitelial digestiva (DEV)	18
2.6 Histopatologia de bivalves.....	19
2.7 Neoplasia disseminada em bivalves	20
2.8 Eventos de mortalidade em bivalves	21
2.9 Caso de mortalidades de vieras em Angra dos Reis.....	22
3 OBJETIVOS.....	25
3.1 Objetivo Geral	25
3.2 Objetivos Específicos	25
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
4.1 Local de Coleta.....	26
4.2 Processamento das amostras	27
4.3 Análises da infecção por <i>Perkinsus</i> spp. Por incubação em RFTM.....	28
4.4 Extração de DNA e detecção molecular de <i>Perkinsus</i> spp. E OsHV-1	28
4.5 Cortes histológicos e análises histológicas.....	29
5 RESULTADOS	31
6 DISCUSSÃO.....	38
7 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

A produção de moluscos bivalves representa um importante setor econômico e social em regiões costeiras, com impacto direto na segurança alimentar, na geração de renda e no desenvolvimento sustentável. Atualmente, no Brasil, a produção desses organismos (malacocultura) está em expansão, em que se cultivam cinco espécies, sendo três de ostras, *Magallana gigas* (ostra japonesa), *Crassostrea gasar* e *Crassostrea rhizophorae* (ostras nativas), uma de mexilhões (*Perna perna*) e uma de vieira (*Nodipecten nodosus*), sendo esta a que possui maior valor comercial dentre todas (Rupp, 2020; Suplicy, 2022).

A produção de bivalves no Brasil vem sendo sustentada pelo fornecimento de sementes (termo referente à fase inicial de vida dos bivalves) produzidas em laboratório. Os dois laboratórios existentes estão situados estrategicamente; no Sul, o mais antigo, na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), e no Nordeste, o mais recente, que é privado (Primar Aquacultura, Tibaú do Sul, RN). Apesar dos avanços adquiridos no desenvolvimento tecnológico para produção de sementes, a fase de engorda, que se dá em áreas estuarinas ou mar aberto, sempre estará sujeita à influência de fatores ambientais externos, a exemplo de: predadores, infecções parasitárias, poluentes (domésticos e/ou industriais), além da salinidade e da temperatura. Muitos desses fatores podem levar à ocorrência de eventos de mortalidade em massa de bivalves (Carella et al., 2015; Garrabou et al., 2009; Gibson et al., 2007; Pereira et al., 2024).

Os parasitas protozoários como os do gênero *Perkinsus* e o herpesvírus da ostra (OsHV-1) são exemplos de agentes infecciosos causadores de mortalidades em massa (Da Silva et al., 2024). Compreender as causas das mortalidades em bivalves é muitas vezes desafiador. No entanto, como a maioria das mortalidades é decorrente de agentes infecciosos, o uso de técnicas de diagnóstico, como histopatologia e análises moleculares (PCR), é uma estratégia satisfatória e recomendada pela Organização Mundial para a Saúde Animal (WOAH) (OIE, 2024).

No Brasil, até o presente momento, há informações de mortalidades apenas em populações cultivadas da vieira *N. nodosus*, as quais vêm ocorrendo desde 2017 de maneira consecutiva na Baía de Ilha Grande (localizada no Município de Angra dos

Reis (RJ) e que provocaram um declínio da produção desse bivalve, que passou de 51,2 para 10,2 toneladas em 2022 (FIPERJ, 2022).

Diante disso, o presente trabalho buscou identificar as possíveis causas das sucessivas mortalidades que vêm ocorrendo na Baía de Ilha Grande (em Angra dos Reis – área de mortalidade) e em Cabo Frio (área sem registro de mortalidade) área mencionada, através de análises moleculares e identificação de possíveis alterações teciduais por meio da histologia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Bivalves – Biologia e produção

O filo MOLLUSCA possui diversas classes com características distintas e específicas. Dentre elas, está a classe BIVALVIA, e estes estão amplamente distribuídos em diferentes ecossistemas aquáticos. Dentre alguns exemplos de bivalves de reconhecida importância ecológica e econômica, estão as ostras e os berbigões, que habitam regiões estuarinas, fixas nas raízes do mangue ou no sedimento (Blankensteyn, 2010).

Por serem organismos filtradores – ou seja, obtêm seu alimento por meio da filtração de partículas, especialmente fitoplâncton suspenso na água – podem retirar substâncias e/ou toxinas do ambiente (Rodrigues, 2010). Dessa forma, são capazes de indicar a qualidade ambiental do local onde vivem, funcionando como organismos sentinelas e bioindicadores da intensidade da atividade antrópica nos ecossistemas em que estão inseridos (Blankensteyn, 2010).

Além do seu papel ecológico, os bivalves, por terem inúmeros representantes comestíveis, constituem um recurso econômico importante. De fato, em países em desenvolvimento, em regiões litorâneas, eles são usados como fonte de alimento e como uma importante fonte de renda. O consumo de bivalves é um hábito humano que remonta a mais de 150 mil anos (Suplicy, 2022), e seu cultivo tem registros datados de

aproximadamente 140 A.C.(Faro, 2017). Os moluscos representam cerca de 32% da produção mundial de organismos aquáticos, sendo os bivalves os mais cultivados, com destaque para a Família Ostreidae (FAO, 2022).

Em 2022, a produção de moluscos atingiu 17,7 milhões de toneladas, sendo os bivalves responsáveis pela maior parte desse volume. A China é, atualmente, a principal produtora (FAO, 2022). Já, na América do Sul, a malacocultura é expressiva no Chile, o primeiro a iniciar a produção em larga escala, seguida do Brasil e Argentina. No Brasil, o Estado de Santa Catarina é o maior produtor nacional, concentrando cerca de 90% da produção (BRASIL, 2023).

As ostras são os bivalves mais cultivados no país, principalmente a espécie introduzida *Magallana gigas*, que teve seu cultivo iniciado na década de 1970, mas devido a sua preferência por temperaturas mais amenas, seu cultivo ficou restrito a região Sul do país. As espécies de ostras nativas *Crassostrea gasar* e *C. rhizophorae*, tiveram sua produção iniciada mais recentemente, e a *C. gasar* tem sido a mais produzida, pois apresenta melhores desempenhos em crescimento (Suplicy, 2022). Outras espécies de bivalves, como aquelas pertencentes à família Pectinidae, também são produzidas e apresentam relevante interesse econômico e relevância ecológica.

Em 2023, o Brasil produziu um total de 7.201,63 toneladas de moluscos bivalves (BRASIL, 2023), representando um crescimento de 3,77% em relação ao ano anterior. No Estado de São Paulo, registrou-se um decréscimo na produção de moluscos em relação ao ano anterior, mesmo havendo declaração para o cultivo de *Magallana gigas* e vieiras, totalizando uma redução de 28,11 toneladas em relação a 2022 (BRASIL, 2023). Situação semelhante ocorreu no Estado do Rio de Janeiro, especialmente na produção de vieiras, que passou de 423,48 toneladas em 2022 para 130,81 toneladas em 2023 (BRASIL, 2023). No Nordeste, destaca-se o Estado do Rio Grande do Norte, cuja produção de ostras apresentou crescimento expressivo: entre 2020 e 2023, passou de 0,80 tonelada por ano a 152 toneladas (BRASIL, 2023).

2.2. Família Pectinidae

A família Pectinidae compreende mais de 350 espécies de moluscos bivalves, embora apenas algumas sejam cultivadas com fins comerciais (Dore, 1991; Igarashi, 2023). Trata-se de um grupo cosmopolita, com distribuição que abrange os oceanos Atlântico, Pacífico e Índico, ocorrendo em mares tropicais, subtropicais e frios (Costa, 2018; Igarashi, 2023).

O cultivo comercial de pectínídeos teve início no Japão, na década de 1960, sendo a espécie *Mizuhopecten yessoensis* (Jay, 1857) a primeira a ser cultivada em larga escala, na Baía de Mutsu vide revisão de (Rupp, 2020). Atualmente, a China e o Japão se destacam mundialmente como os maiores produtores de pectínídeos.

No Brasil, apenas uma espécie tem relevância para a produção, a *N. nodosus* (Linnaeus, 1758), conhecida como vieira-do-Brasil. Essa espécie é considerada a maior vieira do país, podendo atingir até 18 cm de comprimento (Rupp, 2020). O cultivo experimental teve início na década de 1990, no Estado de Santa Catarina, por meio de estudos de viabilidade técnica e de captação de sementes em ambientes naturais (RUPP, 1992, 1994). No entanto, os resultados desses estudos foram limitados pela baixa taxa de obtenção de sementes. A viabilidade da produção comercial só foi alcançada a partir do desenvolvimento de tecnologias voltadas à produção de sementes em laboratório (Rupp, 2020). Atualmente, Santa Catarina, Rio de Janeiro e São Paulo contam com fazendas comerciais dedicadas à criação dessa espécie (Igarashi, 2023). O cultivo de *N. nodosus* é composto por várias fases. As etapas iniciais - maturação de reprodutores, larvicultura, assentamento e berçário primário – ocorrem em ambiente controlado de laboratório. Em seguida, o processo continua no mar, passando pelo berçário secundário, cultivo intermediário e, por fim, a engorda, sendo a fase final da produção (Rupp, 2020). Os cultivos são instalados em áreas marinhas próximas ou no interior das baías. O trabalho do Rupp, 2020, traz recomendações das características ambientais que otimizam a produção de vieiras, entre as quais estão: profundidade acima de 8 m, concentração de matéria inorgânica em suspensão inferior a 80%, salinidade superior a 29‰ e temperaturas que não ultrapassem 29°C por longos períodos.

Em 2018, a produção de vieiras em Santa Catarina foi de 3,84 toneladas,

gerando uma movimentação financeira de R\$173.200,00 (EPAGRI, 2018). No Rio de Janeiro, houve um decréscimo na produção de vieiras que caiu de 51,2 toneladas em 2016 para 10,2 toneladas em 2022 (FIPERJ, 2022). No nordeste, não há registros de produção de vieiras, concentrando a produção na região sul/sudeste do país.

2.3 Histopatologia de bivalves

O entendimento da morfologia e do funcionamento das células e tecidos dos organismos vivos tem sido objeto de estudo desde a invenção dos primeiros microscópios, por volta de 1590. Um marco importante ocorreu em 1665, quando Robert Hooke, ao observar fatias de cortiça, identificou pequenas estruturas que denominou “células” (Montanari, 2016). Desde então, diversas técnicas de fixação, coloração e observação de materiais biológicos ao microscópio evoluíram significativamente, permitindo avanços no diagnóstico e na compreensão de processos fisiológicos e patológicos. A histologia é a área da ciência voltada para o estudo dos tecidos animais e vegetais, sua organização e a relação destes na composição dos diferentes organismos (Caputo, 2016). Ao longo dos séculos XIX e XX, consolidou-se como um ramo fundamental da Medicina, especialmente com os avanços promovidos por obras como o *Handbuch der Physiologie des Menschen* (Johannes Müller, 1837 e *Die Cellular pathologie* (Rudolf Virchow, 1859). Este último estabeleceu a patologia celular como uma ciência, firmando a histologia como uma ferramenta essencial no diagnóstico médico e na compreensão dos processos patológicos. No estudo de bivalves, a histopatologia é uma ferramenta essencial para a identificação de alterações patológicas desencadeadas por diversos estressores (físico-químicos e biológicos) (Cuevas et al., 2015).

Não obstante, a análise histopatológica é uma ferramenta central para a compreensão das doenças em moluscos bivalves, pois permite a caracterização de um amplo espectro de processos patológicos. Conforme revisado por (Carella et al., 2015), essa abordagem possibilita a identificação morfológica das respostas defensivas do hospedeiro, classificadas em três tipos histológicos básicos — infiltração hemocitária, nodulação e encapsulamento. Adicionalmente, a técnica é crucial para detectar alterações teciduais regressivas, como necrose, apoptose e atrofia da glândula digestiva, bem como processos progressivos, a exemplo das neoplasias.

A capacidade da histopatologia de revelar tanto a diversidade parasitária quanto o impacto patogênico específico é bem exemplificada no trabalho de Vázquez et al. (2013), que identificou no bivalve *Ensis macha* na costa da Patagônia uma diversificada presença de microrganismos, incluindo procariontes, protozoários.

No Brasil, a histopatologia tem sido uma ferramenta relevante em estudos sobre a saúde de moluscos bivalves. Exemplo notório de sua aplicação é o trabalho de (Da Silva et al., 2009), que investigou um episódio de mortalidade em massa do bivalve *Tagelus plebeius* em Santa Catarina. Na ocasião, a análise histopatológica revelou alta prevalência de parasitas do gênero *Parvatrema*, com alterações no hospedeiro como a hiperplasia do manto e infiltração hemocitária. Apesar de não poder descrever a condição patológica como o único fator para o evento de mortalidade, o estudo evidencia a histologia como instrumento essencial na avaliação da saúde de bivalves nos ecossistemas brasileiros.

A capacidade da histologia de diagnosticar patologias severas, como a castração parasitária, foi demonstrada também em estudos recentes no Brasil. No trabalho de Oliveira et al., (2022), por exemplo, a análise do mexilhão *Perna perna* infectado por *Proserhynchoides* sp. no Rio de Janeiro revelou uma observação patológica crucial. Através da análise tecidual, observou-se que 77% dos indivíduos infectados não possuíam tecido gonadal visível, em contraste com apenas 4% dos não parasitados, estabelecendo uma forte correlação entre a presença do parasita e a castração do hospedeiro.

Essa abordagem é especialmente relevante para subsidiar ações preventivas e estratégias de manejo sanitário adequado nos cultivos aquícolas.

2.4 Estressores químicos e físicos

A aquicultura pode ser afetada por estressores ambientais que comprometem a saúde dos animais cultivados, o que consequentemente impacta negativamente a economia e o consumo desses organismos. Por serem aquáticos, sua saúde está diretamente relacionada às condições físico-químicas e sanitárias da água (Braune, 2022). A ausência de saneamento básico e o descarte inadequado de poluentes

provenientes da agricultura, mineração e indústria alteram significativamente a qualidade da água e comprometem a saúde desses animais, especialmente pela toxicidade de algas nocivas resultantes desses processos, além de potencialmente afetar os seres humanos que consomem esses animais.

Substâncias tóxicas e outros compostos contaminantes podem se concentrar nos tecidos dos animais em níveis até 10.000 vezes superiores aos encontrados no ambiente, em um processo conhecido como bioacumulação (UNEP, 2004). Entre os principais contaminantes estão produtos farmacêuticos e de uso pessoal, metais pesados, pesticidas, poluentes orgânicos persistentes (POPs), surfactantes e microplásticos – todos com potencial de comprometer a saúde dos bivalves (Chahouriet *al.*, 2023). Esse acúmulo ocorre quando a taxa de absorção supera a de eliminação, podendo desencadear diversos efeitos fisiológicos adversos e representar riscos à saúde humana (Braune, 2022; Sarah *et al.*, 2006).

Na espécie *N. nodosus* já foram observados níveis mais elevados de metais pesados no intestino em comparação com outros tecidos, como músculo adutor e as brânquias (Santos *et al.*, 2024). Esse padrão também foi registrado em outras espécies pertencentes à família Pectinidae, como *Argopecten purpuratus* (Alamo, 2020) e *Patinopecten yessonensis* (Li *et al.*, 2021). Galvão (2009) relatou um aumento súbito e significativo na concentração de cádmio (Cd) na glândula digestiva de *N. nodosus* após os 10 meses de idade, sugerindo uma possível mudança fisiológica nessa fase de vida. O cádmio é um metal conhecido por apresentar uma longa meia-vida biológica em bivalves, estimada entre 100 e 120 dias (Brown, *et al.*, 1996), o que favorece a bioacumulação desde os estágios iniciais de desenvolvimento do bivalve. Apesar desses efeitos adversos, *N. nodosus* demonstra certa capacidade de resposta adaptativa (Piazza *et al.*, 2016) através da indução da biotransformação. Neste artigo, em resposta à exposição das vieras ao fenantreno, foi observado um aumento da transcrição de diferentes genes do Citocromo P450 (CYP), resultando em maior expressão de enzimas responsáveis pelo metabolismo e depuração de contaminantes.

Com respeito aos estressores físicos, as alterações térmicas também comprometem o metabolismo, crescimento e reprodução dos bivalves, aumentando sua suscetibilidade a doenças causadas por agentes oportunistas (Lanniget *al.*, 2010). O

aumento da temperatura dos oceanos, bem como a ocorrência de ondas de calor marinhas, tem sido apontado como sendo os principais fatores associados a eventos de mortalidade em massa de espécies marinhas (Garrahou et al., 2009; Gibson et al., 2007; Hobday et al., 2016; Pereira et al., 2024; Poloczanska et al., 2013; Wernberget et al., 2016).

Já é conhecido que temperaturas superiores a 30°C podem causar alterações fisiológicas significativas em vieiras (*N. subnodosus*) adultas, como aumento da atividade enzimática, maior consumo de oxigênio e elevação do gasto energético (Salgado-García et al., 2020). Um estudo mais recente revelou que, embora *N. nodosus* tenha demonstrado maior tolerância térmica do que se estimava anteriormente, ainda existe um risco substancial de mortalidade quando exposta a ondas de calor intensas e prolongadas (Pereira et al., 2024).

2.5 Estressores Biológicos

Os bivalves são igualmente vulneráveis a doenças causadas por agentes infecciosos, cujo impacto tende a ser mais significativo em populações cultivadas (Figueras & Novoa, 2012). Historicamente, diversos patógenos de bivalves foram disseminados internacionalmente por meio de transferências voluntárias destinadas à diversificação da produção local desses organismos (Buestel et al., 2009). Atualmente, transferências involuntárias, como as ocasionadas pelas águas de lastro de navios, também são uma preocupação (Carlton, 1999).

Os bivalves são organismos que não possuem memória imunológica, dependendo exclusivamente do sistema imune inato. No entanto, apresentam diversas estratégias de defesa contra patógenos. A defesa interna desses animais é mediada por um sistema complexo, composto por mecanismos celulares e humorais que atuam de forma integrada na resposta imune (Song et al., 2010). Os hemócitos são células presentes na hemolinfa e exercem papel central na defesa contra patógenos, atuando diretamente ou em associação com fatores humorais. Nos bivalves, destacam-se pela participação nos processos de fagocitose, encapsulamento e destruição de microrganismos (Ballina, et al., 2022).

A detecção e notificação de patógenos em bivalves são essenciais para a preservação da saúde dos ecossistemas aquáticos, segurança alimentar e manutenção da produção aquícola. A WOAHP mantém uma lista oficial de doenças de notificação obrigatória, relacionadas à espécies-alvo, representando um risco à saúde destes animais, levando a eventos de mortalidades significativas e comprometendo a produção. As doenças listadas pela WOAHP são: infecções por protozoários: *Bonamia ostreae*, *Bonamia exitiosa*, *Marteilia refringens*, *Perkinsus marinus*, *Perkinsus olseni*, por bactéria: *Xenohalictis californiensis* e por vírus: herpesvírus do abalone (OIE, 2024).

Bactérias, vírus, fungos e protozoários são agentes infecciosos que afetam bivalves. No caso das vieiras, alguns destes agentes infecciosos já foram relatados em vieiras de vários continentes (Bower, 1994). Um caso conhecido de mortalidade ocorreu na baía de Narragansett, na ilha de Rhode (EUA). Na ocasião, foi relatado um decréscimo populacional de vieiras da espécie *Plactopecten magellanicus* associado à infecção procariótica (Gulka, C & Marti, 1983).

No Brasil, não há estudos de doenças causadas por agentes infecciosos em vieiras nativas, apenas um levantamento, que relatou microrganismos comensais na vieira *N. nodosus* cultivada em Santa Catarina (Sühnel et al., 2016) além de anelídeos perfuradores de concha comumente encontrados em bivalves cultivados. Esse cenário pode ser indicativo de uma boa resposta imunológica da espécie para a infecção pelos patógenos citados, porém, é esperado que seja uma consequência da falta de estudos que abordem esse eixo de pesquisa para a espécie de vieira nativa.

2.6 Virose epitelial digestiva (DEV)

Sintomas não específicos, ou seja, aqueles não associados diretamente com agentes infecciosos, podem ocorrer em bivalves, como as infiltrações e granulocitomas hemocitários, além de alterações do aspecto normal da glândula digestiva denominadas de virose epitelial digestiva (DEV, do inglês *Digestive Epithelia Virosis*).

As alterações do tipo DEV na glândula digestiva de bivalves têm sido associadas a diversos contextos patológicos, como resposta a estresses ambientais, infecção por patógenos – sintomatologia parecida àquela observada em animais infectados pela

doença da virose epitelial digestiva (Hine&Wesney, 1997) ou processos naturais do ciclo de digestão do animal (Rolton et al., 2023; Webb, 2018).

Entre os sinais histopatológicos mais característicos da DEV, destacam-se regiões necróticas nos túbulos digestivos, frequentemente acompanhadas do acúmulo de uma substância irregular de coloração amarelada, indicativa da presença de polissacarídeos, muco e mucinas (Hine & Wesney, 1997; Rolton et al., 2023). No entanto, esta condição ainda é pouco compreendida e de etiologia indefinida.

A DEV foi associada a episódios significativos de mortalidade em bivalves, como observado durante o verão de 1994 na Nova Zelândia, quando mexilhões *Perna canaliculus* foram severamente afetados (Jones, et al., 1996). Desde então, a condição tem sido relacionada a processos histopatológicos como a morte e desintegração de células que revestem os canais digestivos, formando áreas de tecido “líquido”, processo conhecido como: liquefação necrótica das células epiteliais tubulares, uma intensa hemocitose e a presença de partículas virais (VLPS) (Rolton et al., 2023).

2.7 Neoplasia disseminada em bivalves

A proliferação excessiva de células anaplásicas- células cancerígenas com forma e função desreguladas - indiferenciadas e que apresentam elevada relação núcleo/citoplasma, constitui uma característica típica da neoplasia disseminada de bivalves (Barber, 2004; Carballal et al., 2015). Trata-se de uma enfermidade capaz de desencadear eventos de mortalidade em massa, inicialmente descrita como um câncer contagioso em ostras em 1986 (Roxanna, 1986), embora já em 1969 tivesse sido observada a presença de uma “provável doença neoplásica do sistema hematopoiético” em *C. virginica* e *C. Gigas* (Barber, 2004; Carballal et al., 2015; Farley, 1969). Historicamente, a doença recebeu diferentes denominações, tais como neoplasia hemocítica, leucemia hemocítica e neoplasia hematopoiética (Barber, 2004; Miller, Sturmerand Roberts, 2023). O termo “neoplasia disseminada” é o mais aceito e amplamente utilizado na literatura, sobretudo em virtude da incerteza sobre sua origem celular, ainda que se acredite ter origem hemocítica (Barber, 2004).

Essa enfermidade já foi registrada em mais de 20 espécies de bivalves, incluindo ostras dos gêneros *Crassostrea* (Farley, 1969), *Saccostrea* (Wolf, 1979) e *Ostrea* (Farley & Sparks, 1970), em mexilhões (Elston, 1992; Rasmussen, 1986), em amêijoas (Yevich & Barszcz, 1977) e em berbigões (Ordás, 2005; Villalba, 2001). Até a data do presente estudo, conforme o conhecimento disponível, não há registros de neoplasia disseminada em bivalves da Família Pectinidae (vieiras).

As características histológicas mais frequentemente observadas em bivalves acometidos incluem a presença de células anaplásicas grandes e arredondadas nos tecidos conjuntivos e vasos, apresentando núcleo hipertrofiado e figuras mitóticas, indicativas de intensa atividade proliferativa (Barber, 2004; Carballal et al., 2015; Da Silva et al., 2018). À medida que a doença progride, essas células infiltram-se nos tecidos, comprometendo a função dos órgãos acometidos e, em casos mais graves, levando à morte do animal (Miller, 2023).

No Brasil, a presença da neoplasia disseminada já foi relatada em ostras nativas (*C.gasar*) provenientes do estuário no Rio Mamanguape (PB) (Da Silva, et al., 2018) com uma prevalência de 7,1%. Essas células infiltravam no tecido conjuntivo de diversos tecidos, incluindo a glândula digestiva, as brânquias, as gônadas e os vasos. Apesar da baixa prevalência registrada, os resultados ressaltam a necessidade de atenção à saúde das populações de cultivo e naturais, a fim de compreender melhor o impacto da doença e sua possível associação com eventos de mortalidade em massa.

2.8 Eventos de mortalidades em bivalves

A etiologia das doenças que afetam bivalves e que podem culminar em eventos de mortalidade em massa é compreendida como um processo multifatorial. Elas resultam não somente da presença de um patógeno, mas da incapacidade da população em se adaptar às pressões externas, sejam elas de natureza física, química ou biológica (Carella et al., 2015). Nesse contexto, o acúmulo de danos que ultrapassa a capacidade de regeneração celular constitui um ponto crítico para o estabelecimento da doença. Características fisiológicas, como idade e o estado reprodutivo, juntamente com a genética individual e os fatores ambientais, determinam a suscetibilidade dos organismos e modulam a dinâmica da interação entre o hospedeiro e o patógeno (Barbosa Solomieu, et al., 2015).

Diversos eventos de mortalidade em massa já foram registrados em bivalves, tanto em sistemas de produção aquícola quanto em populações selvagens (Andrews, 1966; Petton et al., 2015; Cáceres-Martínez et al., 2018; Kim et al., 2025). Entre os casos de maior repercussão está o da ostra japonesa, *M. gigas*, a mais cultivada no mundo (Samain, 2011). No estudo, analisou-se a recorrente mortalidade de verão das ostras e característica multifatorial desses eventos de mortalidade nos quais o processo é desencadeado quando temperaturas estão acima dos 19°C e há alta disponibilidade de alimento, os quais induzem um grande esforço reprodutivo no animal. Esse cenário leva a um intenso estresse metabólico, caracterizado pela produção excessiva de espécies reativas de oxigênio, o que compromete as defesas do hospedeiro. Dessa forma, a mortalidade ocorre quando o animal, fisiologicamente debilitado pelo estresse oxidativo, torna-se suscetível à infecção por patógenos oportunistas, como vírus e bactérias (Samain, 2011).

Epizootias severas causadas por protozoários têm historicamente provocado mortalidade em massa de bivalves, como evidenciado por Andrews (1966) no estudo de *Haplosporidium nelsoni*, causador da doença MSX em *Crassostrea virginica* na Baía de Chesapeake (Andrews, 1966). Monitoramentos em áreas de alta salinidade registraram mortalidade anual de 50–60% nos dois primeiros anos, com padrão sazonal definido: infecções no início do verão resultavam em mortes ainda na mesma estação, enquanto as adquiridas no final do verão permaneciam subclínicas até a primavera seguinte. A persistência do MSX, mesmo com a drástica redução das populações, indicou fonte de infecção independente da densidade hospedeira, levando à inativação de cerca de metade dos bancos de cultivo privados.

Como abordado anteriormente, a mortalidade em bivalves é um fenômeno complexo, frequentemente associado a uma sinergia de estressores ambientais em vez de um único patógeno (Thompson et al., 2023). Um exemplo claro foi um episódio de mortalidade massiva (>90%) de ostras *M. gigas* no México, que ocorreu durante um período de anomalia térmica, floração de algas e hipóxia (Cáceres-Martínez et al., 2018). A investigação da causa revelou um quadro de severa infiltração hemocitária, que se estendia até a glândula digestiva, e um intenso processo de reabsorção gonadal, com testes moleculares negativos para importantes patógenos como herpesvirus-1 da ostra (OsHV-1) e *P. marinus*. Esses achados histológicos foram atribuídos a desordens

fisiológicas causadas pelo estresse ambiental combinado, caracterizando o evento como um caso de mortalidade de verão, e não como uma epizootia por um agente infeccioso específico.

A mortalidade em massa de ostras *M. gigas*, associada ao OsHV-1, é um fenômeno multifatorial, cuja dinâmica de infecção e transmissão depende de uma complexa interação entre fatores do hospedeiro, do ambiente e do próprio patógeno. Estudos como o de (Petton et al., 2015) elucidam essa complexidade, ao demonstrar que a suscetibilidade à doença é influenciada por fatores intrínsecos ao hospedeiro, como a idade e a biomassa; por condições de manejo, como o histórico de criação e a renovação da água; e por variáveis ambientais e epidemiológicas, como as variações de temperatura e a duração da exposição ao vírus.

A mortalidade de bivalves associada a patógenos não é um processo uniforme, mas sim dependente da virulência específica da espécie ou cepa do agente infeccioso (Carella et al., 2015). Essa variabilidade foi claramente demonstrada em um estudo com a ostra *C. virginica* infectada por diferentes espécies e isolados do gênero *Perkinsus* (Kim et al., 2025). Enquanto a espécie *P. chesapeaki* e um isolado de *P. marinus* se mostraram altamente virulentos, induzindo fortes respostas imunes e elevadas taxas de mortalidade, outras espécies como *P. olseni* e *P. honshuensis* causaram baixo impacto, com respostas imunes fracas e baixa mortalidade. O estudo, portanto, evidencia que a identificação precisa do patógeno em nível de cepa é crucial para prever o risco de mortalidade e para o manejo sanitário em populações de ostras.

2.9 Caso de mortalidades de vieiras em Angra dos Reis

A maricultura de vieiras (*N. nodosus*) na Baía de Ilha Grande, Rio de Janeiro, tem enfrentado um acentuado declínio produtivo na última década. Um marco desse processo foi o evento de mortalidade em massa ocorrido em 2017, com perdas estimadas em 300.000 animais (Braune, 2022). O impacto a longo prazo foi evidenciado pela drástica redução na produção, que despencou de 51,2 toneladas em 2017 para apenas 10,2 toneladas em 2022 (FIPERJ, 2022). Atualmente, uma primeira hipótese para esse colapso aponta para uma combinação sinérgica entre os efeitos do aquecimento

global e a deterioração da qualidade da água local, caracterizada pelo excesso de nutrientes, presença de bactérias (*Vibrio*) e bactérias indicadoras de contaminação fecal (*Clostridiodes*). As espécies de *Vibrio* encontradas nesse estudo foram: *Vibrio chagasii*, *V. parahaemolyticus*, *V. diazotrophicus*, *V. rotiferianus*, *V. europaeus*, *V. lentus*, e *V. fortis* (Thompson et al., 2023).

Adicionalmente, uma investigação recente visando a detecção do vírus OsHV-1 após o evento de mortalidade de 2017 não observou o patógeno alvo, porém foram detectadas contaminações por mastadenovírus (do inglês *Humanadenovirus*, HAdV) e norovírus (genogrupo II, GII)(Corrêa et al., 2024).O que reforça a preocupação sobre a influência antrópica nas fazendas de produção de *N. nodosus*.

Outros estudos realizados na região identificaram a presença de fungos com potencial toxigênico para humanos, como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, bactérias dos gêneros *Vibrio* (*V. alginolyticus*, *V. fluvialis* e *V. harveyi*) e *Pseudomonas* em isolados de *N. nodosus* e na água, indicando alterações nas condições ambientais que favoreçam a proliferação desses microrganismos nos cultivos (Santos et al., 2017; Santos et al., 2025).

Portanto, diante da redução expressiva na produção de vieiras *N. nodosus* na Baía de Ilha Grande e da carência de estudos para desvendar as causas dessas mortalidades, este trabalho visa utilizar a histologia e o diagnóstico molecular através de PCR convencional como ferramentas para elucidar as alterações patológicas nos tecidos destes animais.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a presença de parasitas e patologias em vieiras (*N. nodosus*) cultivadas em Angra dos Reis (área com sucessivos eventos de mortalidade) e Cabo Frio (área sem registros de mortalidade) a fim de compreender as causas das sucessivas mortalidades.

3.2 Objetivos específicos

- Detectar a presença de protozoários *Perkinsus* sp. e do herpesvírus da ostra (OsHV-OsH-1) em vieiras de Angra dos Reis e Cabo Frio;
- Detectar alterações histopatológicas em vieiras de Angra dos Reis e Cabo Frio;
- Inferir sobre as possíveis causas das mortalidades
- Descrever ameaças à saúde das vieiras *N. nodosus*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de coleta

As vieiras *N. nodosus* foram coletadas em dois locais no litoral do Estado do Rio de Janeiro: Angra dos Reis (n = 50), onde os eventos de mortalidade vêm ocorrendo, e Arraial do Cabo (n = 20), local onde ainda não foram relatadas mortalidades. Estas coletas foram feitas por pesquisadores da Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro (FIPERJ), Guilherme Búrigo Zanette e Paulo Márcio Santos Costa.

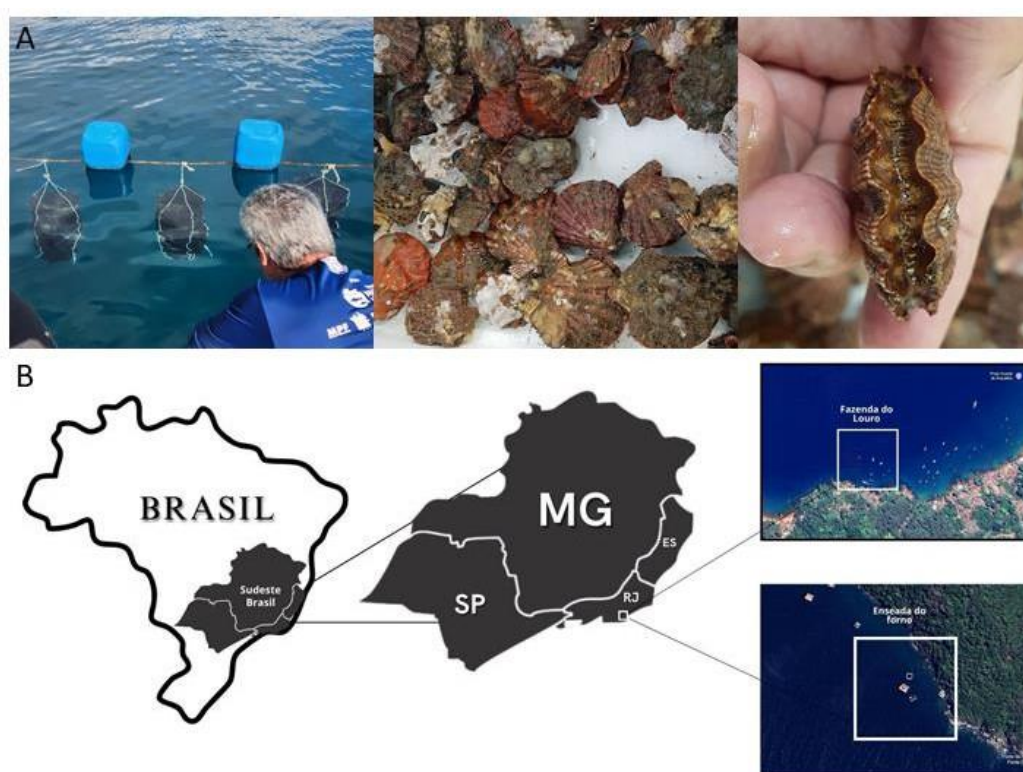


Figura 1. Coleta de vieiras *N. nodosus* no Estado do Rio de Janeiro. Coleta e processamento realizados pelos pesquisadores da FIPERJ (A). Áreas de coleta das vieiras – Fazenda do Louro (Angra dos Reis) e Enxada do Forno (Arraial do Cabo) (B).

4.2 Processamento das amostras

De Angra dos Reis, 20 indivíduos foram fixados inteiros em álcool etílico 95% e mantidos a 4 °C, para análises moleculares. Outros 20 indivíduos foram fixados em solução de formaldeído a 4%, por 48h (4 °C), e posteriormente transferidos para álcool etílico a 70%, para análises histológicas. Outros 10 animais tiveram um fragmento das brânquias removido e incubado em meio fluido de Tioglicolato de Ray (RFTM) (Ray, 1966) suplementado com antibióticos, penicilina/estreptomicina e nistatina, os quais foram mantidos à temperatura ambiente, por 7 dias, e posteriormente transferidos para álcool etílico a 70%, para análise de infecção por *Perkinsus* spp.

De Arraial do Cabo, o mesmo procedimento foi feito, no entanto, o número de animais foi de 10 para análises moleculares, de 10 para análises histológicas e não foram conservados animais para a análise de infecção por *Perkinsus* spp. pelo método do RFTM.

Todos os animais conservados como explicado acima foram enviados ao Laboratório de Imunologia e Patologia de Invertebrados Marinhos (LABIPI), da Universidade Federal da Paraíba.

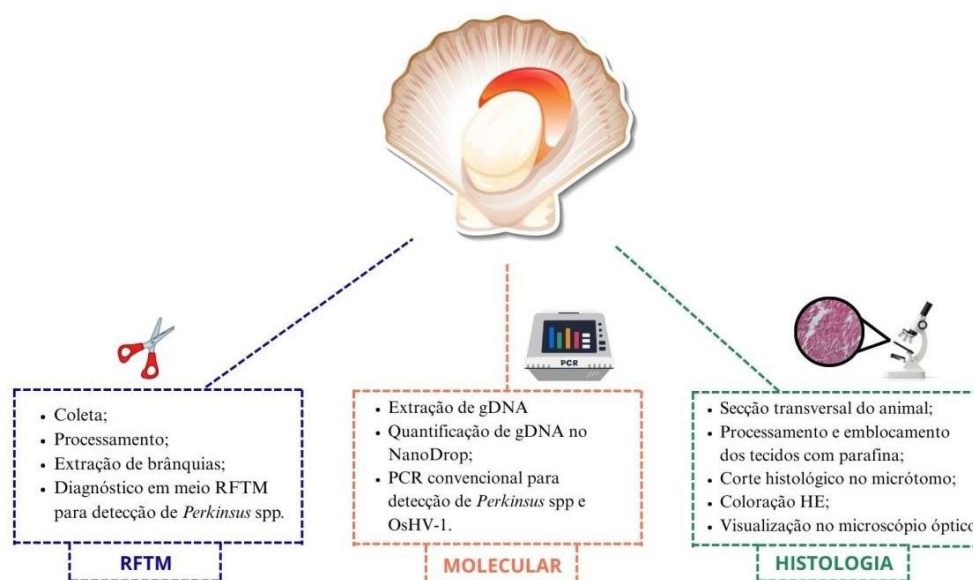


Figura 2. Representação esquemática da metodologia experimental desenvolvida.

4.3 Análises da infecção por *Perkinsus* spp. por incubação em RFTM

As brânquias foram retiradas do álcool onde estavam preservadas, foram maceradas sob uma lâmina com bisturi, coradas com Lugol e analisadas ao microscópio de luz para detectar a presença de *Perkinsus* spp.. Nessa condição, a forma de trofozoíto presente nos tecidos aumentará significativamente de tamanho; uma vez que o meio simula condições de anoxia e disponibilidade de nutrientes semelhantes às observadas após a morte do hospedeiro (Suplicy, 2022). Esse aumento representa a indução à transformação dos trofozoítos em hipnósporos, sendo possível sua observação e contagem ao microscópio de luz.



Figura 3. Hipnósporo de *Perkinsus* spp. visualizado no meio RFTM. Fonte: LABIPI.

4.4 Extração de DNA e detecção molecular de *Perkinsus* spp. e OsHV-1

Um pequeno fragmento (25-50 mg) da brânquia de cada animal previamente preservado em etanol 95% foi retirado para a extração de DNA genômico usando o protocolo com acetato de amônia adaptado de (Aidar & Line, 2007). A quantidade e a qualidade foram analisadas no Nanodrop (NanoDrop® 2000, Thermo Scientific).

A análise para o diagnóstico de *Perkinsus* spp. foi feita por PCR convencional com o par de iniciadores PerkITS85/PerkITS750, que amplifica uma região do

complexo gênico ribossomal (rDNA ITS), sendo gênero-específico (Casas et al., 2002). Como controle positivo das reações, foi utilizado DNA plasmidial contendo fragmento do ITS de *Perkinsus marinus* e *Perkinsus beihaiensis* existentes no LABIPI.

A análise para o diagnóstico da presença de OsHV-1, foi feita por PCR convencional com um par de iniciadores HVDP-F/HVDP-R (Webb et al., 2007), que amplifica uma região do gene da subunidade catalítica da DNA polimerase (ORF100) do OsHV-1. Como controle positivo das reações, foi utilizado DNA do próprio vírus (cordialmente cedido por Isabelle Arzul, IFREMER, França).

Foi feita uma mistura equitativa de 2 µL de gDNA de cada vieira, separadamente para cada local, para usar nas reações de PCR. A reação da PCR foi realizada em um volume total de 10 µL, contendo tampão 1X, MgCl₂ a 25 mM, 0,2 mM de nucleotídeos, 0,4 µM de cada iniciador, 0,1 U/µL de Taq DNA polimerase e 2 µL da mistura de gDNA.

As condições para amplificação de *Perkinsus* spp. foram: desnaturação do DNA a 95 °C por 10 min, seguido de 40 ciclos de 95 °C por 1 min, 54 °C por 1 min e 72 °C por 1 min. As condições para amplificação do OsHV-1 foram: desnaturação do DNA a 95 °C por 10 min, seguido de 35 ciclos de 95 °C por 1 min, 50 °C por 1 min e 72 °C por 1 min.

Os produtos amplificados na PCR foram corados com Unisafe (Uniscience), submetidos a eletroforese em gel de agarose 1,5% e visualizados em transiluminador UV.

4.5 Cortes histológicos e Análises histológicas

De cada animal previamente conservado inteiro, foi realizada uma secção transversal do corpo contendo todos os órgãos (Howard et al., 2004) a qual foi depositada em um cassete. As amostras em cassetes passaram pelo processo de desidratação em séries crescentes de concentração de álcool (80% - 1h; 3x de 95% - 1h e 3x de 100% - 1h), seguido do processo de diafanização em xilol (1x Alcool 100% + Xilol 1:1 - 1h; 2x Xilol 100% - 1h) e emblocamento com parafina. Os blocos foram

cortados a 5 μ m utilizando um micrótomo (LEICA RM 2125RT) e corados com hematoxilina de Harris e eosina (Howard et al., 2004).

Os cortes histológicos produzidos dos 30 animais (20 de Angra dos Reis e 10 de Cabo Frio) foram analisados e fotografados. As imagens obtidas compuseram um banco de imagens para análise. Uma amostra de Angra foi perdida durante a preparação das lâminas, resultando em 19 indivíduos para a análise histológica.

As análises foram realizadas visando detectar (i) alterações da integridade dos tecidos em todos os órgãos; (ii) indícios de alterações de origem metabólica; (iii) presença de células infiltradas, como os hemócitos (reações imunológicas); e (iv) presença de agentes infecciosos. As análises foram realizadas em microscópio óptico binocular (Olympus BX 41), e as imagens obtidas com câmera (Olympus QColor 5) acoplada à ocular.

5 RESULTADOS

5.3 Diagnóstico de *Perkinsus* spp. e de OsHV-1

As análises em meio RFTM não evidenciaram a presença de hipnósporos de *Perkinsus* spp. nas brânquias das vieiras *N. nodosus*. Este resultado foi confirmado pela PCR que não amplificou *Perkinsus* spp. nos *pools* de gDNA. Assim como, a PCR para o OsHV-1 também foi negativa, já os controles positivos amplificaram como esperado (Figura 3).

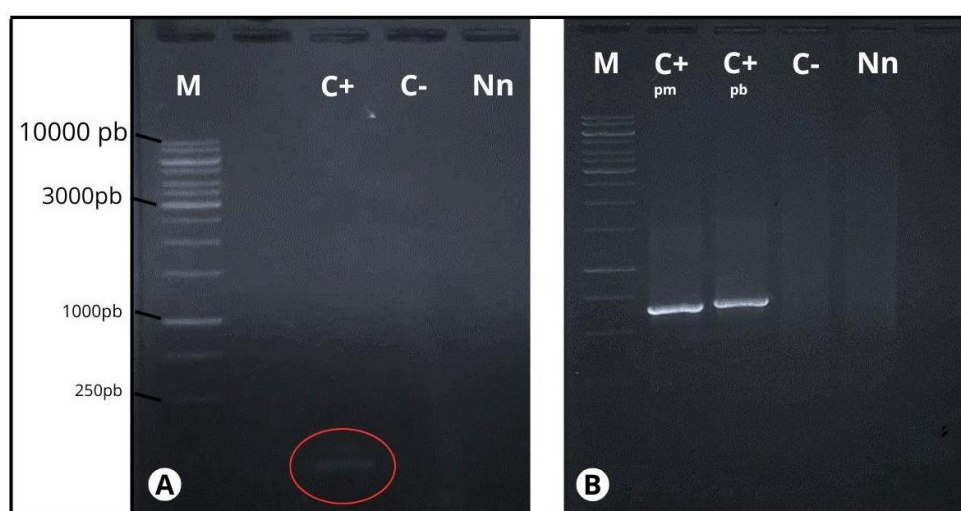


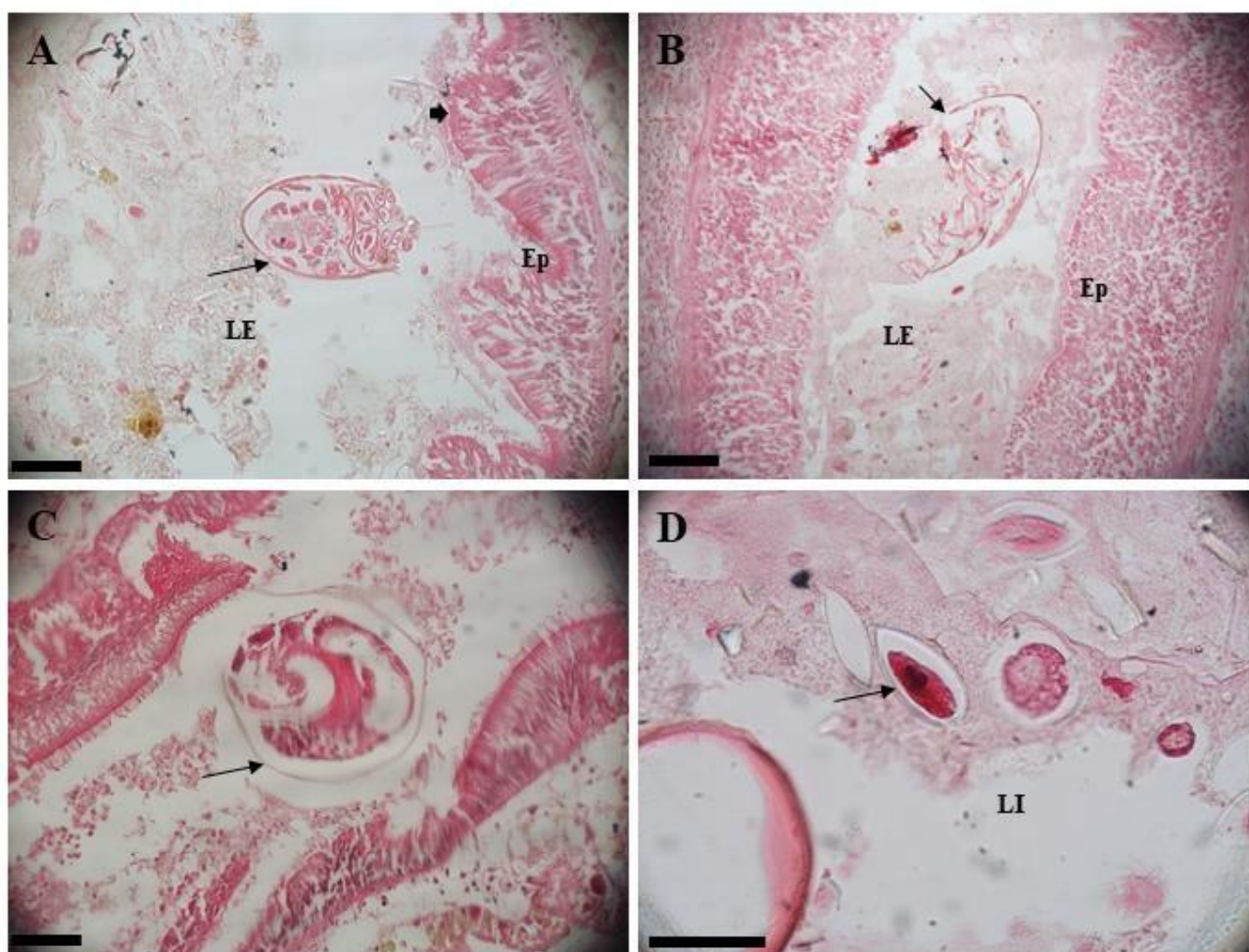
Figura 4. PCR convencional realizada em amostras de gDNA de brânquia (*pool*) de *N. nodosus* (Nn) de Angra dos Reis. **A.** Detecção de herpesvírus (OsHV-1). **B.** Detecção de *Perkinsus* spp. Marcador 1kb (M). Plasmídeos de *P. marinus* (pm) e *P. beihaiensis* (pb). O círculo vermelho indica a banda de amplificação do controle positivo de OsHV-1.

5.4 Diagnóstico de alterações patológicas e parasitas

A análise histopatológica dos 19 animais de Angra dos Reis revelou a presença rara de alguns microrganismos e alterações teciduais em todos os animais (Figuras 4 e 5). Copépodes (Figuras 4 A-B) e metazoários indefinidos (Figura 4C) foram observados no lúmen do estômago, respectivamente em três (15%) e duas vieiras (10%). Em todos os casos, a intensidade foi baixa, com apenas um microrganismo identificado por vieira. Além desses, foram encontrados dois ciliados do gênero *Ancistrocoma* (Figura 4D) no

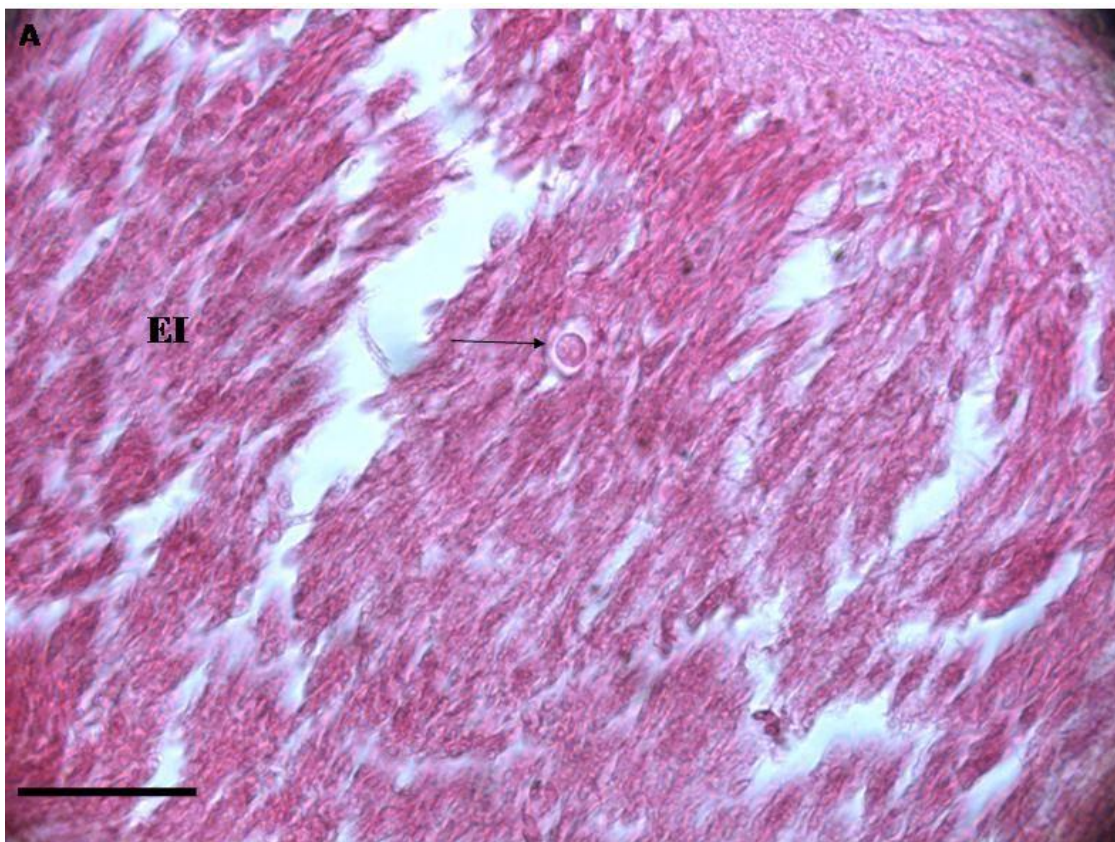
lúmen do intestino de um animal (5%). Esses ciliados apresentavam um formato fusiforme com um núcleo grande e granular. Um protozoário unicelular foi observado uma única vez em um vacúolo fagocítico no epitélio do intestino (2%), apresentando características morfológicas muito semelhantes à de trofozoítos de *Perkinsus* spp., a saber, formato circular, núcleo excêntrico e presença de vacúolo no citosol (Figura 5).

Figura 5. Secções histológicas de *N. nodosus*.



A e B. Copépodes no lúmen do estômago (LE) (seta). **C.** Metazoário indefinido no LE (seta). **D.** Ciliado *Ancistrocoma* (seta) no lúmen do intestino (LI). Barras = 100 μ m. Ep: epitélio.

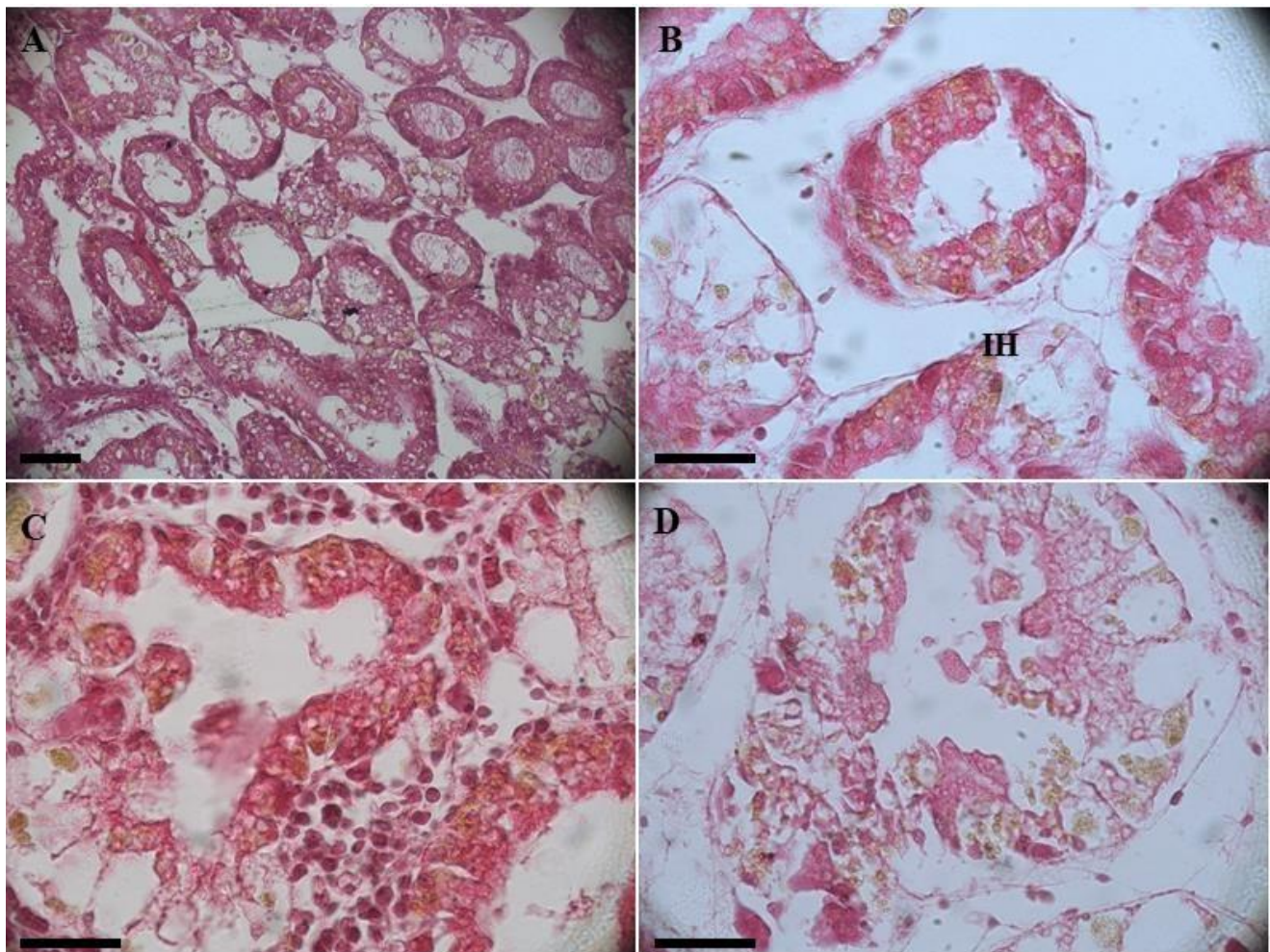
Figura 6. Secção histológica do epitélio do intestino de *N. nodosus*.



A. Possível trofozoíto de *Perkinsus* sp. (seta) fagocitado por uma célula de defesa. Barra = 100 μ m.

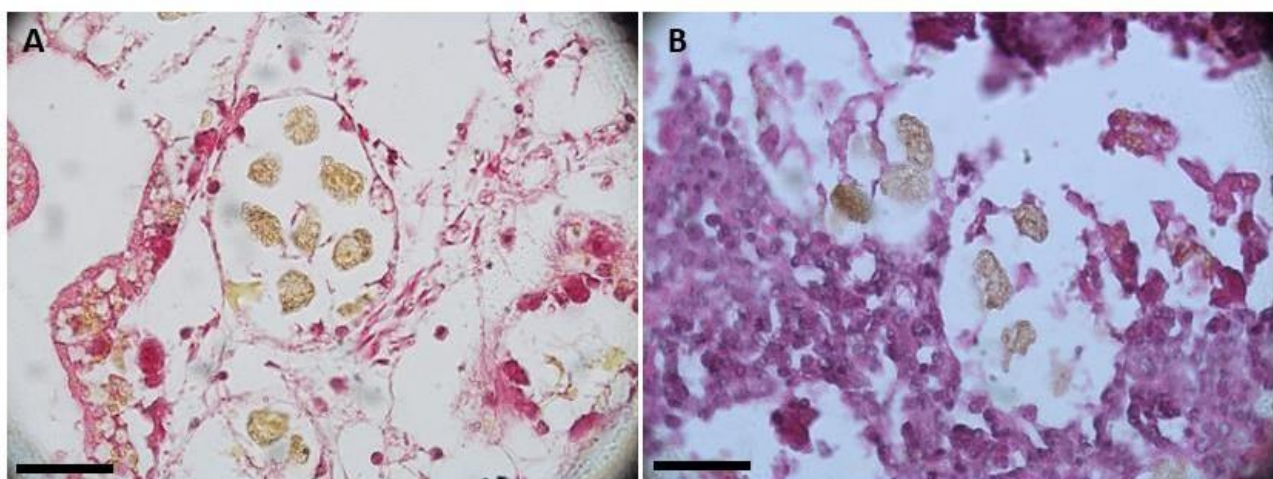
Com respeito às alterações teciduais, estas foram predominantemente observadas na glândula digestiva, mas também no estômago, intestino e manto, mas não nas brânquias, nem nos folículos gonadais. Todos os animais apresentaram alterações na glândula digestiva, que foram caracterizadas pela atrofia dos túbulos digestivos, com redução na espessura do epitélio e associação com dilatação do lúmen dos túbulos digestivos (Figuras 6-7). No lúmen dos túbulos digestivos foi também observada presença de uma substância de coloração amarelo-amarronzada de formato irregular (Figura 7).

Figura 7. Secções histológicas da glândula digestiva de *N. nodosus*



A-B. Túbulos digestivos saudáveis, onde se observa dilatação associada com o processo digestivo normal. **C-D.** Túbulos digestivos apresentando alterações de formato e sinais de necrose. Barras = 100 μ m.

Figura 8. Secções histológicas da glândula digestiva de *N. nodosus*.

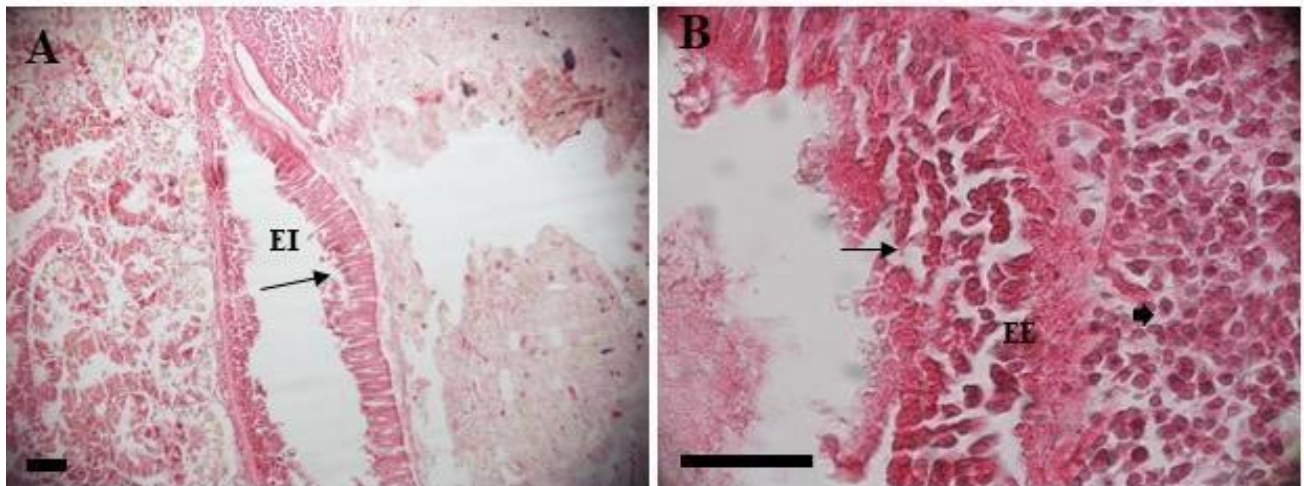


A-B. Acúmulo de substância amarelo-amarronzada no lúmen dos túbulos digestivos que apresentam perda total das células epiteliais, ruptura e necrose. Barras = 100 μ m.

No intestino e no estômago foram observadas desorganização e perda de coesão das células do epitélio, acompanhadas de infiltração hemocitária no tecido conjuntivo adjacente (Figura 8).

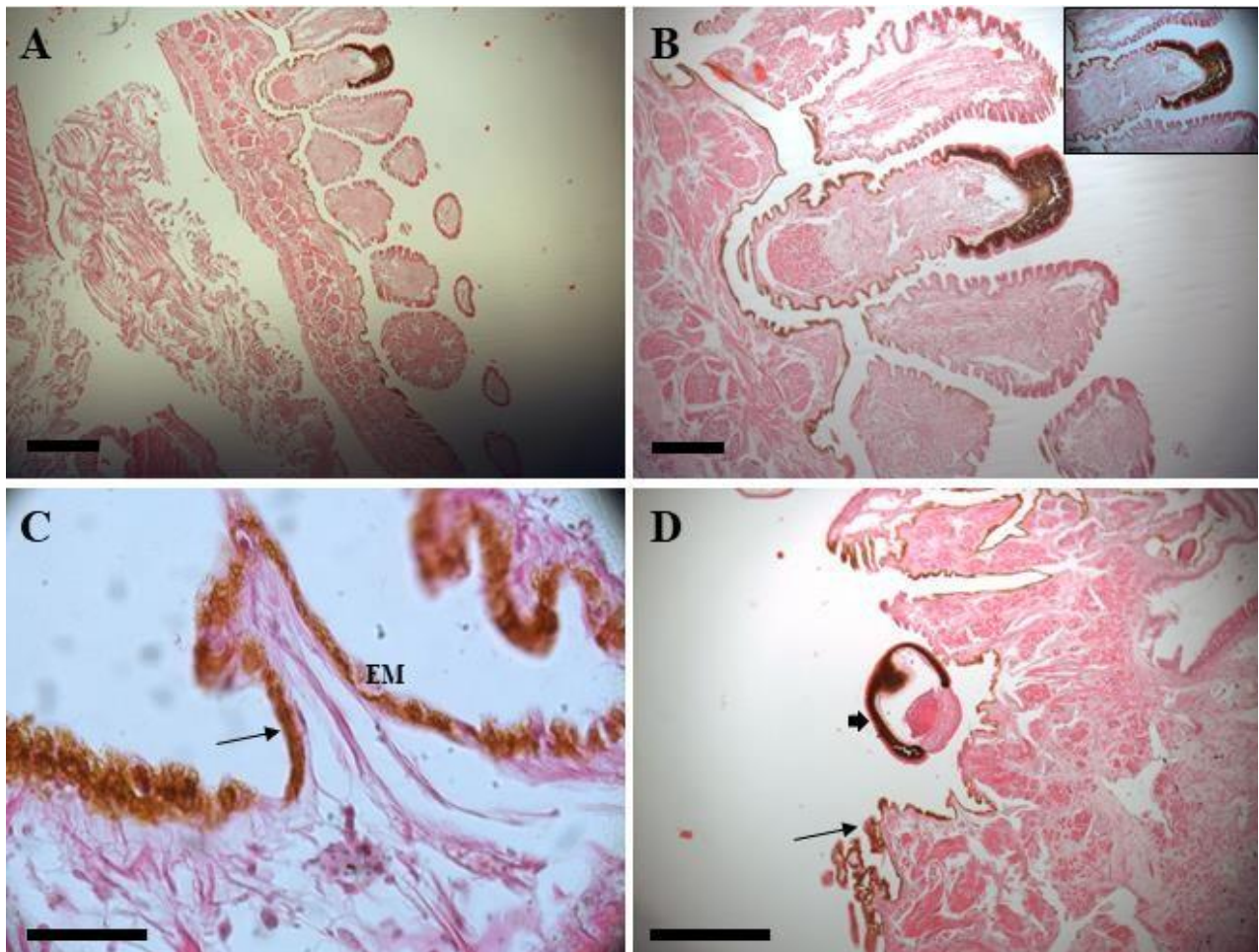
No manto, em algumas regiões do epitélio, foi observada presença exacerbada de coloração marrom, indicativa de melanização (Figura 9), alteração que ocorreu em 8 animais (42%).

Figura 9. Secções histológicas do epitélio do intestino (EI) de *N. nodosus*.



A-B. Desorganização e perda de coesão celular (setas), acompanhadas de infiltração hemocitária (seta grossa) no tecido conjuntivo adjacente. Barras = 100 μ m

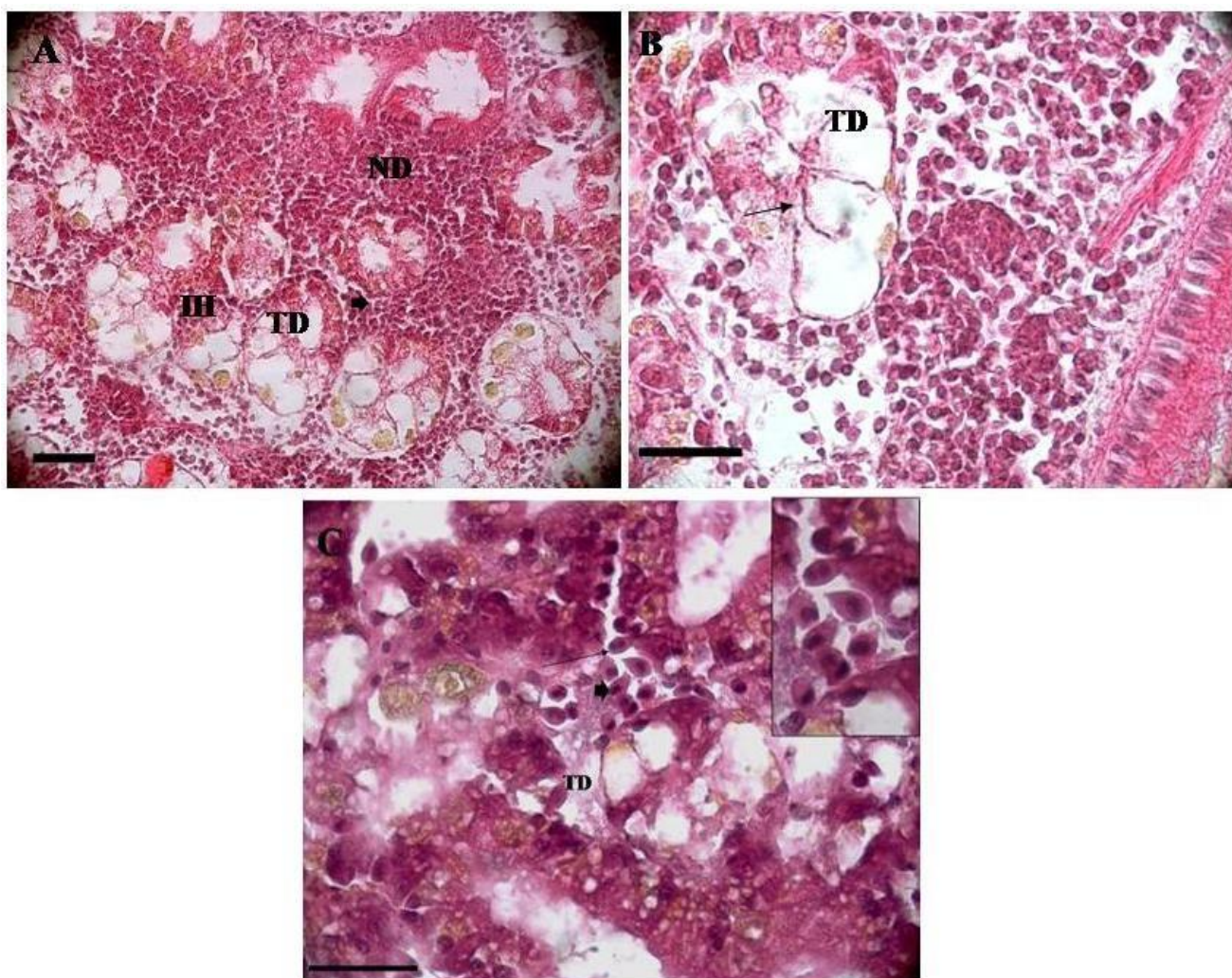
Figura 10. Secções histológicas da borda do manto de *N. nodosus*



A-C. Intensa e localizada melanização no epitélio da borda do manto (seta). **D.** Melanização intensa no epitélio (seta) e melanização normal no ocelo “olho” da vieira (seta grossa). Barra = 500 μ m para A, Barra = 100 μ m para B e C, Barra = 1000 μ m para D.

A mais importante alteração patológica observada que ocorreu em 5 animais (26%) foi a presença de infiltrações de células anaplásicas, indiferenciadas, grandes, com núcleo hipertrofiado e alta relação núcleo/citoplasma (Figura 10), caracterizando uma neoplasia disseminada. A infiltração destas células foi mais abundante no tecido conjuntivo próximo à glândula digestiva onde se observaram algumas figuras mitóticas indicativas de proliferação celular. Em 1 animal, a intensidade das infiltrações foi alta, com células alteradas infiltradas em diferentes tecidos (manto, gônada, glândula digestiva).

Figura 11. Secções histológicas da glândula digestiva de *N. nodosus*.



A. Intensa infiltração de células neoplásicas (seta grossa) no tecido conjuntivo. TD: Túbulos digestivos. **B.** Agregação de células neoplásicas ao lado de um túbulo digestivo alterado com quase ausência de seu epitélio. **C.** Células neoplásicas entre túbulos digestivos. Note a alta relação núcleo/citoplasma das células, figura mitótica (seta fina) e uma célula com dois núcleos (seta grossa). Barras = 100 µm.

Em relação as vieiras coletadas em Cabo Frio não foi constatado presença de *Perkinsus* spp. e OsHV-1. Todos os animais analisados apresentaram somente pequena dilatação natural em vieiras do túbulo digestivo, com pouca presença de substância amarelo-amarronzada (Figura 6A). Potenciais parasitas fagocitados e metazoários no lúmen não foram observados nos animais analisados. A melanização se deu de forma

natural em animais que apresentaram porções dos ocelos nas lâminas confeccionadas. Também não foi detectado a presença de células neoplásicas nos animais referidos.

6 DISCUSSÃO

Esse trabalho realizou um diagnóstico de alterações patológicas e de parasitas em vieiras *Nodipecten nodosus*, espécie de alto valor comercial no Brasil. Foram estudadas duas populações cultivadas de vieiras do Estado do Rio Janeiro, uma delas, de um local de Angra dos Reis que vem sofrendo com eventos recorrentes de mortalidade desde 2017. A caracterização histopatológica foi uma das ferramentas metodológicas utilizadas neste estudo, para trazer novas interpretações e conhecimento sobre as causas das mortalidades e complementar os estudos feitos anteriormente (Thompson et al., 2023; Pereira et al., 2024).

Nesse estudo não foi detectado DNA viral de OsHV-1, nem sinais histológicos da infecção, como presença de núcleos hipertrofiados, cromatina periférica e uma inclusão viral acidófila (Da Silva et al., 2018). Abreu Corrêa et al. (2024) buscaram pela infecção por OsHV-1 em vieiras de Angra do Reis da Baía de Ilha Grande (RJ) utilizando PCR quantitativa (qPCR) com iniciadores diferentes dos utilizados nesse estudo (OsHV-1 BF; C2; C6) e também não detectaram a infecção. A ausência desse vírus é particularmente relevante, visto que ele configura importante agente causador de mortalidades em massa de bivalves em escala global (Da Silva et al., 2024).

Protozoários do gênero *Perkinsus* spp. não foram encontrados pelos dois métodos de diagnóstico usados neste estudo, o RFTM e a PCR convencional. No entanto, a observação histológica de um único caso de uma célula muito similar ao parasita, a saber, em formato de anel, típica de trofozoíto, que é a forma presente no hospedeiro (SUPLICY, 2022); e a infecção no epitélio do intestino, órgão comumente infectado (Sabry et al. 2009), indicam que de fato trata-se de *Perkinsus* spp. e que ele pode estar presente no ambiente e infectar a vieira. Já é relatado que em casos de baixa intensidade de infecção o RFTM e a PCR não são suficientemente sensíveis para diagnosticar (Gauthier et al., 2006), mas uma Real-Time PCR poderia. Os hemócitos das vieiras, assim como de outros bivalves, desempenham papel central na imunidade

inata desses animais, sendo responsáveis por processos de fagocitose, encapsulação e produção de intermediários reativos (Ballina, et al., 2022). A presença de *Perkinsus* sp. fagocitado poderia indicar uma resposta eficiente de contenção da infecção, impedindo que alcance intensidades altas. Até o presente momento, não se tem registro de *Perkinsus* spp. infectando pectinídeos. Porém, a infecção por *Perkinsus* spp. ocorre em ostras, ameijões e mexilhões inclusive no Brasil (Da Silva et al., 2024) nos quais protozoários oportunistas foram detectados em níveis baixos sem acarretar danos significativos, mas que em situações de estresse ambiental poderiam se tornar patogênicos (Sühnelet al., 2016; Carellaet al., 2015).

A presença de ciliados no lúmen do intestino e de copépode no estômago das vieiras pode ser considerada normal, e não patológica, pois estão em uma intensidade baixa e consistente com relatos anteriores em *N. nodosus*, estando relacionada aos hábitos alimentares dessa espécie (Sühnel et al., 2016). Ciliados do gênero *Ancistrocoma*, por exemplo, são geralmente encontrados no lúmen dos túbulos digestivos ou do intestino; contudo, em altas intensidades podem causar danos celulares e aumentar a produção de muco (Meyers & Burton, 2009). Esses organismos, portanto, devem ser interpretados dentro de um espectro que vai do comensalismo ao parasitismo, dependendo da intensidade da infecção e do estado fisiológico do hospedeiro.

A atrofia da glândula digestiva é frequentemente descrita em vieiras e pode estar associada tanto com alterações metabólicas do processo de assimilação de nutrientes quanto a fatores infecciosos. A morfologia normal dos túbulos digestivos passa por diferentes estágios de alargamento do lúmen, podendo apresentar corpos residuais dependendo do estágio de digestão (La Douceur, 2021). Uma revisão recente de Rolton et al. (2023) relatou que a presença de estruturas amarronzadas no lúmen dos túbulos digestivos pode ser indicativa da presença de partículas virais, desencadeando a *Digestive Epithelial Virosis* (DEV), já registrada em Pectinidae (Hine & Wesney, 1997; Rolton et al., 2023). O acúmulo dessa substância de forma intensa, associado com a degradação das camadas epiteliais e de células basófilas, pode indicar um ciclo digestivo comprometido. No presente estudo, foi feito apenas o diagnóstico do OsHV-1, para o qual iniciadores foram desenvolvidos, mas este vírus não afeta a glândula digestiva, assim, há possibilidade de outros vírus infectarem esse órgão. Para o estudo de outros vírus, faz-se necessária a utilização de análises complementares, com a

microscopia eletrônica de transmissão ou outros iniciadores de PCR.

Além disso, deve-se considerar que a atrofia dos túbulos com sinais de necrose pode refletir condições ambientais adversas, como baixa disponibilidade de alimento, variações de salinidade e temperatura, estresse nutricional ou contaminantes. A glândula digestiva e o intestino são os órgãos mais afetados em casos de acúmulo de metais pesados (Galvão, 2009; Santos et al., 2024), demonstrando que alterações ambientais podem comprometer severamente esses órgãos. Como não foram encontradas alterações nas brânquias, sugere-se que as alterações observadas na glândula digestiva sejam decorrentes de um processo metabólico/fisiológico debilitado nos animais.

Outro achado relevante foi a melanização exacerbada no epitélio do manto. A presença de célula pigmentadas ou melanização de baixa intensidade é comum nos ocelos de vieiras, que podem aparecer em diferentes porções nas lâminas histológicas (Audino et al., 2015). Sabe-se que a região do manto em vieiras é uma área que contém enzimas relacionadas à defesa imunológica contra uma variedade de estressores (Beninger & Pennec, 2016; Estrada et al., 2007). Dessa forma, a intensa melanização pode representar um processo fisiológico de defesa, uma vez que envolve cascatas proteolíticas dependentes de fatores humorais relacionados a proteases como tripsina e quimotripsina, conforme descrito por Estrada et al. (2007) em *N. subnodosus* expostas a dinoflagelados tóxicos. No entanto, é importante destacar que uma resposta exacerbada de melanização também pode resultar em danos teciduais secundários, configurando um desequilíbrio entre defesa e lesão.

Um achado inédito deste estudo foi a neoplasia disseminada. Até onde se tem conhecimento, este constitui o primeiro registro de neoplasia em vieiras. Essa mesma patologia já foi observada em ostras *C. gasar* cultivadas no estuário do Rio Mamanguape (Da Silva et al., 2018). A descrição das células anaplásicas encontradas nesse estudo é semelhante à descrita para outros bivalves (Barber, 2004; Carballa et al., 2015; Da Silva et al., 2018), como o núcleo hipertrofiado, a alta relação núcleo/citoplasma e a presença de figuras mitóticas, que indicam proliferação celular. Apesar da prevalência ter sido baixa assim como as intensidades, as células alteradas invadiram diferentes órgãos. Não é possível afirmar que a patologia observada seja causa primária das mortalidades relatadas nos animais, mas deve ser monitorada e mais

estudada.

Em síntese, os resultados encontrados no presente estudo sugerem que as mortalidades de vieiras em Angra dos Reis têm caráter multifatorial. A ausência de *Perkinsus* spp. e OsHV-1 ou de sinais de agente infeccioso, a presença de alterações do trato digestivo, cuja causa precisa ser investigada, a ocorrência de melanização exacerbada, potencial resposta imunológica e o registro inédito de neoplasia disseminada demonstram a complexidade do cenário. Tais achados reforçam a necessidade de investigações integradas que combinem histopatologia, biologia molecular, como realizado neste estudo, mas também análises de parâmetros da água do mar do cultivo (nutrientes, contaminantes, temperatura e salinidade).

Este trabalho abriu uma frente de pesquisa para a compreensão mais ampla da saúde das populações de vieiras oriundas de um local com recorrentes eventos de mortalidade de forma a subsidiar medidas de manejo que minimizem perdas produtivas. A relevância desse estudo se justifica pela importância econômica e ecológica das vieiras nativas *N. nodosus*, além do impacto que os episódios de mortalidade têm sobre a sustentabilidade da produção aquícola e sobre comunidades que dependem dessa atividade.

CONCLUSÃO

O presente estudo revelou que as vieiras *N. nodosus* cultivadas na Baía da Ilha Grande apresentaram importantes alterações histopatológicas, acometendo principalmente os túbulos digestivos, sem aparente associação com agentes infecciosos, mas com a presença de uma patologia de possível origem hemocitária, a neoplasia disseminada. Não há como afirmar que uma destas alterações seja a principal causa das mortalidades, mas juntas poderiam influenciar um estado patológico e efeito sinérgico potencialmente negativo para a saúde do animal. Outros estudos devem ser feitos a fim de corroborar e ampliar os resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

- ABREU CORRÊA, A. et al. **First investigation of Ostreid herpesvirus-1 and human enteric viruses in a major scallop production area in Brazil.** Environmental Monitoring and Assessment, v. 196, n. 12, 1 dez. 2024.
- AIDAR, M.; ROBERTO, S.; LINE, P. **A Simple and Cost-Effective Protocol for DNA Isolation from Buccal Epithelial Cells.** Braz Dent J, v. 18, n. 2, p. 2007.
- ALAMO, I. **Marine species associated to Peruvianscallop *Argopecten purpuratus* culture: trophic interactions and contaminant exposure.** 2020.
- ANDREWS, J. D. **Oyster Mortality Studies in Virginia V. Epizootiology of MSX, A Protistan Pathogen of Oysters.** Ecology, v. 47, n. 1, p. 19–31, jan. 1966.
- AUDINO, J. et al. **Development of the pallial eye in *Nodipecten nodosus* (Mollusca: Bivalvia): insights into early visual performance in scallops.** Zoomorphology, v. 134, 10 mar. 2015.
- BALLINA, La et al. **Bivalve haemocyte subpopulations: a review.** Frontiers in Immunology, v. 13, p. 826255, 8 abr. 2022. DOI: 10.3389
- BARBER, B. J. **Neoplastic diseases of commercially important marine bivalves.** Aquatic Living Resources, out. 2004.
- BARBOSA SOLOMIEU, V.; RENAULT, T.; TRAVERS, M. A. **Mass mortality in bivalves and the intricate case of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 131, p. 2–10, 1 out. 2015.
- BENINGER, P. G.; PENNEC, M. LE. **Scallop Structure and Function.** In: Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Elsevier, 2016. v. 40p. 85–159.
- BLANKENSTEYN, A. **Zoologia dos Invertebrados II.** 2010.
- BOWER, S. M.; MCGLADDERY, S. E.; PRICE, I. M. **synopsis of infectious diseases and parasites of commercially exploited shellfish.** Pergamon Annual Review of Fish Diseases. 1994.
- BRASIL. **Boletim Aquicultura - Aguas da união.** 2023.
- BRAUNE, K. **Qualidade ambiental associada ao cultivo suspenso de vieiras (*Nodipecten nodosus*) na Baía de Ilha Grande/RJ.** 2022.
- BROWN, P. L.; JEFFREE, R. A.; MARKICH, S. J. **Kinetics of ⁴⁵Ca, ⁶⁰Co, ²¹⁰Pb, ⁵⁴Mn and ¹⁰⁹Cd in the tissue of the freshwater bivalve *Velesunio angasi*: further development of a predictive and mechanistic model of metal bioaccumulation.** Science of The Total Environment, v. 188, n. 2–3, p. 139–166, 11 out. 1996.
- BUESTEL, D. et al. **History, status, and future of oyster culture in France.** Journal of

Shellfish Research, v. 28, n. 4, p. 813–820, dez. 2009.

CÁCERES-MARTÍNEZ, J. et al. **Histological Alterations in Pacific Oysters *Crassostrea gigas* that Survived a Summer Mortality Event in Baja California, Mexico.** Journal of Aquatic Animal Health, v. 30, n. 1, p. 31–38, 1 mar. 2018.

CAPUTO, et al. Técnicas histológicas. 2016.

CARBALLAL, M. J. et al. **Neoplastic diseases of marine bivalves.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 131, p. 83–106, 1 out. 2015.

CARELLA, F. et al. **Comparative pathology in bivalves: Aetiological agents and disease processes.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 131, p. 107–120, 1 out. 2015a.

CARLTON, J. T. **Molluscan Invasions in Marine and Estuarine Communities.** Malacologia. 1999.

CHAHOURI, A. et al. **Assessment of heavy metal contamination and ecological risk in Morocco's marine and estuarine ecosystems through a combined analysis of surface sediment and bioindicator species: *Donax trunculus* and *Scrobicularia plana*.** Marine Pollution Bulletin, v. 192, p. 115076, 1 jul. 2023.

COSTA, R. **Assentamentoremoto de larvas de Vieiras *Nodipecten nodosus*.** 2018.

CUEVAS, N. et al. **Development of histopathological indices in the digestive gland and gonad of mussels: Integration with contamination levels and effects of confounding factors.** Aquatic Toxicology, v. 162, p. 152–164, 1 maio 2015.

DORE, I. **a guide to oysters, mussels, scallops, clams, and similar products for the commercial user.** 1991.

ELSTON, R. A. , M. J. D. ,& B. K. **Disseminated neoplasia of bivalve mollusks.** Reviews in Aquatic sciences, v. 6, 1992.

EPAGRI. **Síntese Anual da Agricultura.** 2018.

ESTRADA, N. et al. **Effects of the toxic dinoflagellate, *Gymnodinium catenatum* on hydrolytic and antioxidant enzymes, in tissues of the giant lions-paw scallop *Nodipecten subnodosus*.** Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology, v. 146, n. 4, p. 502–510, 2007.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022.** FAO, 2022.

FARLEY. **Probable neoplastic disease of the hematopoietic system in oysters, *Crassostrea virginica* and *Crassostrea gigas*.** 1969.

FARLEY & SPARKS. **Proliferative diseases of hemocytes, endothelial cells, and connective tissue cells in mollusks.** Bibliotheca haematologica, 1970.

FARO. **Boas práticas em cultivo de ostra - algarve.** 2017.

FIGUERAS, Antonio.; NOVOA, Beatriz. **Enfermedades de moluscos bivalvos de interés en acuicultura enfermedades de moluscos bivalvos**. Fundación Observatorio Español de Acuicultura, 2012.

FIPERJ. **FIPERJ e IED-BIG reforçam ações em prol da maricultura da baía da ilha grande**. 2022.

GALVÃO. **Bioacumulação de metais em moluscos bivalves: aspectos evolutivos e ecológicos a serem considerados para a biomonitoração de ambientes marinhos**. 2009.

GARRABOU, J. et al. **Mass mortality in Northwestern Mediterranean rocky benthic communities: Effects of the 2003 heat wave**. *Global Change Biology*, v. 15, n. 5, p. 1090–1103, 2009.

GAUTHIER, J. Et al. **TAQMAN mgb real-time PCR approach to quantification of *Perkinsus marinus* and *Perkinsus* spp. in oysters**. 2006.

GIBSON, R. N. et al. **Climate change and australian marine life**. *An Annual Review*. 2007.

GLEYCE, A. et al. **Morphological, histopathological and molecular assessments of *Prosorhynchoides* sp. (Digenea: Bucephalidae) in *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae) mussels sampled off the coast of Rio de Janeiro, southeastern Brazil**. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 195, p. 107832, 1 nov. 2022.

GULKA, G.; CHANG, P. W.; MARTI, K. A. **Prokaryotic infection associated with a mass mortality of the sea scallop, *Placopecten magellanicus***. *Journal of Fish Diseases*, v. 6, n. 4, p. 355–364, 1983.

HINE, P. M.; WESNEY, B. **Virus-like particles associated with cytopathology in the digestive gland epithelium of scallops *Pecten novaezelandiae* and *toheroa Paphies ventricosum***. *Diseases of aquatic organisms* 1997.

HOBDAY, A. J. et al. **A hierarchical approach to defining marine heatwaves**. *Progress in Oceanography*, v. 141, p. 227–238, 1 fev. 2016.

HOWARD, D. W.; LEWIS, E. J.; KELLER, B. J. **Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans**. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS. 2004.

IGARASHI, M. A. **Sinopse da situação atual, perspectivas e tecnologia para o cultivo de vieiras com ênfase na produção da espécie *Nodipecten nodosus***. *Nutri Time*, 2023.

JAY, J. C. **Report on the shells collected by the Japan Expedition together with a list of Japan shells**. Vol. 2. Tucker, Washington, pp. 289–297, 1857.

JONES, J. B. **Virus-like particles associated with marine mussel mortalities in New Zealand**. 1996.

KIM, S. H. *et al.* **Strain-specific virulence of *Perkinsus marinus* and related species in Eastern oysters: A comprehensive analysis of immune responses and mortality.** Fish & Shellfish Immunology, v. 157, p. 110112, 1 fev. 2025.

LA BALLINA, N. R. DE *et al.* **Bivalve Haemocyte Subpopulations: A Review**Frontiers in ImmunologyFrontiers Media S.A, 8 abr. 2022.

LANNIG, G. *et al.* **Impact of ocean acidification on energy metabolism of oyster, *Crassostrea gigas* - Changes in metabolic pathways and thermal response.** Marine Drugs, v. 8, n. 8, p. 2318–2339, 2010.

LEIBOVITZ, L.; SCHOTT, E. F.; KARNEY, R. C. **Diseases of wild, captive and cultured scallops.** Journal of the World Mariculture Society, v. 15, n. 1–4, p. 267–283, mar. 1984.

LI, Y. *et al.* **Polysaccharide from *Patinopecten yessoensis* skirt boosts immune response via modulation of gut microbiota and short-chain fatty acids metabolism in mice.** Foods, v. 10, n. 10, 1 out. 2021.

MEYERS, T.; BURTON, T. **Diseases of wild and cultured shellfish in alaska.** 2009.
MILLER, B.; STURMER, L.; ROBERTS, J. **Disseminated neoplasia in cultured hard clams (*Mercenaria mercenaria*).** Veterinary Pathology, v. 60, n. 5, p. 624–627, 1 set. 2023.

DA SILVA, PM. *et al.* ***Perkinsus* spp. Occurrence in South America: A review.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 204, 1 jun. 2024.

MONTANARI, T. **Histologia Texto, atlas e roteiro de aulas práticas 3a edição.**2016.
MÜLLER, Johannes..**Handbuch der Physiologie des Menschen für Vorlesungen.** Erster. 1837.

OIE. **Aquatic Animal Health Code.** 2024.

ORDÁS, M. C. F. A. **Histopathological study of abnormal mortalities of cockle (*Cerastoderma edule*) in Carril (Galicia, NW Spain).** Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, v. 25, 2005.

P. H. WOLF. **Diseases and parasites of Australian commercial shellfish.** Haliotis, v. 8, 1979.

PEREIRA, R. R. DAS C. *et al.* **Forecasting the impact of marine heat waves on farmed bivalves *Nodipectennodosus* and *Magallana gigas*.** Regional Studies in Marine Science, v. 80, 30 dez. 2024.

PETTON, B. *et al.* ***Crassostrea gigas* mortality in France: The usual suspect, a herpes virus, may not be the killer in this polymicrobial opportunistic disease.** Frontiers in Microbiology, v. 6, n. JUL, 2015.

PIAZZA, R. S. *et al.* **Exposure to phenanthrene and depuration: Changes on gene**

transcription, enzymatic activity and lipid peroxidation in gill of scallops *Nodipecten nodosus*. Aquatic Toxicology, v. 177, p. 146–155, 1 ago. 2016.

POLOCZANSKA, E. S. *et al.* **Global imprint of climate change on marine life.** Nature Climate Change, v. 3, n. 10, p. 919–925, out. 2013.

RASMUSSEN. **Occurrence, prevalence and seasonality of neoplasia in the marine mussel *Mytilus edulis* from three sites in Denmark.** Marine Biology: International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters, 1986.

RAY. Ray SM. **A review of the culture method for detecting *Dermocystidium marinum*,** 1966.

REECE, K. S.; VILLALBA, A.; CASAS, S. M. **Study of perkinsosis in the carpet shell clam *Tapes decussatus* in Galicia (NW Spain). I. Identification of the aetiological agent and in vitro modulation of zoosporulation by temperature and salinity.** Diseases of Aquatic Organisms, v. 50, p. 51–65, 2002.

RODRIGUES, A. **Aspectos da biologia e ecologia do molusco anomalocardia brasiliense.** Revista Brasileira de Biociências, 2010.

ROLTON, A. *et al.* **Bivalve digestive epithelial virosis (DEV): A cause of disease or a natural process?** Journal of Invertebrate Pathology Academic Press Inc., , 1 jun. 2023.

RUDOLF VIRCHOW. **Die cellularpathologia.** 1859.

RUPP, G. **Cultivo de Vieiras em SC.** Agropecuária Catarinense, 2020.

RUPP, G. S. **Pectinid culture is being investigated in Brazil.** 1992.

RUPP, G. S. **Obtenção de reprodutores, indução à desova, e cultivo larval e pós-larval de *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) (Bivalvia: Pectinidae).** 1994.

SALGADO-GARCÍA, R. L. *et al.* **Metabolic responses of adult lion's paw scallops *Nodipecten subnodosus* exposed to acute hyperthermia in relation to seasonal reproductive effort.** Scientific Reports, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

SAMAIN, J. **Review and perspectives of physiological mechanisms underlying genetically-based resistance of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to summer mortality.** Aquatic Living Resources, v. 24, n. 3, p. 227–236, 27 jul. 2011.

SANTOS, A. *et al.* **Potentially toxic filamentous fungi associated to the economically important *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) scallop farmed in southeastern Rio de Janeiro, Brazil.** Marine Pollution Bulletin, v. 115, n. 1–2, p. 75–79, 15 fev. 2017.

SANTOS, A. L. DOS *et al.* **Metal and metalloid bioaccumulation in *Nodipecten nodosus* (Linnaeus, 1758) scallops (Mollusca: Pectinidae) cultivated in southeastern Brazil and associated public health issues.** Revista ft, v. 29, n. 141, p. 02–03, 2024.

SARAH, S. E. A. *et al.* **Modelling the effect of environmental change on shorebirds: A case study on Poole Harbour, UK.** Biological Conservation, v. 131, n. 3, p. 459–473, 1 ago. 2006.

DA SILVA, P. M. *et al.* **Presence and histopathological effects of the *Parvatrema* sp. (Digenea, Gymnophallidae) in the stout razor clam *Tagelus plebeius* (Bivalvia, Psammobiidae).** Journal of Invertebrate Pathology, v. 102, n. 1, p. 14–20, 1 set. 2009.

DA SILVA, PM. *et al.* **Disseminated neoplasia in cultured *Crassostrea gasar* oysters from northeast Brazil.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 159, p. 1–5, 1 nov. 2018.

SONG, L. *et al.* **Bivalve Immunity.** In: SÖDERHÄLL, K. (Ed.). Invertebrate Immunity. Boston, MA: Springer US, 2010. p. 44–65.

SÜHNEL, S. *et al.* **A Status Assessment of Perkinsiosis, Bonamiosis, and Mateiliosis in Commercial Marine Bivalves from Southern Brazil.** Journal of Shellfish Research, v. 35, n. 1, p. 143–156, 1 abr. 2016.

SUPLICY, F. M. ET AL. **Manual do cultivo de ostras.** [s.l.] Epagri, 2022. 256p., 2022. v. ISBN 978-65-990745-6

THOMPSON, C. *et al.* **Collapse of scallop *Nodipecten nodosus* production in the tropical Southeast Brazil as a possible consequence of global warming and water pollution.** Science of the Total Environment, v. 904, 15 dez. 2023.

TRAVERS, M. A. *et al.* **Bacterial diseases in marine bivalves.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 131, p. 11–31, 1 out. 2015.

UNEP. **Guidance for a Global Monitoring Programme for Persistent Organic Pollutants.** 2004.

VÁZQUEZ, N. *et al.* **A histopathological survey of the razor clam *Ensis macha* (Pharidae) along the Patagonian Argentina coast.** Journal of Invertebrate Pathology, v. 112, n. 3, p. 253–259, 1 mar. 2013.

VILLALBA, A. C. M. J. L. C. **Disseminated neoplasia and larg foci indicating heavy haemocytic infiltration in cockles *Cerastoderma edule* from Galicia (NW Spain).** Disease of aquatic organisms, v. 31, 2001.

WEBB, S. C. **Health assessment of scallops *Pecten novaezelandiae* from Tasman Bay.** 2018.

WEBB, S.; FIDLER, A.; RENAULT, T. **Primers for PCR-based detection of ostreid herpes virus-1 (OsHV-1): Application in a survey of New Zealand molluscs.** Aquaculture, v. 272, p. 126–139, 1 nov. 2007.

WERNBERG, T. *et al.* **Climate-driven regime shift of a temperate marine ecosystem.** Science, v. 353, n. 6295, p. 169–172, 8 jul. 2016.

YEVICH, P. P.; BARSZCZ, C. A. **Neoplasia in soft-shell clams (*Mya arenaria*)**

collected from oil-impacted sites. Annals of the New York Academy of Sciences, v. 298, n. 1, p. 409–426, 1 set. 1977.

