







ESCALA DE MADUREZ GONADAL MACROSCÓPICA DE *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) VALIDADA HISTOLÓGICAMENTE

HISTOLOGICALLY VALIDATED GONADAL MATURITY SCALE OF *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833)

Luis Tito^{1,*}  Elmer Ordinola¹  Ángel Perea²  Solange Alemán¹ 

¹ Instituto del Mar del Perú, Laboratorio Costero de Tumbes, Perú.

² Instituto del Mar del Perú, Laboratorio Costero de Chimbote, Perú.

*Correspondencia. E-mail: ltito@imarpe.gob.pe

Recibido: 03-08-2022, Aceptado: 10-01-2024, Publicado: 19-01-2024

RESUMEN

Anadara tuberculosa (Sowerby, 1833) es el molusco bivalvo de mayor importancia comercial en Tumbes, lugar en el que se ubican los únicos bancos naturales del recurso en el Perú y están íntimamente relacionados al ecosistema de manglar; por lo que existe la necesidad de contar con una escala de madurez que identifique con veracidad las diferentes fases del desarrollo gonadal del recurso. La investigación se efectuó con 858 ejemplares de *A. tuberculosa* colectados durante los años 2008, 2010 y del 2019 al 2021, tuvo como objetivo elaborar una escala de madurez gonadal macroscópica con base histológica para *A. tuberculosa*. Para el procesamiento histológico, se empleó la técnica de infiltración en parafina y el de cortes por congelamiento en criostato, la tinción se realizó con hematoxilina-eosina. Al relacionar las características más resaltantes encontradas en el análisis microscópico con la observación de gónadas en fresco, se obtuvieron seis fases de madurez gonadal para hembras y machos (0 = Virginal, I = Reposo, II = En maduración, III = Maduro, IV = Desovante/Expulsante y V = Recuperación/Post-expulsante). En la descripción de estas fases se expone la diferencia entre individuos virginales y adultos en reposo, además de considerar a la fase V, que indica el fin de la actividad reproductiva de un individuo y su ingreso a un periodo de reposo. Se recomienda el empleo de esta escala validada para estimar la talla mínima de captura y la época de mayor actividad reproductiva de la especie, con la finalidad de reforzar sus medidas de manejo.

PALABRAS CLAVE: *Anadara tuberculosa*, fases de madurez, desarrollo gonadal, histología

ABSTRACT

Anadara tuberculosa (Sowerby, 1833) is the most commercially important bivalve mollusk in Tumbes, where the only natural banks of the resource in Peru are located and are closely related to the mangrove ecosystem; therefore, there is a need for a maturity scale that accurately identifies the different stages of gonadal development of the resource. The research was carried out with 858 specimens of *A. tuberculosa* collected during the years 2008, 2010 and from 2019 to 2021, with the objective of elaborating a scale of macroscopic gonadal maturity with histological basis for *A. tuberculosa*. For histological processing, the technique of paraffin wax infiltration and cryostat freezing sections was used, and staining was performed with hematoxylin-eosin. By relating the most salient characteristics found in the microscopic analysis with the observation of fresh gonads, six phases of gonadal maturity were obtained for females and males (0 = Virginal, I = Resting, II = Maturing, III = Mature, IV = Spawning/Expulsating and V = Recovery/Post-expelling). In the description of these phases, the difference between virgin individuals and resting adults is explained, in addition to considering phase V, which indicates the end of the reproductive activity of an individual and its entry into a resting period. The use of this validated scale is recommended to estimate the minimum size of capture and the time of greatest reproductive activity of the species, in order to reinforce its management measures.

KEYWORDS: *Anadara tuberculosa*, maturity stages, gonadal development, histology

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los bivalvos más importantes en los manglares del Pacífico oriental es *Anadara tuberculosa*, conocido comúnmente como “concha negra” en Perú, “concha prieta” en Ecuador, “piangua” en

1. INTRODUCTION

Anadara tuberculosa, a prominent bivalve species in Eastern Pacific mangroves (PORTILLA *et al.*, 1999), thrives from Baja California in Mexico to Tumbes in Peru (KEEN, 1971; MORA, 1990).

COMO REFERENCIAR ESTE ARTÍCULO: Tito, L., Ordinola, E., Perea, Á. & Alemán, S. (2024). Escala de madurez gonadal macroscópica de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) validada histológicamente. *Bol Inst Mar Perú*, 39(1), 5-25. <https://doi.org/10.53554/boletin.v39i1.395>

Colombia y “pata de mula” en México (PORTILLA *et al.*, 1999), se distribuye desde Baja California en México hasta Tumbes en Perú (KEEN, 1971; MORA, 1990); según WoRMS (2022) la especie es un molusco de la clase Bivalvia y familia Arcidae. Habita en la zona intermareal de los manglares, enterrada en el fango e íntimamente relacionada a las raíces de mangle del género *Rhizophora* (MORA, 1990; ORDINOLA *et al.*, 2020; VEGA *et al.*, 2021).

En el Perú, los únicos bancos naturales de esta especie se ubican en el ecosistema de manglares de la Región Tumbes (ORDINOLA *et al.*, 2020). Su consumo data de épocas preincaicas, corroborado por las acumulaciones de conchas vacías en antiguos asentamientos humanos, como el ubicado en Las Agujillas (isla Matapalo).

La pesquería del recurso es artesanal, al norte de Tumbes se aprecia una zona ubicada en el Santuario Nacional Los Manglares de Tumbes, donde la pesquería es regulada mediante el co-manejo acordado entre las asociaciones de extractores y el Servicio Nacional de Áreas Protegidas por el Estado (SERNANP), que administra esta área natural protegida. En el resto del ecosistema de manglares la pesquería es de acceso abierto. Para la protección del recurso existen Resoluciones Ministeriales (R. M. N° 014-2006-PRODUCE) que prohíben su extracción durante el principal período reproductivo y que fija la talla mínima de captura (R. M. N° 209-2001-PE).

Se ha constatado que la captura por unidad de esfuerzo de *A. tuberculosa* ha disminuido significativamente a través de los años, a la vez que se ha incrementado la extracción de ejemplares con tallas menores a las legalmente permitidas, fracción que estaría representada por individuos juveniles que no han llegado a alcanzar la madurez gonádica (ORDINOLA *et al.*, 2019).

El IMARPE en Tumbes, efectúa el seguimiento biológico reproductivo del recurso concha negra. Para la determinación de sus fases de madurez gonadal aplica una escala macroscópica elaborada por Poma (1981, no publicada) que no cuenta con validación histológica (SANJINEZ *et al.*, 2016) por lo que no sería tan precisa; al respecto PÉREZ (2007) señala que es importante conocer las fases de madurez gonadal de los bivalvos para fines de manejo y recomienda el análisis histológico como una base sólida para obtener mejores resultados, por ser el método más preciso para este tipo de estudios.

According to WoRMS (2022), this species, classified under the class Bivalvia and family Arcidae, primarily dwells in the intertidal zones of mangroves, often buried within mud and closely associated with *Rhizophora* mangrove roots (MORA, 1990; ORDINOLA *et al.*, 2020; VEGA *et al.*, 2021).

The exclusive natural banks of *A. tuberculosa* in Peru reside within the mangrove ecosystem of the Tumbes Region (ORDINOLA *et al.*, 2020). Evidence of its historical consumption dates back to pre-Incan times, as depicted by accumulations of discarded shells found in ancient human settlements, such as those unearthed in Las Agujillas (Matapalo Island).

This resource is primarily harvested through artisanal fisheries. While fishing within the Tumbes Mangroves National Sanctuary adheres to regulated co-management practices, overseen by the Peruvian National Service of Natural Protected Areas (SERNANP), the remainder of the mangrove ecosystem allows open-access fishing. Protective measures, including Ministerial Resolutions (R. M. N° 014-2006-PRODUCE) that restrict extraction during peak reproductive periods and stipulate minimum catch sizes (R. M. N° 209-2001-PE), aim to safeguard the resource.

Over the years, a noticeable decline in the catch per unit effort of *A. tuberculosa* has been observed, coupled with an increase in the extraction of specimens below legally permitted sizes, predominantly represented by juvenile individuals yet to attain gonadal maturity (ORDINOLA *et al.*, 2019).

In Tumbes, IMARPE conducts biological reproductive monitoring of *A. tuberculosa*, utilizing a macroscopic scale developed by Poma (1981, unpublished) for determining gonadal maturity stages. However, lacking histological validation (SANJINEZ *et al.*, 2016) renders this method less precise. PÉREZ (2007) underscores the significance of comprehending bivalve gonadal maturity stages for effective resource management, advocating for histological analysis as the most accurate approach.

CRUZ (1984) indica que *A. tuberculosa* presenta sexos separados con fecundación y desarrollo externos. Las gónadas están incluidas en la parte supero-lateral de las vísceras rodeando virtualmente al intestino y estómago; están limitadas dorsalmente por los riñones y el hepatopáncreas. En individuos maduros el tejido gonadal cubre la parte interna distal del pie y rodea la parte dorsal del cuerpo. En ejemplares sexualmente maduros y en maduración, es fácil distinguir el sexo, por el color de las gónadas, en machos es color blanquecino y de consistencia pegajosa y en hembras es de aspecto granular y color anaranjado.

ISHIYAMA y TERUKINA (1989), trabajaron en *A. tuberculosa* de Puerto Pizarro con tallas comprendidas entre 32,1 y 66,0 mm de longitud valvar (LV), por medio de la técnica de infiltración en parafina, determinaron la escala de madurez gonadal de hembras y machos, que incluye las fases Inmaduro, En maduración, Máxima madurez y Evacuación. En el caso de las hembras en fase Inmaduro observaron que los folículos fueron pequeños con oogonias y oocitos adheridos en sus paredes y en algunos casos presentaron oocitos del ciclo anterior, por lo que no lograron diferenciar a los adultos en reposo de los virginales.

LUCERO-RINCÓN *et al.* (2013) en estudios efectuados en la costa del Pacífico de Colombia, con el empleo de la técnica de frotis y de histología de gónadas, propusieron una escala de madurez gonadal con características macroscópicas y microscópicas con cinco fases de madurez gonadal observados en las hembras y los machos de *A. tuberculosa*, los cuales fueron: Reposo, Desarrollo/Inmaduro, Madurez inicial, Madurez y Desove.

GIL-AGUDELO *et al.* (2010) mediante observaciones macroscópicas y microscópicas de frotis y placas histológicas de las gónadas de ejemplares de *A. tuberculosa* obtenidas en la costa del Pacífico de Colombia, definieron cinco fases de madurez: Indiferenciado – Indeterminado (en reposo), Previtellogenesis – Inmaduro, Madurez, Madurez y Desove.

Para poblaciones del pacífico panameño, DEL CID *et al.* (2021) utilizaron técnicas histológicas para *A. tuberculosa* basadas en cuatro fases de madurez: Indiferenciado, Desarrollo, Desove y Reabsorción.

En el estero Santo Domingo, Bahía Magdalena en México, PÉREZ (2005) por medios histológicos ca-

Regarding reproductive biology, CRUZ (1984) highlights *A. tuberculosa's* separate sexes, external fertilization, and development. The gonads are positioned in the supero-lateral part of the visceral cavity, encircling the intestine and stomach, dorsally bordered by the kidneys and hepatopancreas. In mature individuals, gonadal tissue extends to the distal inner part of the foot and envelops the dorsal body. Differentiation of sexes in mature and maturing specimens relies on gonad coloration; males exhibit a whitish, adhesive appearance, while females present a granular, orange hue.

ISHIYAMA & TERUKINA (1989) conducted research on *A. tuberculosa* in Puerto Pizarro, investigating sizes ranging from 32.1 to 66.0 mm in valve length (VL) and establishing a gonadal maturity scale for females and males using the paraffin infiltration technique. Their scale encompassed stages like Immature, Maturing, Maximum maturity, and Evacuation. Within the Immature stage in females, they noted challenges in distinguishing resting adults from virginal ones due to small follicles containing oogonia and attached oocytes from the previous cycle.

LUCERO-RINCÓN *et al.* (2013) carried out studies on the Pacific coast of Colombia, employing smears and gonadal histology to propose a gonadal maturity scale with five stages (Resting, Developing/Immature, Initial maturity, Maturity, and Spawning) for both female and male *A. tuberculosa*.

Similarly, GIL-AGUDELO *et al.* (2010) defined five maturity phases (Undifferentiated – Undetermined, Previtellogenesis – Immature, Vitellogenesis – Maturing, Mature, Mature and Spawning) based on macroscopic and microscopic observations of smears and histological slides from the Pacific coast of Colombia.

In the Panamanian Pacific, DEL CID *et al.* (2021) employed histological techniques to define four maturity stages (Undifferentiated, Development, Spawning, and Reabsorption) in *A. tuberculosa*.

Meanwhile, PÉREZ (2005) characterized four gonadal developmental stages (Development,

racterizó cuatro fases de desarrollo gonádico para ambos sexos de *A. tuberculosa*: Desarrollo, Madurez, Desove parcial/evacuación parcial y Posdesove/Posteyaculación. No encontró organismos sexualmente indiferenciados, en febrero 2005 efectuó un muestreo masivo que incluyó ejemplares pequeños, cuya talla máxima fue de 26 mm.

El objetivo del presente trabajo consistió en la elaboración de una escala de madurez gonadal macroscópica con base histológica para *A. tuberculosa*, como herramienta técnica para un mejor estudio de sus aspectos reproductivos, orientados a proponer medidas para un manejo sustentable de su pesquería.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron 858 cuerpos sin valvas de *A. tuberculosa*, entre los años 2008, 2010, 2019, 2021, provenientes de las actividades de extracción manual efectuadas en los manglares de Tumbes, los que se preservaron en formol bufferado al 10%. En el laboratorio, previo a la colecta, se efectuó el muestreo biométrico y biológico descrito por SANJINEZ *et al.* (2016). Para obtener el cuerpo intacto y sin valva, y no dañar las partes internas, cada individuo fue abierto cuidadosamente al desprenderle sus músculos abductores. En la parte externa del cuerpo se observó presencia o ausencia de hendiduras y se practicó un corte transversal en su parte media, para observar presencia o ausencia de gónada y sus características más relevantes. Se tomaron fotografías de los cuerpos enteros y cortados transversalmente, y de los cortes histológicos, las que sirvieron como herramienta de apoyo para realizar tanto la descripción macroscópica como las microscópicas de las gónadas siguiendo a BUITRÓN *et al.* (2015).

Para el procesamiento histológico, se emplearon dos métodos: el de infiltración en parafina (HUMASON, 1979) y el de cortes por congelamiento en criostato (PEREA DE LA MATTA & BUITRÓN, 2004). En ambos casos, los cortes fueron hechos a 7 μm de grosor empleando un micrótopo de rotación, marca Leica, para las muestras embebidas en parafina y un criostato portátil de la misma marca para los cortes obtenidos por congelamiento. Los cortes histológicos se colorearon con hematoxilina de Harris y se contrastaron con eosina alcohólica, y como medio de montaje se utilizó Entellán (PAREDES, 2010; ORTIZ-GALARZA *et al.*, 2011; BUITRÓN *et al.*, 2015).

Maturity, Partial spawning/partial evacuation, and Post-spawning/post-ejaculation) for both sexes in the Santo Domingo estuary, Bahía Magdalena, Mexico, using histology. Notably, they did not encounter sexually undifferentiated organisms during their extensive sampling in February 2005, which included small specimens up to 26 mm in size.

Our study's primary goal is to establish a histologically based macroscopic gonadal maturity scale for *A. tuberculosa*. This tool will facilitate a deeper understanding of its reproductive dynamics and serve as a foundation for proposing sustainable fishery management measures.

2. MATERIALS AND METHODS

A total of 858 shell-less bodies of *A. tuberculosa* were meticulously gathered from manual extraction activities in the Tumbes mangroves spanning 2008, 2010, 2019, and 2021, subsequently preserved in 10% buffered formalin. Before collection, laboratory procedures followed the biometric and biological sampling protocols outlined by SANJINEZ *et al.* (2016). Each specimen underwent precise dissection to obtain intact bodies devoid of valves, ensuring the preservation of internal structures by delicately detaching their abductor's muscles. Visual examination of the body's exterior noted the presence or absence of fissures, while a transverse incision at the midsection revealed and assessed the gonads' salient characteristics. Comprehensive documentation through photography captured overall body features, cross-sectional cuts, and histological sections, serving as essential references for both macroscopic and microscopic gonadal descriptions, following established methodologies (BUITRÓN *et al.*, 2015).

Histological processing adopted two techniques: paraffin infiltration (HUMASON, 1979) and cryostat freezing sectioning (PEREA DE LA MATTA & BUITRÓN, 2004). Cuts of 7 μm thickness were meticulously prepared using a Leica rotating microtome for paraffin-embedded samples and a portable cryostat of the same manufacturer for frozen sections. The ensuing histological sections underwent staining with Harris hematoxylin and alcoholic eosin contrast, employing Entellán as a mounting medium (PAREDES, 2010; ORTIZ-GALARZA *et al.*, 2011; BUITRÓN *et al.*, 2015).

Microscópicamente, se analizaron las gónadas de hembras y machos, para determinar características celulares, desarrollo gonadal y establecer fases de madurez según su desarrollo (ISHIYAMA & TERUKINA, 1989; PAREDES, 2010; ORTIZ-GALARZA *et al.*, 2011).

3. RESULTADOS

Se obtuvieron y analizaron individuos con tallas de 31 a 60 mm de longitud valvar (LV). Mediante observación microscópica de gónadas de *A. tuberculosa*, se diferenciaron tres tipos de células sexuales para hembras: ovocito inmaduro, ovocito en maduración y ovocito maduro, y tres tipos de células sexuales para machos: espermatogonios, espermatocitos y espermatozoides.

A continuación, se detallan las características macroscópicas y microscópicas de las fases de madurez gonadal observadas en las gónadas de hembras y machos de *Anadara tuberculosa*.

HEMBRAS

VIRGINAL (FASE 0)

Características macroscópicas: externamente el cuerpo se aprecia liso y sin hendiduras. Al realizar un corte transversal no se observan gónadas. Son individuos juveniles que aún no han alcanzado la madurez gonadal (Fig. 1-A).

Características microscópicas: poco espacio de tejido conectivo en el cual posteriormente se encontrarán las trabéculas conteniendo los ovocitos. El tejido conectivo se ubica entre el tejido muscular y la masa visceral (Fig. 1-B).

REPOSO (FASE I)

Características macroscópicas: externamente en el cuerpo se aprecia una o más hendiduras (pliegues que tienen forma de grietas) notorias como consecuencia de la retracción o encogimiento del pie. Al efectuarle el corte transversal no se observa la gónada y se aprecia una capa de tejido conectivo de color blanco claro a transparente entre el tejido muscular y la masa visceral. Son individuos adultos que ya se han reproducido por lo menos una vez en su vida (Fig. 2-C).

Microscopic analysis focused on examining the cellular characteristics, gonadal development, and determination of maturity stages in both female and male gonads, aligning with established protocols (ISHIYAMA & TERUKINA, 1989; PAREDES, 2010; ORTIZ-GALARZA *et al.*, 2011).

3. RESULTS

Individuals ranging from 31 to 60 mm in valve length (VL) were obtained and analyzed. Through microscopic observation of *A. tuberculosa* gonads, three types of sex cells were differentiated for females: immature oocyte, oocyte in maturation, and mature oocyte, and three types of sex cells for males: spermatogonia, spermatocytes, and spermatozoa.

Below are the macroscopic and microscopic characteristics of the observed gonadal maturity phases in the gonads of female and male *Anadara tuberculosa*.

FEMALES

VIRGINAL (Stage 0)

Macroscopic features: the body externally appears smooth and without fissures. Upon a cross-section, no gonads are observed. These are juvenile individuals that have not yet reached gonadal maturity (Fig. 1-A).

Microscopic features: there is little connective tissue space where later the trabeculae containing the oocytes will be found. The connective tissue is located between the muscular tissue and the visceral mass (Fig. 1-B).

RESTING (Stage I)

Macroscopic features: externally, the body shows one or more noticeable fissures (folds shaped like cracks) due to the retraction or shrinking of the foot. Upon a cross-section, the gonad is not visible, and a layer of light white to transparent connective tissue is observed between the muscular tissue and the visceral mass. These are adult individuals that have reproduced at least once in their life (Fig. 2-C).

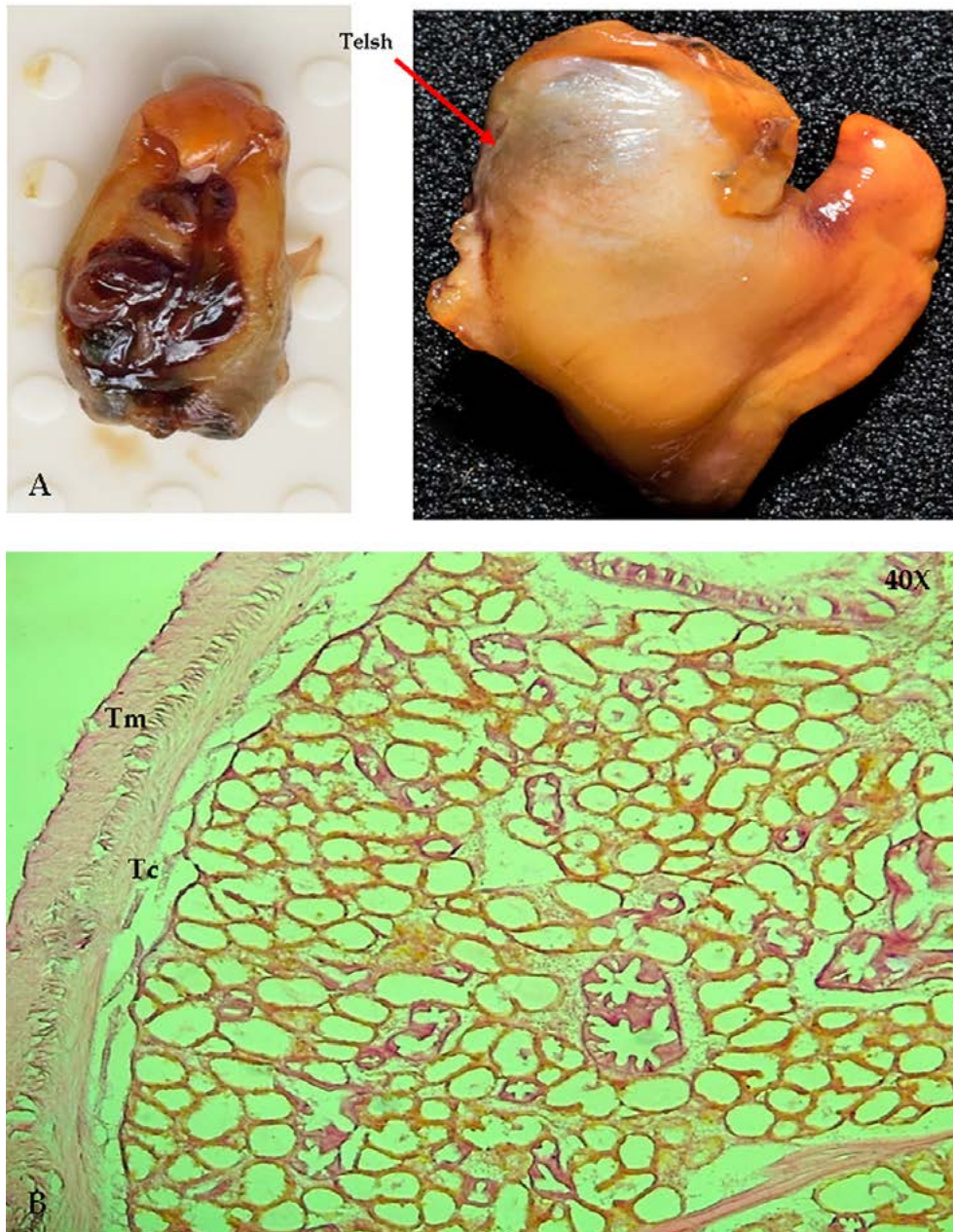


Figura 1.- Fase de madurez gonadal **Virginal (0)** de *Anadara tuberculosa*
 Fotografías: macroscópica (A) y microscópica (B)
 A = hembra y/o macho, B = hembra y/o macho
 Telsh: Tejido externo liso y sin hendiduras, Tm: Tejido muscular, Tc: Tejido conectivo

Figure 1. **Virginal** gonadal maturity stage (0) of *A. tuberculosa*
 Photographs: macroscopic (A) and microscopic (B)
 A = female and/or male, B = female and/or male
 Telsh: Smooth external tissue without fissures, Tm: Muscular tissue, Tc: Connective tissue

Características microscópicas: las características son similares a la fase virginal con la diferencia que la capa muscular es más gruesa y se encuentra retraída hacia el interior de la masa visceral junto con el tejido conectivo. En algunos casos es posible observar restos de trabéculas y tejido conectivo (Fig. 2-D).

Microscopic features: they are similar to the virginial stage, with the difference that the muscular layer is thicker and retracted towards the interior of the visceral mass along with the connective tissue. In some cases, remnants of trabeculae and connective tissue can be observed (Fig. 2-D).

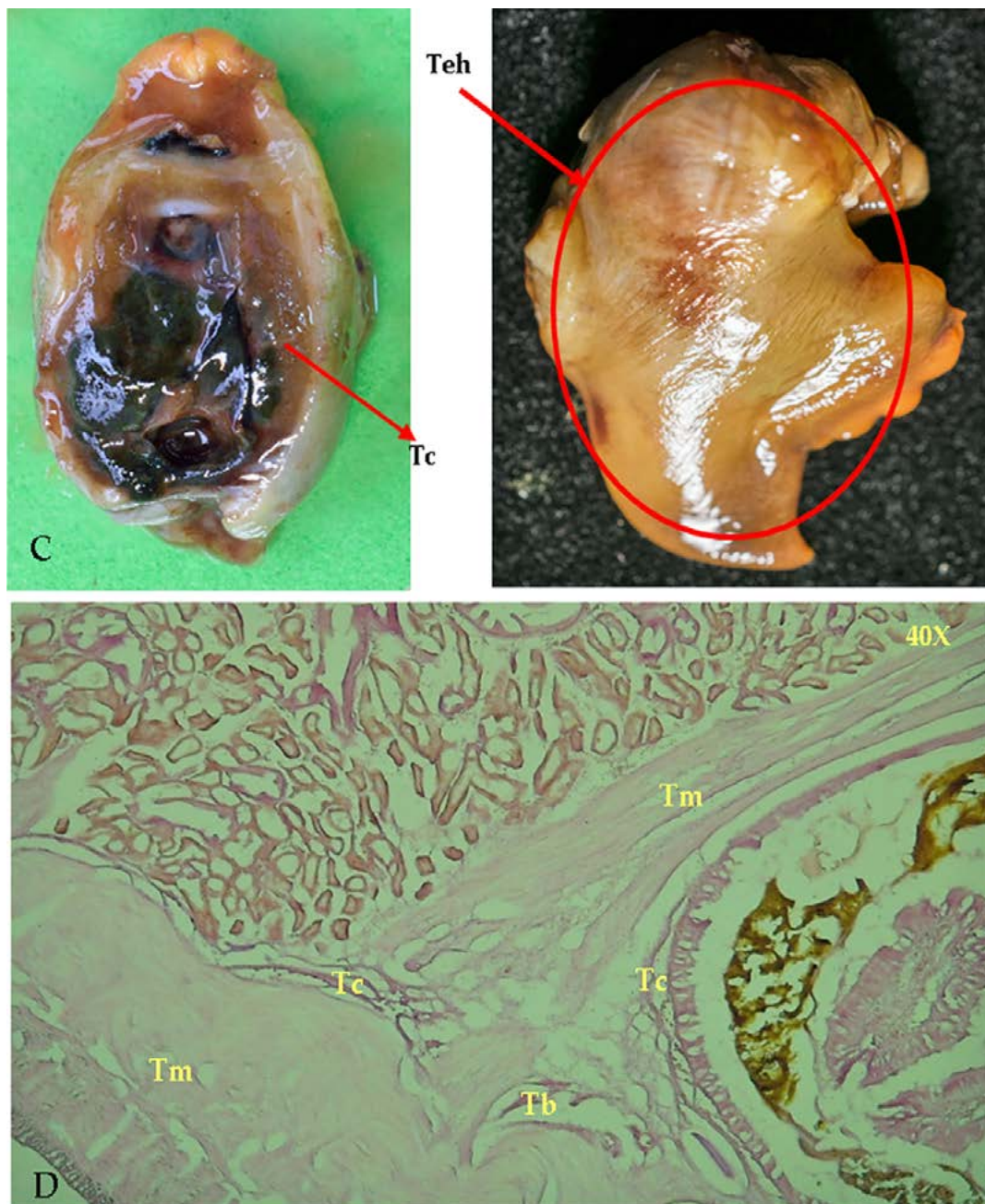


Figura 2.- Fase de madurez gonadal en **Reposo (I)** de *Anadara tuberculosa*
 Fotografías: macroscópica (C) y microscópica (D)
 C = hembra y/o macho, D = hembra y/o macho
 Teh: Tejido externo con hendiduras, Tm: Tejido muscular, Tc: Tejido conectivo, Tb: trabéculas

Figure 2. **Resting** gonadal maturity stage (I) of *A. tuberculosa*
 Photographs: macroscopic (C) and microscopic (D)
 C = female and/or male, D = female and/or male
 Teh: External tissue with fissures, Tm: Muscular tissue, Tc: Connective tissue, Tb: trabeculae

EN MADURACIÓN (Fase II)

Características macroscópicas: externamente la masa muscular puede o no presentar hendiduras. Al realizarle un corte transversal, se observa presencia de la gónada que cubre de manera uniforme a la masa visceral. La gónada presenta un grosor que

MATURING (Stage II)

Macroscopic features: externally, the muscular mass may or may not present fissures. Upon making a transversal cut, the presence of the gonad covering the visceral mass uniformly is observed. The gonad varies in thickness from a

varía desde una capa fina a medianamente gruesa y es de color naranja claro. En algunos casos puede producirse un ligero desprendimiento del contenido gonadal de consistencia líquida (Fig. 3-E).

Características microscópicas: se observan trabéculas con ovocitos inmaduros y ovocitos en maduración adosados a su pared interna. En algunos casos, pueden observarse muy pocos ovocitos ma-

thin to moderately thick layer and has a light orange color. In some cases, a slight detachment of the gonadal content with liquid consistency can occur (Fig. 3-E).

Microscopic features: trabeculae with immature oocytes and maturing oocytes attached to their inner wall are observed. In some instances, very few mature oocytes can be seen.

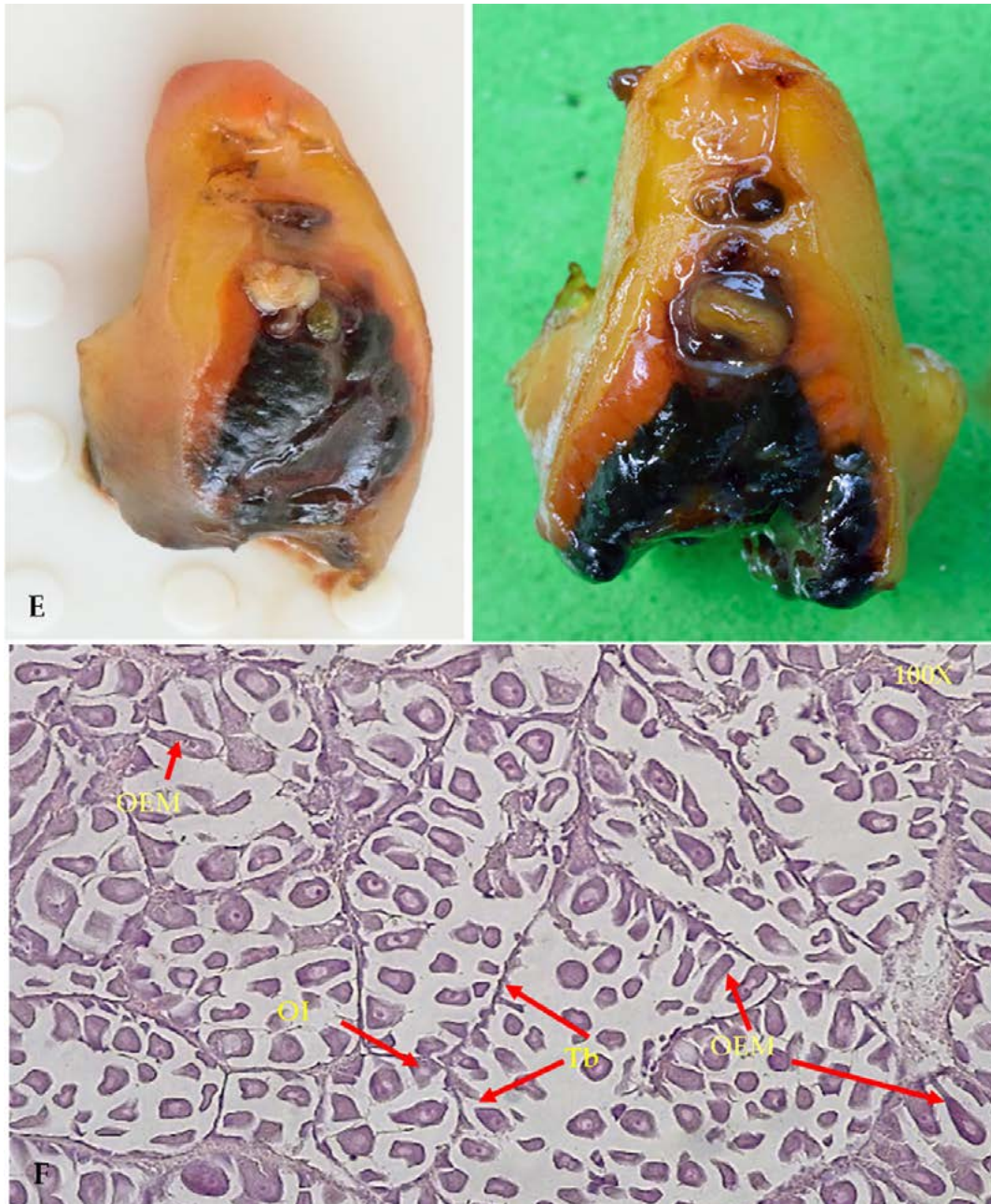


Figura 3.- Fase de madurez gonadal: **En maduración (II)** de hembra de *Anadara tuberculosa*

Fotografías: macroscópica (E) y microscópica (F)

OI: Ovocitos inmaduros, OEM: Ovocitos en maduración, Tb: Trabécula

Figure 3. Gonadal maturity stage: **Maturing (II)** of female *A. tuberculosa*

Photographs: macroscopic (E) and microscopic (F)

OI: Immature oocytes, OEM: Oocytes in maturation, Tb: Trabeculae

duros. Los ovocitos inmaduros están totalmente adosados a la pared interna de la trabécula y son amorfos, mientras que, los ovocitos en maduración tienen forma alargada y de pera y se encuentran orientados hacia el lumen de las trabéculas. Las trabéculas están distribuidas de manera continua y son pequeñas en comparación con las trabéculas de la fase madura (Fig. 3-F).

MADURO (Fase III)

Características macroscópicas: en la vista externa no se aprecian hendiduras como consecuencia de su estiramiento. Al efectuar el corte transversal se observa una capa gruesa de gónada que cubre de manera uniforme gran parte de la masa visceral y su color va de naranja claro a intenso (Fig. 4-G). Sin ejercer ningún tipo de presión se produce un desprendimiento regular a abundante del contenido gonadal de consistencia líquida, como consecuencia de la avanzada madurez.

Características microscópicas: se caracteriza por presentar ovocitos maduros ubicados y agrupados en el lumen de las trabéculas, listos para ser expulsados, los cuales se pueden desprender fácilmente al hacer el corte transversal. Las trabéculas se observan totalmente llenas de ovocitos. También, se pueden observar ovocitos inmaduros y ovocitos en maduración. Las trabéculas se encuentran distribuidas de manera continua y son muy grandes (Fig. 4-H).

DESOVANTE (Fase IV)

Características macroscópicas: externamente se aprecian hendiduras como consecuencia del encogimiento originado por el desove. Al practicar el corte transversal, se observa la gónada dispersa en la masa visceral en forma de uno o más paquetes medianos a grandes. En ocasiones, puede producirse el desprendimiento del contenido gonadal el cual tiene consistencia líquida. El color de la gónada va de naranja claro a naranja intenso (Fig. 5-I).

Características microscópicas: presenta trabéculas muy desarrolladas con pocos ovocitos maduros ubicados en su lumen, mostrando espacios vacíos entre ellos como resultado del desove; la presencia de estas trabéculas debe ser igual o mayor al 50%. También se pueden observar ovocitos inmaduros y ovocitos en maduración. Las trabéculas se pueden observar distribuidas de manera continua una tras otra y también de forma dispersa (Fig. 5-J).

Immature oocytes are entirely attached to the inner wall of the trabecula and are shapeless, whereas maturing oocytes are elongated and pear-shaped, oriented towards the lumen of the trabeculae. The trabeculae are consistently distributed and smaller compared to those in the mature stage (Fig. 3-F).

MATURE (Stage III)

Macroscopic features: no fissures are visible externally due to stretching. Upon making the transverse cut, a thick layer of gonad covering a substantial part of the visceral mass uniformly is observed, ranging in color from light orange to intense (Fig. 4-G). Without applying any pressure, there is a regular to abundant detachment of the gonadal content of liquid consistency, due to advanced maturity.

Microscopic features: characterized by mature oocytes located and clustered in the trabecular lumen, ready to be expelled, easily detachable upon the transverse cut. Trabeculae appear filled with oocytes. Immature and maturing oocytes can also be observed. Trabeculae are continuously distributed and very large (Fig. 4-H).

SPAWNING (Stage IV)

Macroscopic features: externally, fissures are visible due to the contraction caused by spawning. Upon making the transverse cut, the gonad is observed scattered in the visceral mass in the form of one or more medium to large bundles. Occasionally, detachment of the gonadal content, which has a liquid consistency, can occur. The color of the gonad ranges from light orange to intense orange (Fig. 5-I).

Microscopic features: it presents highly developed trabeculae with few mature oocytes located in their lumen, showing empty spaces between them as a result of spawning. The presence of these trabeculae should be equal to or greater than 50%. Immature and maturing oocytes can also be observed. The trabeculae can be observed distributed continuously one after another and also dispersedly (Fig. 5-J).

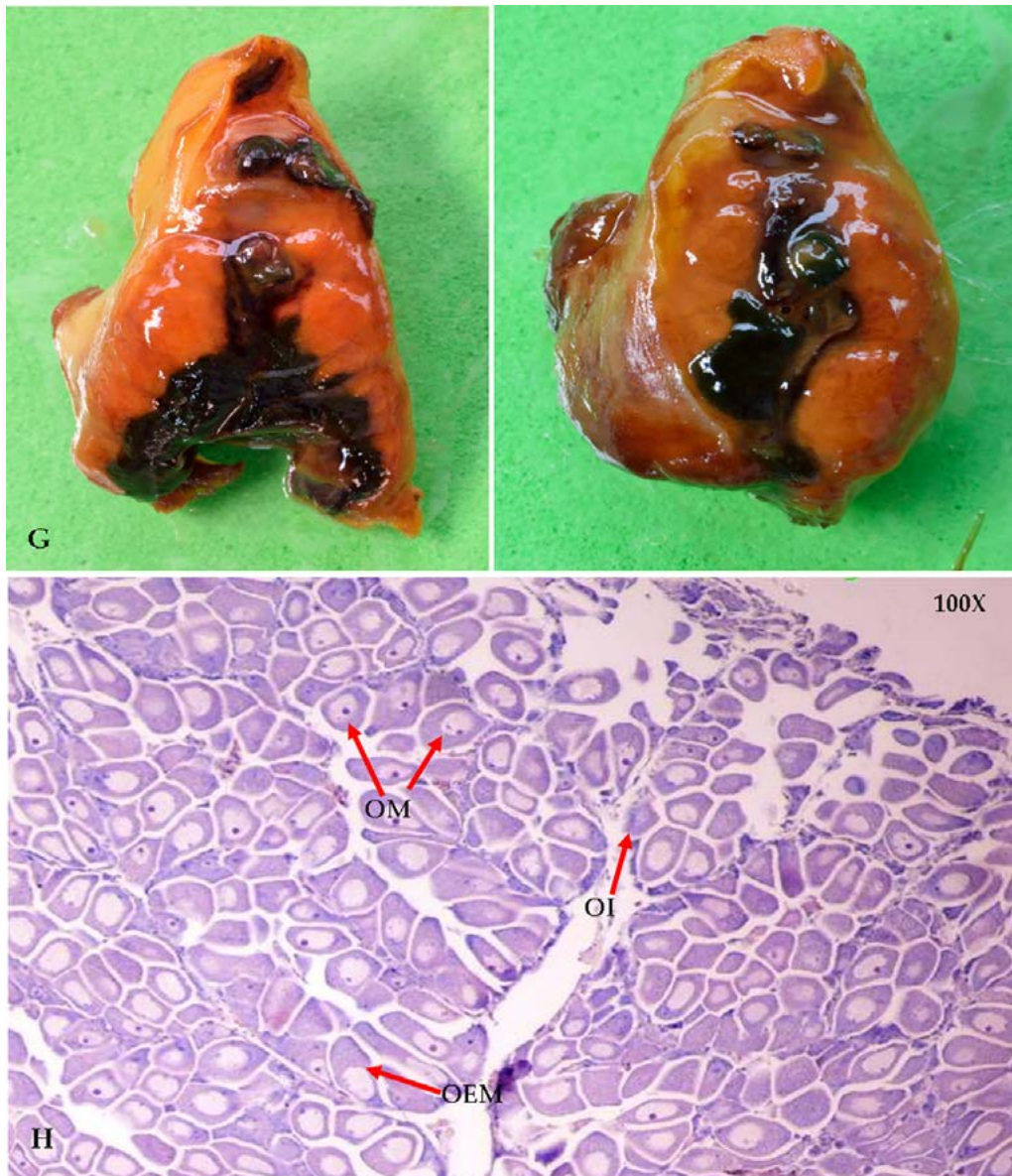


Figura 4.- Fase de madurez gonadal: **Maduro** (III) de hembra de *Anadara tuberculosa*
Fotografías: macroscópica (G) y microscópica (H)
OI: Ovocitos inmaduros, OEM: Ovocitos en maduración, OM: Ovocito maduro

Figure 4. Gonadal maturity stage: **Mature** (III) of female *A. tuberculosa*
Photographs: macroscopic (G) and microscopic (H)
OI: Immature oocytes, OEM: Oocytes in maturation, OM: Mature oocyte

RECUPERACIÓN (Fase V)

Características macroscópicas: externamente se aprecian hendiduras. Al realizar el corte transversal, se observa uno o más restos de gónada muy pequeños a manera de rezagos, los que a una ligera presión no muestra desprendimiento del contenido gonadal. Los rezagos de gónada son de color naranja pálido a naranja claro (Fig. 6-K).

RECOVERY (Stage V)

Macroscopic features: fissures are visible externally. Upon making the transverse cut, one or more very small remnants of the gonad are observed as residues, which upon slight pressure do not release the gonadal content. The gonadal residues are pale orange to light orange (Fig. 6-K).

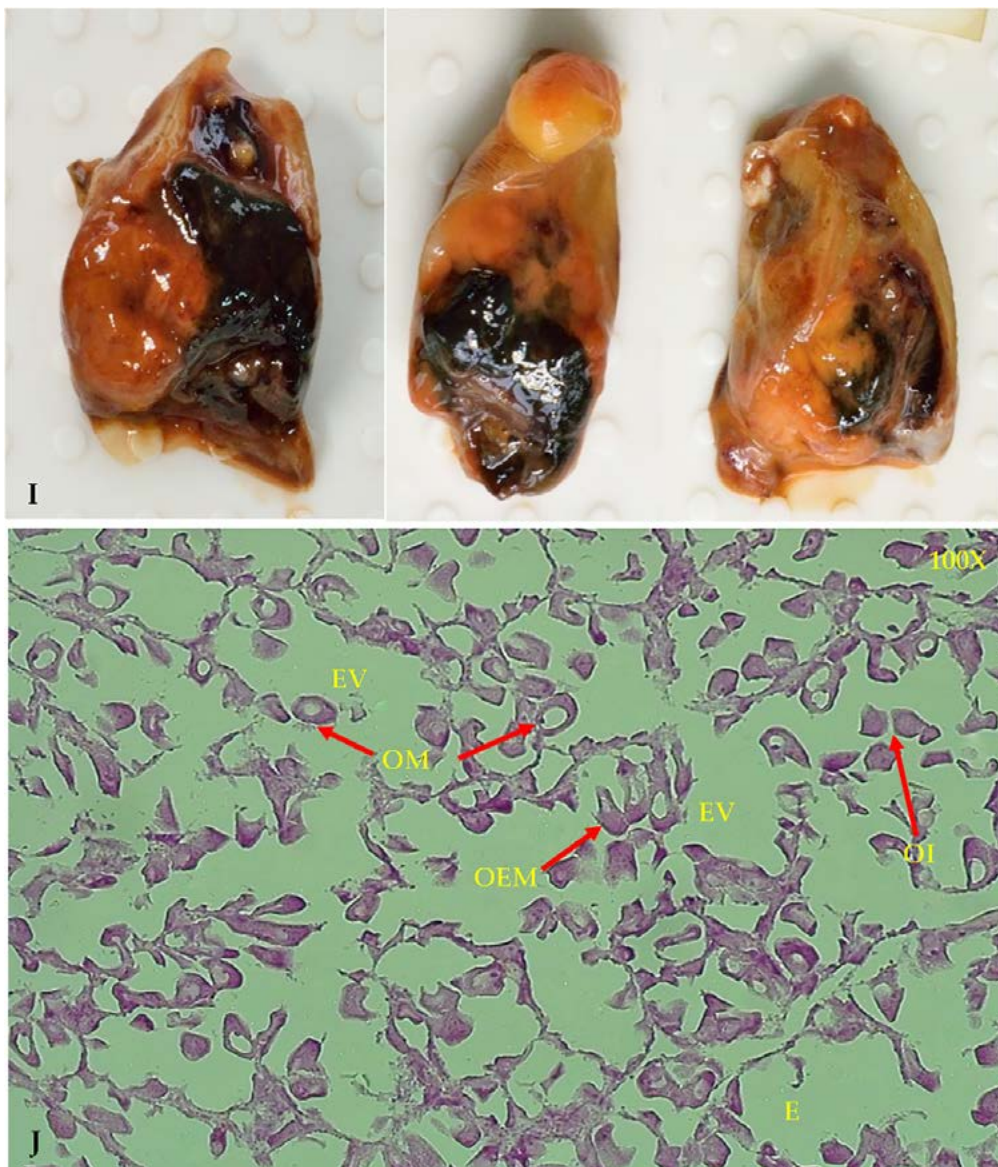


Figura 5.- Fase de madurez gonadal: **Desovante** (IV) de hembra de *Anadara tuberculosa*
 Fotografías: macroscópica (I) y microscópica (J)
 OI: Ovocito inmaduro, OEM: Ovocito en maduración, OM: Ovocitos maduros, EV: Espacios vacíos

Figure 5. Gonadal maturity stage: **Spawning** (IV) of female *A. tuberculosa*
 Photographs: macroscopic (I) and microscopic (J)
 OI: Immature oocytes, OEM: Oocytes in maturation, OM: Mature oocytes, EV: Empty spaces

Características microscópicas: se observan escasas trabéculas pequeñas y amorfas con ovocitos atrésicos y dispersos en diferentes grados de reabsorción (Fig. 6-L).

Microscopic features: few small and amorphous trabeculae are observed with atretic oocytes dispersed at different stages of reabsorption (Fig. 6-L).

MACHOS

MALES

VIRGINAL (Fase 0)

VIRGINAL (Stage 0)

Características macroscópicas: externamente el músculo se aprecia totalmente liso y sin hendi-

Macroscopic features: externally, the muscle appears completely smooth without fissures.



Figura 6.- Fase de madurez gonadal: **Recuperación** (V) de hembra de *Anadara tuberculosa*
Fotografías: macroscópica (K) y microscópica (L)

OA: Ovocitos atrésicos, TM: Tejido muscular, Tc: Tejido conectivo, Tb: Trabécula

Figure 6. Gonadal maturity stage: **Recovery** (V) of female *A. tuberculosa*.

Photographs: macroscopic (K) and microscopic (L)

OA: Atretic oocytes, TM: Muscular tissue, Tc: Connective tissue, Tb: Trabeculae

duras. Al realizar el corte transversal no se observa gónada. Son individuos juveniles que aún no han alcanzado la madurez gonadal (Fig. 1-A).

Características microscópicas: se observa muy poco espacio de tejido conectivo en el cual se encontrarán posteriormente a las trabéculas conteniendo las células espermáticas. El tejido conectivo se encuentra entre el tejido muscular y la masa visceral (Fig. 1-B).

Upon making a transverse cut, no gonad is observed. These are juvenile individuals that have not yet reached gonadal maturity (Fig. 1-A).

Microscopic features: there is very little connective tissue space where the trabeculae containing sperm cells will be found later. The connective tissue is located between the muscle tissue and the visceral mass (Fig. 1-B).

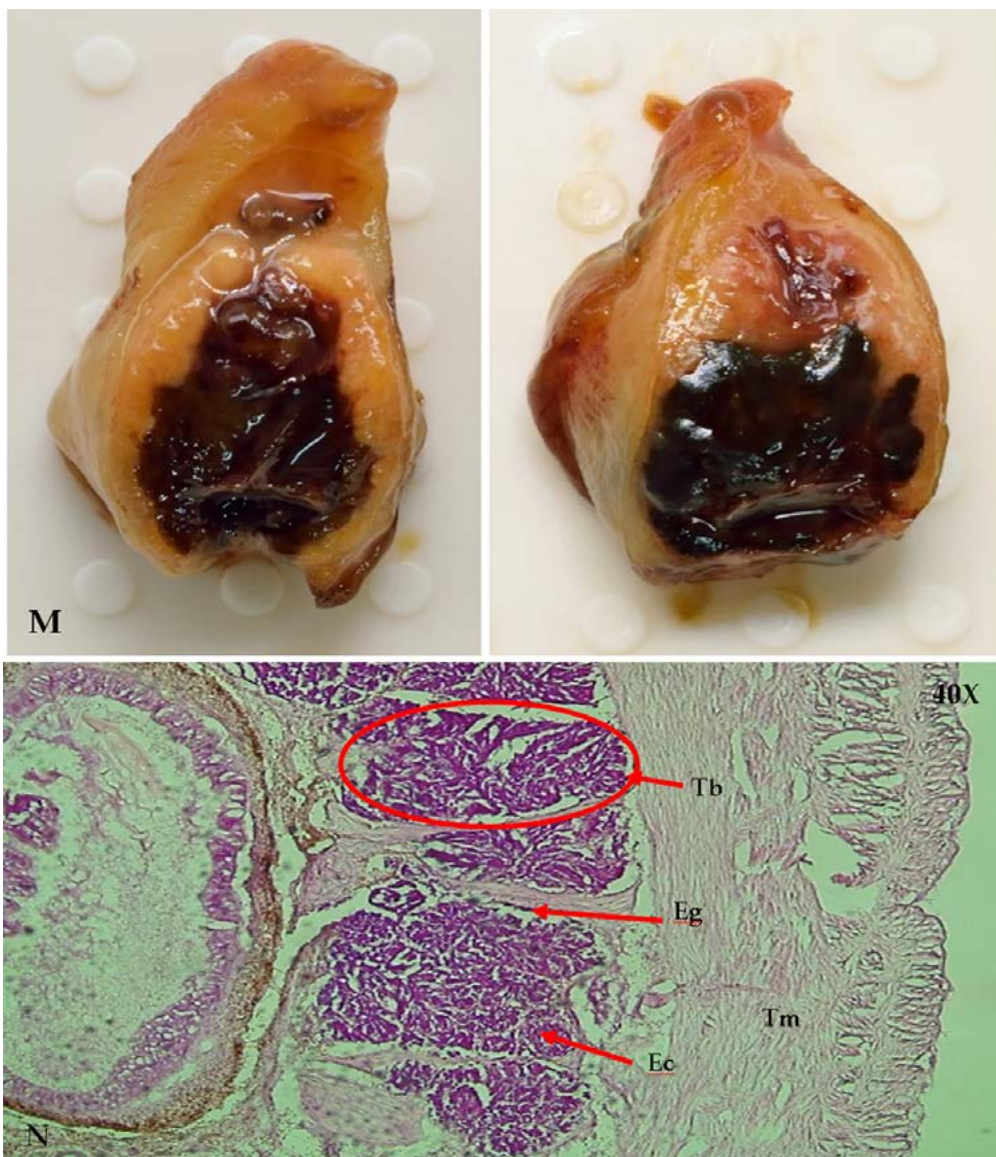


Figura 7.- Fase de madurez gonadal: **En Maduración** (II) de macho de *Anadara tuberculosa*
Fotografías: macroscópica (M) y microscópica (N)

Eg: Espermatogonias, Ec: Espermatocitos, TM: Tejido muscular, Tb: Trabécula

Figure 7. Gonadal maturity stage: **Maturing** (II) of male *A. tuberculosa*
Photographs: macroscopic (M) and microscopic (N)

Eg: Spermatogonia, Ec: Spermatocytes, TM: Muscular tissue, Tb: Trabecula

REPOSO (Fase I)

Características macroscópicas: externamente se aprecian una o más hendiduras muy notorias ante la retracción o encogimiento del pie. Al hacerle el corte transversal no se observa gónada, pero sí una capa de tejido conectivo color blanco claro a transparente entre el músculo y la masa visceral. Son individuos adultos que ya se han reproducido por lo menos, una vez en su vida (Fig. 2-C).

RESTING (Stage I)

Macroscopic features: externally, one or more very noticeable fissures appear due to the retraction or shrinking of the foot. Upon making the transverse cut, no gonad is observed, but a layer of light to transparent white connective tissue is visible between the muscle and the visceral mass. These are adult individuals that have reproduced at least once in their lifetime (Fig. 2-C).

Características microscópicas: las características son similares a la fase virginal con la diferencia que la capa muscular es más gruesa y se encuentra retraída hacia el interior de la masa visceral junto con el tejido conectivo. En algunos casos es posible observar restos de trabéculas y tejido conectivo (Fig. 2-D).

EN MADURACIÓN (Fase II)

Características macroscópicas: externamente en el músculo se pueden apreciar, o no, hendiduras. Al hacerle un corte transversal se observa que la gónada cubre de manera uniforme a la masa visceral. La gónada presenta un grosor que varía desde una capa fina a medianamente gruesa y es de color crema claro (Fig. 7-M).

Características microscópicas: se caracteriza por presentar espermatogonias adosadas a la pared de las trabéculas seguido de espermatocitos, que están ubicados hacia el lumen de la trabécula. Las trabéculas están distribuidas de manera continua y son pequeñas y poco abundantes (Fig. 7-N).

MADURO (Fase III)

Características macroscópicas: externamente en el músculo no se aprecian hendiduras como consecuencia de su estiramiento. Al hacerle un corte transversal al individuo, se observa una capa gruesa de gónada que cubre en gran parte y de manera uniforme a la masa visceral y su color va de crema claro a intenso. En ocasiones puede producirse el desprendimiento del contenido gonadal como consecuencia de su avanzada madurez (Fig. 8-O).

Características microscópicas: Presenta trabéculas muy desarrolladas con espermatozoides ubicados en su lumen y adosadas a las franjas eosinófilas, las que se observan muy turgentes y con muy poco a nada de espacio interno por estar llenas de espermatozoides. También, se puede observar espermatogonias y espermatocitos, existiendo una diferencia cromática que los caracteriza, las espermatogonias se observan como una franja de color morado y los espermatocitos como una franja de color azul. Las trabéculas son abundantes y se encuentran distribuidas de manera continua (Fig. 8-P).

Microscopic features: the characteristics are similar to the virginal stage, except that the muscular layer is thicker and retracted inward towards the visceral mass along with the connective tissue. In some cases, remnants of trabeculae and connective tissue can be observed (Fig. 2-D).

MATURING (Stage II)

Macroscopic features: externally on the muscle, fissures may or may not be visible. Upon making a transverse cut, the gonad is observed to uniformly cover the visceral mass. The gonad presents a thickness that varies from a thin to moderately thick layer and is light cream (Fig. 7-M).

Microscopic features: it is characterized by presenting spermatogonia attached to the wall of the trabeculae followed by spermatocytes, which are located towards the lumen of the trabecula. The trabeculae are distributed continuously and are small and sparse (Fig. 7-N).

MATURE (Stage III)

Macroscopic features: externally on the muscle, no fissures are visible due to stretching. Upon making a transverse cut, a thick layer of gonad covering a large part of the visceral mass uniformly is observed, ranging in color from light cream to intense. Occasionally, detachment of gonadal content may occur due to advanced maturity (Fig. 8-O).

Microscopic features: it presents highly developed trabeculae with spermatozoa located in their lumen and adhered to eosinophilic stripes, which appear very turgid and with very little to no internal space due to being full of spermatozoa. Also, spermatogonia and spermatocytes can be observed, with a chromatic difference characterizing them—spermatogonia appears as a purple stripe, and spermatocytes as a blue stripe. The trabeculae are abundant and distributed continuously (Fig. 8-P).

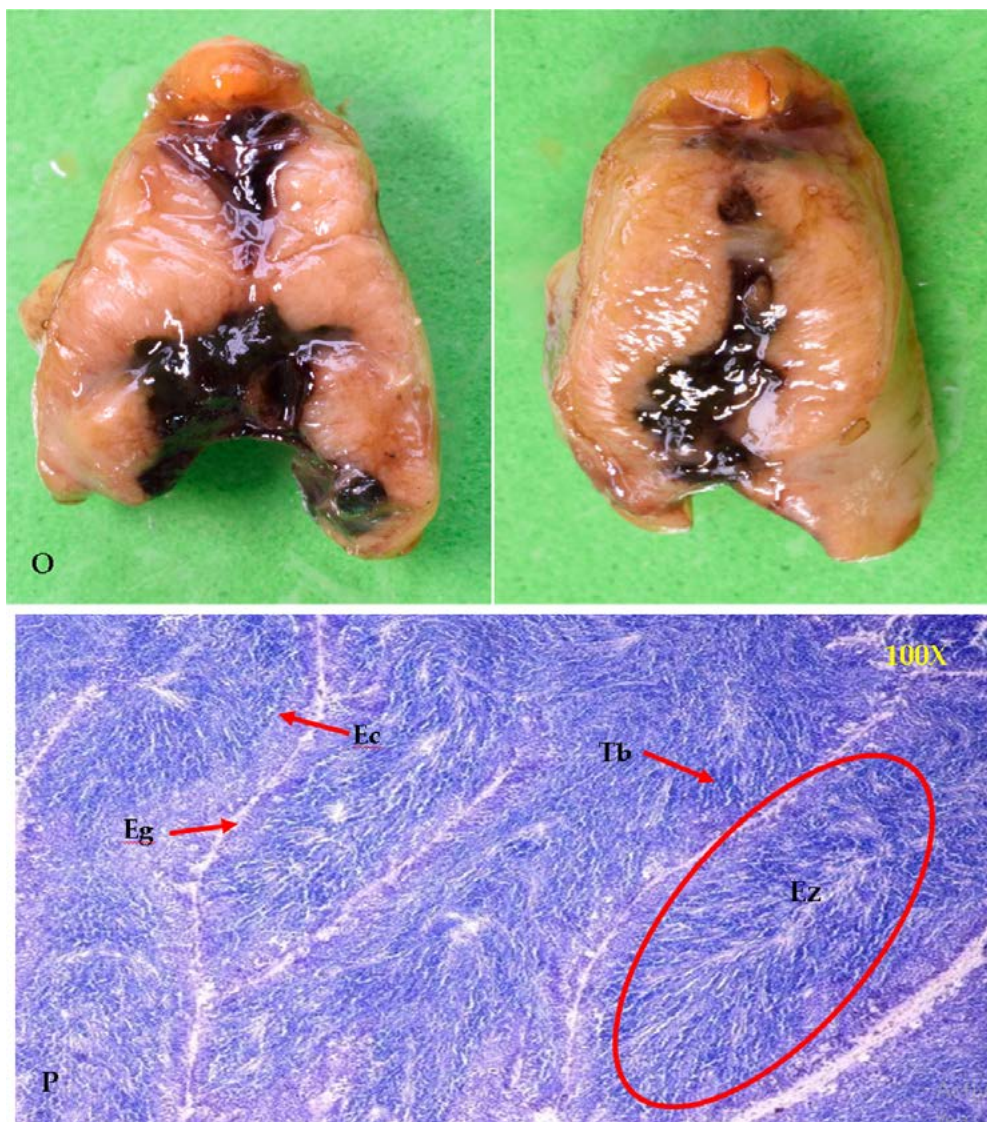


Figura 8.- Fase de madurez gonadal: **Maduro** (III) de macho de *Anadara tuberculosa*
Fotografías: macroscópica (O) y microscópica (P)
Eg: Espermatogonias, Ec: Espermatocitos, Ez: Espermatozoides, Tb: Trabecula

Figure 8. Gonadal maturity stage: **Mature** (III) of male *A. tuberculosa*
Photographs: Macroscopic (O) and microscopic (P)
Eg: Spermatogonia, Ec: Spermatocytes, Ez: Spermatozoa, Tb: Trabecula

EXPULSANTE (Fase IV)

Características macroscópicas: externamente en el músculo, se aprecian hendiduras como consecuencia de su encogimiento originado por la expulsión de los espermatozoides. Al efectuar el corte transversal, se observa la gónada dispersa en la masa visceral en forma de uno o más paquetes medianos a grandes. En ocasiones puede producirse el desprendimiento del contenido gonadal el cual tiene consistencia líquida. El color de la gónada va de crema claro a intenso (Fig. 9-Q).

EXPPELLING (Stage IV)

Macroscopic features: externally on the muscle, fissures are visible due to its shrinkage caused by the expulsion of spermatozoa. Upon making a transverse cut, the gonad is observed dispersed in the visceral mass in the form of one or more medium to large clusters. Occasionally, detachment of gonadal content, which has a liquid consistency, may occur. The color of the gonad ranges from light cream to intense (Fig. 9-Q).

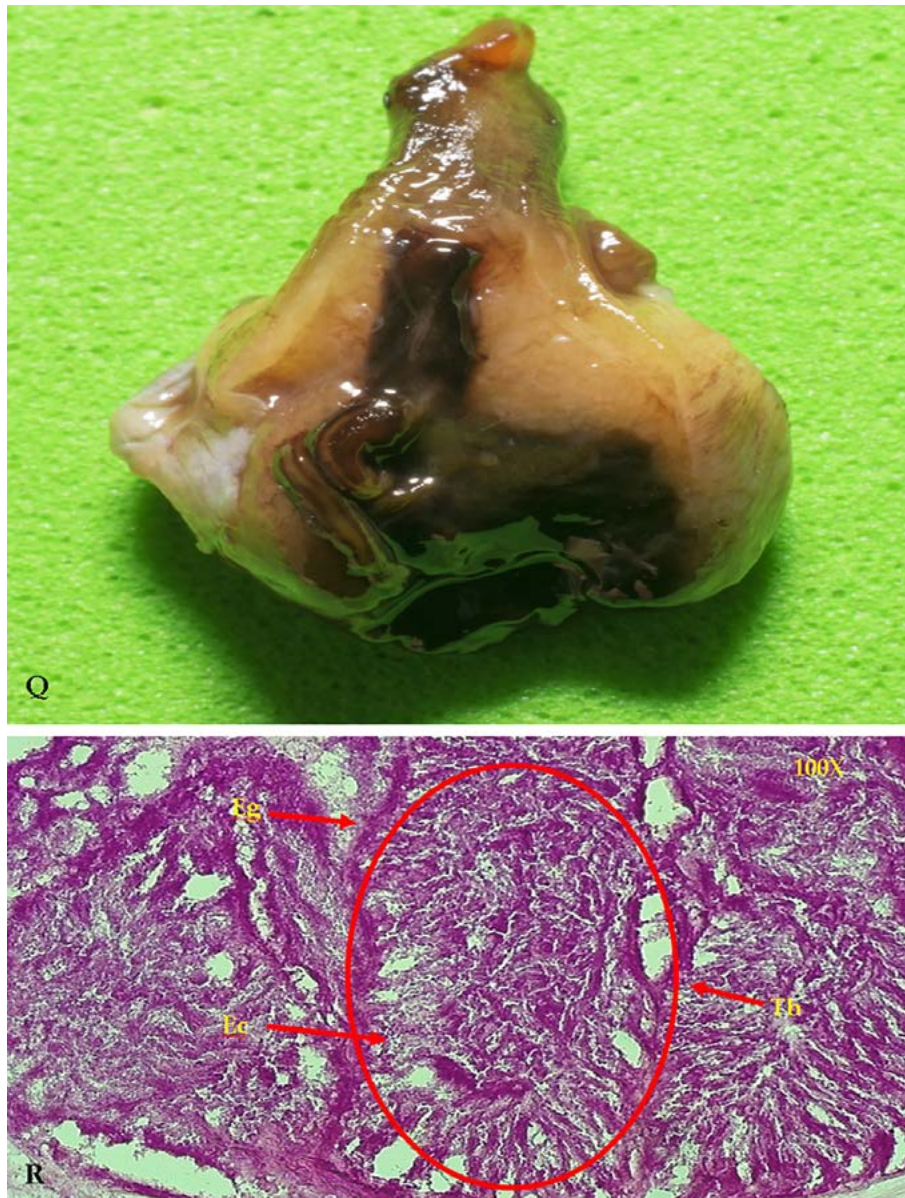


Figura 9.- Fase de madurez gonadal **Maduro** (III) de macho de *Anadara tuberculosa*
Fotografías: macroscópica (Q) y microscópica (R)
Eg: Espermatogonias, Ec: Espermatocitos, Tb: Trabécula

Figure 9. Gonadal maturity stage: **Mature** (III) of male *A. tuberculosa*
Photographs: macroscopic (Q) and microscopic (R)
Eg: Spermatogonia, Ec: Spermatocytes, Tb: Trabecula

Características microscópicas: presenta trabéculas muy desarrolladas con poco o ningún espermatozoide ubicados en su lumen y adosados a las franjas eosinófilas dando la apariencia de haber espacios vacíos como resultado de la expulsión; la presencia de estas trabéculas será igual o mayor al 50 %. También se pueden observar espermatogonias y espermatocitos. Las trabéculas se pueden observar distribuidas de manera continua una tras otra y también de forma dispersa (Fig. 9-R).

Microscopic features: It presents highly developed trabeculae with few or no spermatozoa located in their lumen and adhered to eosinophilic stripes, giving the appearance of empty spaces as a result of the expulsion; the presence of these trabeculae will be equal to or greater than 50%. Spermatogonia and spermatocytes can also be observed. The trabeculae can be observed distributed continuously one after another and also dispersed (Fig. 9-R).

POST-EXPULSANTE (Fase V)

Características macroscópicas: externamente se aprecian hendiduras. Al hacer el corte transversal, se observa a la gónada muy dispersa en forma de pequeños rezagos o paquetes los cuales al realizarles una ligera presión no produce desprendimiento del contenido gonadal. El color de la gónada va de crema pálida a crema claro (Fig. 10-S).

Características microscópicas: se observan trabéculas amorfas y dispersas conteniendo en su interior espermatogonias, espermatoцитos y algunos espermatozoides en diferente grado de reabsorción (Fig. 10-T).

POST-EXPELLING (Stage V)

Macroscopic features: externally, fissures are visible. Upon making a transverse cut, the gonad is observed very dispersedly in the form of small remnants or clusters, which upon applying slight pressure do not release gonadal content. The color of the gonad ranges from pale cream to light cream (Fig. 10-S).

Microscopic features: amorphous and dispersed trabeculae are observed containing spermatogonia, spermatocytes, and some spermatozoa in different degrees of reabsorption (Fig. 10-T).

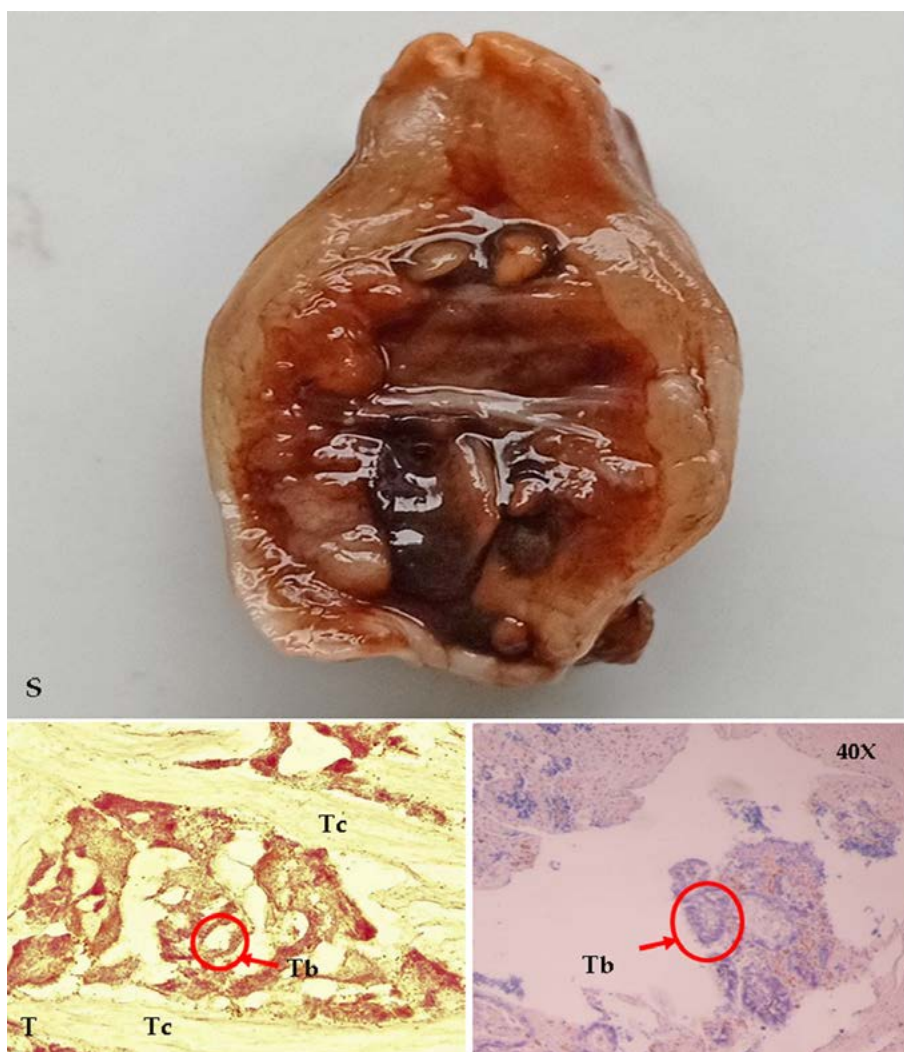


Figura 10.- Fase de madurez gonadal **Postexpulsante** (V), macho de *Anadara tuberculosa*
Fotografías: macroscópica (S) y microscópica (T)
Tb: Trabécula, Tc: Tejido conectivo

Figure 10. Gonadal maturity stage: **Post-expelling** (V) of male *A. tuberculosa*
Photographs: macroscopic (S) and microscopic (T)
Tb: Trabecula, Tc: Connective tissue

4. DISCUSIÓN

El análisis histológico es el método más preciso para determinar las fases de madurez gonadal de un recurso pesquero (PÉREZ, 2007; BUITRÓN *et al.*, 2015). Para la catalogación macroscópica de las fases de madurez gonadal de *Anadara tuberculosa*, el Laboratorio Costero del IMARPE – Tumbes emplea la escala de madurez propuesta por Poma (1981, no publicada). Se realizaron análisis microscópicos en gónadas de hembras y machos de *A. tuberculosa* para determinar sus fases de madurez gonadal y relacionar las características microscópicas y macroscópicas más resaltantes, y así elaborar la escala de madurez gonadal macroscópica validada histológicamente.

Mediante la observación microscópica de gónadas de *A. tuberculosa*, se evidenció que un individuo (hembra o macho) en la fase de madurez II (en maduración), III (maduro) y IV (desovante/expulsante), presentan los tres tipos de células sexuales encontradas en su desarrollo gonadal, evidenciando que es una especie con maduración asincrónica y con desoves parciales. ISHIYAMA y TERUKINA (1989) registraron los tres tipos de células sexuales presentes en el desarrollo gonadal de *A. tuberculosa*, al realizar análisis histológicos en gónadas de hembras y machos, mientras PAREDES (2010) y ORTIZ-GALARZA *et al.* (2011), caracterizaron los tres tipos de células sexuales en gónadas de hembras y machos de *Tagelus dombeii* y *Trachycardium procerum*, respectivamente, determinando que ambas especies son reproductores parciales con maduración asincrónica.

ISHIYAMA y TERUKINA (1989) con análisis histológicos realizados en gónadas de *Anadara tuberculosa* determinaron cuatro fases de madurez gonadal (I Inmaduro, II En maduración, III Máxima madurez, IV Evacuación). PÉREZ (2005) mediante análisis microscópico estableció cuatro fases de madurez gonadal para *A. tuberculosa* (Desarrollo, Madurez, Desove parcial/En eyaculación, y Post-desove/Post-eyaculación), no encontró individuos de sexo indiferenciado ni indeterminado. GARCÍA-DOMÍNGUEZ *et al.*, (2008) propusieron cinco fases de madurez al realizar análisis histológico en gónadas de la misma especie (Reposo, Desarrollo, Madurez, Emisión de gametos, Post emisión de gametos). Por otro lado, GIL-AGUDELO *et al.* (2010) propusieron cinco fases de madurez gona-

4. DISCUSSION

Histological analysis stands out as the most precise method for delineating gonadal maturity stages in fishery resources (PÉREZ, 2007; BUITRÓN *et al.*, 2015). IMARPE's Coastal Laboratory of Tumbes employs Poma's unpublished maturity scale (1981) for the macroscopic categorization of *Anadara tuberculosa* gonadal maturity stages. Our study involved microscopic analyses of female and male *A. tuberculosa* gonads to ascertain their maturity stages and establish correlations between notable microscopic and macroscopic characteristics, culminating in the development of a histologically validated macroscopic gonadal maturity scale.

Observation of *A. tuberculosa* gonads at maturity stages II (maturing), III (mature), and IV (spawning/expelling) revealed the presence of three types of sex cells during their gonadal development, indicative of asynchronous maturation and partial spawning in individual specimens. This aligns with findings by ISHIYAMA & TERUKINA (1989), who, through histological analyses of female and male gonads, documented these three types of sex cells in the gonadal development of *A. tuberculosa*. Similarly, PAREDES (2010) and ORTIZ-GALARZA *et al.* (2011) characterized these sex cells in the gonads of females and males of *Tagelus dombeii* and *Trachycardium procerum*, respectively, establishing both species as partial reproducers undergoing asynchronous maturation.

ISHIYAMA & TERUKINA (1989) identified four gonadal maturity stages (I Immature, II Maturing, III Maximum maturity, IV Evacuation) in *Anadara tuberculosa* through histological analyses. PÉREZ (2005) established four maturity stages (Development, Maturity, Partial spawning/In ejaculation, Post-spawning/Post-ejaculation) via microscopic analysis, without encountering undifferentiated sex individuals. GARCÍA-DOMÍNGUEZ *et al.*, (2008) proposed five maturity stages (Resting, Development, Maturity, Gamete release, Post-gamete release) based on histological analysis of *A. tuberculosa* gonads. Conversely, GIL-AGUDELO *et al.* (2010) introduced a classification system consisting of five macroscopic gonadal maturity stages (Resting,

dal macroscópica (Reposo, Desarrollo/inmaduro, Madurez, Madurez, Desarrollo) las que compararon con observaciones microscópicas, en la fase de reposo, donde no se ve la gónada a simple vista, no separaron en su descripción a los individuos virginales o juveniles de los adultos; además destaca la poca relación entre las características macroscópicas y microscópicas. LUCERO-RINCÓN *et al.* (2013), propusieron cinco fases de madurez gonadal macroscópicas para *A. tuberculosa* con base en observaciones microscópicas (Reposo, Desarrollo, Madurez inicial, Madurez, Desove), en la fase de reposo tampoco separan a los individuos virginales o juveniles de los adultos, aunque se observa una mejor relación entre las características macroscópicas y microscópicas descritas.

En el presente estudio se han determinado y propuesto seis fases de madurez gonadal macroscópicas con base histológica para *A. tuberculosa* (0. Virginal, I. Reposo, II. En maduración, III. Maduro, IV. Desovante y/o Expulsante, y V. Recuperación y/o Post Expulsante) donde la fase en la que no se observa gónada a simple vista se divide en fase Virginal 0 (para aquellos que aún no han alcanzado la madurez gonadal) y Reposo fase I (para aquellos que ya se han reproducido por lo menos una vez en su vida), así mismo, se ha diferenciado e incluido a la fase En recuperación y/o Post-expulsante V (para hembras y machos respectivamente), debido a que esta última fase de madurez indica el fin de la actividad reproductiva de un individuo y su ingreso a un período de reposo gonadal, para posteriormente reingresar a un período de actividad reproductiva cuando las condiciones ambientales sean propicias. Resulta necesario que la escala de madurez sea capaz de discriminar individuos virginales y reproductivamente activos que permitan estimar adecuadamente las ojivas de madurez, parámetro reproductivo muy exigido en los procesos de evaluación y dinámica poblacional.

La presente escala de madurez gonadal propuesta para *A. tuberculosa* permitirá realizar lecturas macroscópicas (a simple vista) más precisas de sus distintas fases de madurez gonadal, permitiendo obtener resultados más precisos en la estimación de los índices reproductivos, lo cual favorecerá sus medidas de protección (veda reproductiva y talla mínima de extracción) y manejo pesquero.

Development/Immature, Maturity, Maturity, and Development). They sought to correlate these stages with microscopic observations. Notably, during the resting stage where the gonad is imperceptible to the naked eye, the authors did not differentiate between virgin or juvenile individuals and adults in their characterization. Furthermore, their study revealed a conspicuous absence of correlation between macroscopic and microscopic characteristics.

LUCERO-RINCÓN *et al.* (2013) proposed five macroscopic gonadal maturity stages for *A. tuberculosa* based on microscopic observations (Resting, Development, Initial maturity, Maturity, and Spawning). In the resting stage, they also do not separate virgin or juvenile individuals from adults, although they show a better relationship between the described macroscopic and microscopic characteristics.

Similarly, our study defines and presents six macroscopic gonadal maturity stages based on histological assessments for *A. tuberculosa* (0. Virginal, I. Resting, II. Maturing, III. Mature, IV. Spawning and/or Expelling, V. Recovery and/or Post-Expelling). We introduce a division within the stage where the gonad is not visible to the naked eye, separating it into Virgin Stage 0 (for individuals not yet reaching gonadal maturity) and Resting Stage I (for those having reproduced at least once). Additionally, we differentiate and include Recovery and/or Post-Expelling Stage V (for females and males respectively), denoting the conclusion of an individual's reproductive activity and its entry into a gonadal resting phase, followed by reactivation upon favorable environmental conditions. A crucial aspect of this proposed scale is its ability to distinguish between virgin and reproductively active individuals, facilitating accurate maturity ogive estimations, an essential parameter in population assessment and dynamics.

This proposed gonadal maturity scale for *A. tuberculosa* enhances the precision of visible assessments across its maturity stages, enabling more accurate estimations of reproductive indices. Such refinement supports protective measures (reproductive bans and minimum extraction size) and aids in fishery management.

5. CONCLUSIONES

Se determinó que *Anadara tuberculosa* es un desovador parcial asincrónico, debido a la presencia de gametos en diferentes estados de desarrollo en un mismo individuo.

Sobre la base de los estudios histológicos y comparación de las características microscópicas y macroscópicas más resaltantes, se determinaron seis fases de madurez gonadal para hembras y machos en *A. tuberculosa*.

La fase virginal (0) y de reposo (I) en *A. tuberculosa* han sido caracterizadas para diferenciarse macroscópicamente a través de la ausencia o presencia de hendiduras en la parte externa del cuerpo.

5. CONCLUSIONS

Anadara tuberculosa is an asynchronous partial spawner, due to the presence of gametes in different developmental stages within the same individual.

Based on histological studies and comparing the most noticeable microscopic and macroscopic characteristics, six gonadal maturity stages were determined for females and males in *A. tuberculosa*.

The virginal (0) and resting (I) stages in *A. tuberculosa* have been characterized to differentiate them macroscopically through the absence or presence of fissures on the external body surface.

6. REFERENCIAS

- BUITRÓN, B., PEREA, A., MORÍ, J., SÁNCHEZ, J., ROQUE, C., CASTILLO, J. & GÁLVEZ, M. A. (2015). Madurez gonadal de algunos peces de importancia comercial: Escalas macroscópicas validadas microscópicamente. *Bol Inst Mar Perú*, 30(1-2), 3-9. <https://revistas.imarpe.gob.pe/index.php/boletin/article/view/107>
- CRUZ, R. A. (1984). Algunos aspectos de la reproducción en *Anadara tuberculosa* (Pelecypoda: Arcidae) de Punta Morales, Puntarenas, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 32(1), 45-50. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/24772>
- DEL CID, A., CARNEIRO, D. A., TUÑÓN, O., LEONE, O., GOTI, I. & GÓMEZ, J. H. (2021). Biometría y desarrollo gonadal de la concha negra *Anadara tuberculosa* en el estero Caté, Golfo de Montijo. *Tecnociencia*, 23(1), 276-292. <https://doi.org/10.48204/j.tecnoc.v23n1a14>
- GARCÍA-DOMÍNGUEZ, F. A., HARO-HERNÁNDEZ, A., GARCÍA-CUELLAR, A., VILLALEJO-FUERTE, M. & RODRÍGUEZ ASTUDILLO, S. (2008). Ciclo reproductivo de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) (Arcidae) en Bahía Magdalena, México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(1), 143-152. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572008000100015>
- GIL-AGUDELO, D., GUALTEROS, W., DELGADO, M., LUCERO, C., ESPINOZA, S., CORTÉS, N. & PALACIO, C. (2010). Potencial productivo de las poblaciones naturales de la piangua *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis* dentro de una perspectiva espacio-temporal en la costa Pacífica colombiana. INVEMAR.
- HUMASON, G. L. (1979). *Animal tissue techniques* (4° ed.). W. H. Freeman and Company.
- ISHIYAMA, V. & TERUKINA, S. (1989). Reproducción de *Anadara tuberculosa* y *Anadara similis* en la zona de Puerto Pizarro, Perú. *Revista de ciencias biológicas*, 16(95), 3-11.
- KEEN, A. M. (1971). *Sea shells of tropical west America. marine mollusks from Baja California to Peru* (2° ed.). Stanford University Press.
- LUCERO-RINCÓN, C. H., CANTERA K. J. R., GIL-AGUDELO, D. L., MUÑOZ, O., ZAPATA, L. A., CORTES, N., GUALTEROS, W. O. & MANJARRES A. (2013). Análisis espacio temporal de la biología reproductiva y el reclutamiento del molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* en la costa del Pacífico colombiano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48(2), 321-334. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572013000200011>
- MORA SÁNCHEZ, E. (1990). Catálogo de bivalvos marinos del Ecuador. *Boletín Científico y Técnico*, X(1).
- ORDINOLA, E., ALEMÁN, S. & MONTERO, P. (2020). Concha negra *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) y concha huequera *Anadara similis* (C.B. Adams, 1852) en los manglares de Tumbes. Setiembre 2018. *Inf Inst Mar Perú*, 47(1), 141-158. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3412>
- ORDINOLA, E., ALEMÁN, S., INGA, C. E., VERA, M. & LLANOS, J. (2019). Sinopsis biológica, poblacional y pesquera de *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) y *Anadara similis* (C.B. Adams, 1852) en los manglares de Tumbes: 1995 a 2015. *Bol Inst Mar Perú*, 34(1), 223-264. <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3351>
- ORTIZ-GALARZA, K. J., IANNAONE, J., PEREA DE LA MATTA, A. & BUITRÓN-DÍAZ, B. (2011). Biología reproductiva de la "concha corazón" *Trachycardium procerum* (Sowerby, 1833) (Cardiidae, Pelecypoda) de Chimbote, Perú. *The biologist (Lima)*, 9(1), 66-97. https://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologist/v09_n1/pdf/a06v9n1.pdf
- PAREDES PAREDES, J. (2010). Escala y talla de primera madurez gonadal en "navaja" *Tagelus dombeii* (Lamarck, 1818), entre las zonas Parachique - Las Delicias, 2009 [Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo]. Universidad Nacional de Piura. Facultad de Ciencias. Escuela Profesional de Ciencias Biológicas. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3016>
- PEREA DE LA MATTA, A. & BUITRÓN DÍAZ, B. (2004). Aplicación del método de congelación de ovarios para estimar la distribución espacial de cardúmenes desovantes de anchoveta. *Inf Inst Mar Perú*, 32(2), 123-126. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/1805>

- PÉREZ GARCÍA, I. M. (2007). *Determinación de la Madurez Gonádica de Casco de Burro (Anadara grandis), en época lluviosa y transición lluviosa-seca en la Península de San Juan del Gozo en la Bahía de Jiquilisco, Departamento de Usulután* [Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología]. Universidad de El Salvador. Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Escuela de Biología. <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/12469>
- PÉREZ MEDINA, D. R. (2005). *Biología reproductiva de Anadara tuberculosa (Bivalvia: Arcidae) en el estero Santo Domingo, B.C.S., México* [Tesis para optar el Grado de Maestro en Ciencias con Especialidad en Manejo de Recursos Marinos]. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/14383>
- PORTILLA, E., BETANCOURTH, V. & ARIZALA, I. (1999). *Evaluación de algunos aspectos pesqueros y estado de explotación de la piangua Anadara tuberculosa (Sowerby, 1833) y Anadara similis (C.B. Adams, 1852) en el municipio de Tumaco* [Trabajo presentado como requisito parcial para optar el título de Ingeniero en Producción Acuicola]. Universidad de Nariño.
- RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 014-2006-PRODUCE. (2006). *Establece temporada de veda para la pesca de conchas negras en el departamento de Tumbes del 15 de febrero al 31 de marzo*. 17 de enero de 2006.
- RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 209-2001-PE. (2001). *Aprueban relación de tallas mínimas de captura y tolerancia máxima de ejemplares juveniles de principales peces marinos e invertebrados*. 26 de junio de 2001. <https://faolex.fao.org/docs/pdf/per31908.pdf>
- SANJINEZ, M., TAIPE, A., BERRÚ, P. & ALFARO, S. (2016). Protocolo para muestreo biológico y biométrico de bivalvos marinos. *Inf Inst Mar Perú*, 43(4), 349-364. <https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3118>
- VEGA, A. J., ROBLES P. Y. A., ALVARADO, O. & CEDEÑO MITRE, C. (2021). Estructura de tallas, distribución y abundancia de *Anadara tuberculosa* (Bivalvia: Arcidae) en dos sistemas de manglar del Pacífico de Panamá. *Revista de Biología Tropical*, 69(2), 422-433. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v69i2.43934>
- WoRMS. (2022). *WoRMS taxon details. Anadara tuberculosa (G. B. Sowerby I, 1833)*. <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=504313>