



IPMA

Instituto Português
do Mar e da Atmosfera

RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

**RELAÇÕES ENTRE PESOS DE GÓNADAS
FIXADAS E FRESCAS DE PEIXES DA COSTA
PORTUGUESA**

Ana Maria Costa

2020

25



RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS DO IPMA – SÉRIE DIGITAL

Destinam-se a promover uma divulgação rápida de resultados de carácter científico e técnico, resultantes da actividade de investigação e do desenvolvimento e inovação tecnológica nas áreas de investigação do mar e da atmosfera. Esta publicação é aberta à comunidade científica e aos utentes, podendo os trabalhos serem escritos em Português, Francês ou Inglês.

Edição

IPMA

Rua C - Aeroporto de Lisboa
1749-007 LISBOA
Portugal

Corpo Editorial

Francisco Ruano – Coordenador

Aida Campos

Irineu Batista

Lourdes Bogalho

Mário Mil-Homens

Rogélia Martins

Teresa Drago

Edição Digital

Conceição Almeida

As instruções aos autores estão disponíveis no sitio web do IPMA

<http://ipma.pt>

ou podem ser solicitadas aos membros do Corpo Editorial desta publicação

Capa

Conceição Almeida

ISSN

2183-2900

Todos os direitos reservados

RELAÇÕES ENTRE PESOS DE GÓNADAS FIXADAS E FRESCAS DE PEIXES DA COSTA PORTUGUESA

Ana Maria Costa

IPMA - Divisão de Modelação e Gestão de Recursos da Pesca (DivRP)
Rua Alfredo Magalhães Ramalho, 6, 1495-165 Algés

Recebido em: 2019.06.14

Aceite em: 2020.01.15

RESUMO

Este trabalho foi desenvolvido com base em amostras obtidas na pesca comercial nos portos de Matosinhos, Peniche, Sesimbra e Portimão. As relações entre os pesos das gónadas (frescas e fixadas durante 1 a 6 meses) de sete espécies pelágicas - biqueirão (*Engraulis encrasicolus*) carapau branco (*Trachurus trachurus*), carapau negrão (*Trachurus picturatus*), cavala (*Scomber colias*), sarda (*Scomber scombrus*), sardinha (*Sardina pilchardus*) e verdinho (*Micromesistius poutassou*) e uma espécie demersal - pescada (*Merluccius merluccius*) da costa portuguesa foram obtidas por meio de regressões lineares simples, tendo em conta o sexo e o estado de maturação. Os testes ANOVA aplicados a estas relações mostraram algumas diferenças significativas, indicando a necessidade de aplicar equações específicas para cada um daqueles parâmetros.

Palavras chave: Espécies pelágicas e demersais; costa portuguesa; pesos; gónadas fixadas e frescas.

ABSTRACT

Title: Relationship(s) between preserved and fresh gonads weights from Portuguese continental waters.

This work was based on samples from commercial fleet in the ports of Matosinhos, Peniche, Sesimbra and Portimão. The relationships between the weight of fresh and fixed gonad for one to six months of seven pelagic species - anchovy (*Engraulis encrasicolus*), Atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*), blue horse mackerel (*Trachurus picturatus*), chub mackerel (*Scomber colias*), mackerel (*Scomber scombrus*), sardine (*Sardina pilchardus*) and blue whiting (*Micromesistius poutassou*) and one demersal species - hake (*Merluccius merluccius*) of the Portuguese coast were obtained with simple linear regressions, taking into account sex and maturity stage. The ANOVA tests applied to these relationships showed some significant differences, indicating the need to apply specific equations for each of those parameters.

Key words: Pelagic and demersal species; Portuguese coast; weights; preserved and fresh gonads.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

COSTA, A.M., 2020. Relações entre pesos de gónadas fixadas e frescas de peixes da costa portuguesa. *Relat. Cient. Téc. IPMA*, nº 25, 17pp.

INTRODUÇÃO

Os estudos de reprodução baseiam-se em parâmetros para cuja obtenção é necessário o peso correcto das gónadas, em particular das fêmeas. O índice gonadossomático, relação entre o peso do peixe e o peso da gónada (independentemente do estado de maturação), sendo um bom indicador da condição fisiológica do peixe, e a fecundidade parcial, número de oócitos hidratados que uma fêmea liberta durante a desova, são essenciais na identificação do ciclo de reprodução de uma espécie. As espécies piscícolas, em particular as que habitam as latitudes temperadas, apresentam ciclos reprodutivos característicos (Nikolsky, 1963; deVlaming *et al.*, 1982) que podem ser descritos pela alteração do peso das gónadas. Durante a ovulação o peso do ovário aumenta, devido à hidratação dos oócitos, diminuindo após a desova.

As gónadas utilizadas nestes estudos são obtidas a partir de amostras provenientes de campanhas de investigação ou de capturas comerciais, sendo estas últimas retiradas do peixe no laboratório e pesadas imediatamente antes da sua fixação. Pelo contrário, as gónadas recolhidas a bordo durante as campanhas de investigação não são pesadas, devido à instabilidade das balanças do navio que não permitem uma boa precisão, em particular para pesos muito pequenos. Nestes casos as gónadas já fixadas têm de ser pesadas no laboratório após o final da campanha.

Sabendo-se que a fixação altera o peso das gónadas, pretende-se com este trabalho obter as relações entre o peso das gónadas frescas e fixadas das espécies para as quais se aplicam actualmente técnicas histológicas: biqueirão (*Engraulis encrasicolus*), carapau branco (*Trachurus trachurus*), carapau negrão (*Trachurus picturatus*), cavala (*Scomber colias*), sarda (*Scomber scombrus*), sardinha (*Sardina pilchardus*), verdinho (*Micromesistius poutassou*) e pescada (*Merluccius merluccius*).

METODOLOGIA

As gónadas utilizadas neste trabalho foram recolhidas de amostras da pesca comercial desembarcadas nos portos de Matosinhos, Peniche, Sesimbra e Portimão, tendo sido pesadas em fresco e fixadas em formol a 4% no caso das espécies pelágicas e a 10% no caso da pescada (de acordo com a metodologia indicada na Tabela 1). Nesta espécie as gónadas são maiores e apresentam uma parede mais espessa pelo que foi utilizada uma solução mais concentrada do fixador de modo a permitir uma correcta fixação. Após o período de fixação necessário para o peso estabilizar, 1 a 6 meses, conforme indicado na Tabela 2, de forma a que os valores pudessem ser comparáveis entre si, as gónadas foram novamente pesadas, tendo o cuidado de as colocar previamente sobre papel de filtro para absorver a solução do fixador na superfície das gónadas.

Tabela 1 - Reagentes para a preparação de 1 litro da solução de formol neutralizada

Sais fosfato	Concentração final (M)	Quantidade necessária (g)
Dihidrogenofosfato de sódio monohidrato ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0.02948	4.068
Hidrogéniofosfato disódico dihidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.04601	8.189

Formol	Concentração final (%)	Quantidade necessária (L)
Formaldeído p.a. 37%	4	0,108
Formaldeído p.a. 37%	10	0,270

Tabela 2 - Datas de pesagem das gónadas frescas e fixadas de cada espécie

Espécie	Código	Datas de pesagem das gónadas	
		Gónadas frescas	Gónadas fixadas
Biqueirão	ANE	02/04/2018	31/05/2018
	ANE	18/03/2018	12/09/2018
Pescada	HKE	18/08/2015	26/02/2016
	HKE	11/02/2016	25/07/2016
Carapau branco	HOM	22/01/2014	31/03/2014
Carapau negrão	JAA	26/02/2018	19/04/2018
Sarda	MAC	17/01/2019	27/05/2019
	MAC	18/03/2019	28/05/2019
Cavala	MAS	23/06/2015	03/12/2015
Sardinha	PIL	31/01/2011	22/06/2011
Verdinho	WHB	12/01/2016	24/05/2016

Os pesos registados referem-se a gónadas de ambos os sexos nos diversos estados de maturação, avaliados de acordo com as seguintes escalas de maturação: Soares *et al.* (2009) para biqueirão (ANE) e sardinha (PIL); Walsh *et al.* (1990) para carapau branco, carapau negrão, cavala e sarda (HOM, JAA, MAS e MAC); ICES (2007) para pescada (HKE) e Godinho *et al.* (2001) para verdinho (WHB) (Anexo 1)

Para cada espécie e sempre que os dados disponíveis o permitiram foi aplicada uma regressão linear simples, por sexo e por estado de maturação. Para determinar possíveis diferenças estatísticas entre os pesos das gónadas frescas e fixadas aplicou-se para cada espécie uma ANOVA para análise das variâncias entre (i) indivíduos maduros e imaturos de cada sexo; (ii) todos os estados maduros de cada sexo; (iii) o mesmo estado de maturação nos dois sexos. O nível de significância estatística escolhido foi de 5% ($\alpha = 0,05$).

RESULTADOS

As características de cada amostra, espécie, sexo, estado de maturação e número de indivíduos, estão indicadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Características das amostras utilizadas para as relações entre o peso fixado e o peso fresco das gónadas das espécies estudadas

Espécie	Sexo	Estado de maturação	Nº de indiv.
ANE	F	1	5
ANE	F	2	9
ANE	F	3	4
ANE	F	4	11
ANE	F	5	3
ANE	M	1	6
ANE	M	2	4
ANE	M	3	20
ANE	M	5	1
HKE	F	1	3
HKE	F	2	6
HKE	F	3	24
HKE	F	4	4
HKE	M	1	1
HKE	M	2	15
HKE	M	3	4
HKE	M	4	7
HOM	F	2	10
HOM	F	5	28
HOM	F	6	2
JAA	F	2	5
JAA	F	3	2
JAA	F	4	1
JAA	F	5	9
JAA	F	6	4
JAA	M	3	1
JAA	M	4	2
JAA	M	5	16
JAA	M	6	6
MAC	F	2	2
MAC	F	3	2
MAC	F	4	6
MAC	F	5	21
MAC	F	6	3
MAC	M	1	2
MAC	M	2	1
MAC	M	3	1
MAC	M	4	8

MAC	M	5	9
MAS	F	1	14
MAS	F	6	4
MAS	M	1	1
MAS	M	2	2
MAS	M	3	1
MAS	M	4	3
MAS	M	5	2
MAS	M	6	6
PIL	F	1	1
PIL	F	3	95
PIL	F	4	29
PIL	F	5	19
WHB	F	2	4
WHB	F	3	19
WHB	F	5	3
WHB	M	2	8
WHB	M	3	2
WHB	M	4	2

O resultado dos testes ANOVA para as várias análises indicam que:

(i) para o biqueirão ($F = 3,002$; $p = 0,088$) e para a pescada ($F = 2,656$; $p = 0,112$) não há diferenças significativas entre os dois sexos, considerando todos os indivíduos maduros e imaturos, podendo aplicar-se uma única equação para cada uma destas espécies (Tabela 4).

Tabela 4 - Relações entre o peso fixado e o peso fresco das gónadas de todos os indivíduos de cada espécie (sexos combinados)

Espécie	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R^2
ANE	63	$P_{fr} = 0,8303 * P_{fix} - 0,0034$	0,975
HKE	64	$P_{fr} = 1,0347 * P_{fix} + 0,0843$	0,999

P_{fr} = peso da gónada em fresco

P_{fix} = peso da gónada fixada

(ii) considerando todos os estados de maturação dos indivíduos maduros a mesma equação pode ser aplicada para sexos combinados de biqueirão ($F = 0,3764$; $p = 0,770$), cavala ($F = 1,1196$; $p = 0,391$) e sarda ($F = 1,9473$; $p = 0,163$), fêmeas de pescada ($F = 1,2571$; $p = 0,230$) e verdinho ($F = 2,5216$; $p = 0,073$) e machos de carapau negrão ($F = 0,9087$; $p = 0,454$) por não se terem encontrado diferenças significativas para as análises referidas (Tabela 5).

Tabela 5 - Relações entre o peso fixado e o peso fresco das gónadas de todos os indivíduos maduros de cada espécie

Espécie	Sexo	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R^2
ANE	SC	52	$P_{fr} = 0,8251 * P_{fix} + 0,0028$	0,970
MAC	SC	53	$P_{fr} = 0,9607 * P_{fix} - 1,0569$	0,995
MAS	SC	18	$P_{fr} = 0,8623 * P_{fix} + 0,0122$	0,996
HKE	F	34	$P_{fr} = 1,0351 * P_{fix} + 0,0152$	0,999
WHB	F	26	$P_{fr} = 0,8664 * P_{fix} - 0,0080$	0,994
JAA	M	25	$P_{fr} = 0,8606 * P_{fix} + 0,2267$	0,995

P_{fr} = peso da gónada em fresco

P_{fix} = peso da gónada fixada

(iii) comparando os estados de maturação comuns aos dois sexos verificou-se não existirem diferenças significativas nas equações obtidas para ambos os sexos de biqueirão nos estados de maturação 1 ($F = 1,1647$; $p = 0,309$) e 3 ($F = 2,7996$; $p = 0,108$), pescada nos estados de maturação 2 ($F = 0,7776$; $p = 0,389$), 3 ($F = 0,0457$; $p = 0,832$) e 4 ($F = 1,4001$; $p = 0,267$), carapau negrão para os estados 5 ($F = 0,0855$; $p = 0,773$) e 6 ($F = 4,3812$; $p = 0,070$), sarda no estado 5 ($F = 0,8655$; $p = 0,360$) e verdinho nos estados de maturação 2 ($F = 1,6552$; $p = 0,225$) e 3 ($F = 0,4218$; $p = 0,524$), podendo assim ser aplicada a mesma equação para os estados indicados (Tabela 6).

Para todos os indivíduos de cada espécie não referidos nas análises anteriores devem ser aplicadas equações específicas para cada sexo e estado de maturação (Tabela 7).

DISCUSSÃO

Como referido anteriormente, os pesos das gónadas são parâmetros essenciais para determinados estudos de reprodução, os quais, como foi igualmente referido, nem sempre se conseguem obter durante a amostragem biológica dos exemplares. Com base nesta realidade surgiu a necessidade de converter os pesos das gónadas fixadas nos correspondentes pesos frescos, sendo este o objectivo do presente trabalho.

O efeito do formol e do álcool como fixadores de gónadas e ovos de peixes têm sido objecto de diversos estudos, embora com conclusões diferentes de acordo com o estado de maturação e a espécie estudada. Nos primeiros dias de fixação em formol Mariduena (1984) em estudos com sarda (*Scomber scombrus*) e Costa (2003) com carapau branco (*Trachurus trachurus*) registaram um aumento do peso das gónadas, seguindo-se um decréscimo mais ou menos acentuado de acordo com o estado de maturação, no caso da sarda, e devido à passagem das

gónadas para álcool a 4% no caso do carapau. Pelo contrário, Klibansky e Juanes (2007) verificaram que as gónadas de bacalhau (*Gadus morhua*) e solha (*Hippoglossoides platessoides*) perderam peso com a fixação em formol. Este facto reflete-se na diminuição dos diâmetros dos oócitos, o que foi também observado por Rakka e Gantias (2015) em oócitos de anchova (*Engraulis encrasicolus*) e sardinha (*Sardina pilchardus*). No entanto, após as primeiras semanas de fixação o tamanho dos oócitos estabilizou, tal como referido por Lowerre-Barbieri e Barbieri (1993) em trabalhos com perca (*Cynoscion regalis*), Ramon e Bartoo (1997) nos oócitos de atum (*Thunnus alalunga*) e Klibansky e Juanes (2007) nas observações de bacalhau e solha. Durante a fixação, o formol reage com os componentes celulares para formar produtos variados (Jones, 1976; Fox e Rosa 1996; Fowler *et al.*, 2008), formando moléculas mais pesadas que levam ao aumento de peso das gónadas. Por outro lado, os alcoóis desnaturam as proteínas (Herskovits *et al.* 1970; Fox e Rosa 1996; Pace *et al.* 2004), originando a remoção dos lípidos dos tecidos e levando à diminuição do peso fresco das gónadas e oócitos, como referido anteriormente para o carapau e por Klibansky e Juanes (2007) para a solha. O efeito deste fixador no volume dos oócitos varia também com a espécie, como se verifica nos trabalhos de Klibansky e Juanes (2007), que indicam uma diminuição do diâmetro dos oócitos de bacalhau e solha, enquanto que, pelo contrário, Rakka e Gantias (2015) registaram um aumento dos oócitos de sardinha, enquanto que nos de anchova não houve alteração significativa. Observações semelhantes feitas com o peso seco dos ovos retirados das gónadas parecem indicar que ambos os fixadores podem provocar uma diminuição não significativa do peso e diâmetro dos ovos, como revelam os resultados obtidos por Fleming e Ng (1987), com amostras de salmão (*Oncorhynchus kisutch*), Ramon e Bartoo (1997), com ovos de atum (*Thunnus alalunga*) e Heins e Baker (1999) e Frimpong e Henebry (2012), ambos com perca (*Etheostoma* spp.).

Considerando os resultados apresentados pelos diversos autores citados, que referem o formol como sendo o fixador mais apropriado para estudos que envolvam a utilização de histologia, onde os folículos pós-ovulatórios e as finas estruturas celulares têm de ser bem fixadas (Klibansky e Juanes, 2007), nos estudos de reprodução realizados no IPMA é utilizado este reagente como fixador das gónadas recolhidas.

No entanto, um aspecto muito importante a ter em atenção é que as gónadas retiradas do peixe devem ser imediatamente fixadas, sem esperar pelo fim da amostragem biológica (Garabana *et al.*, 2011), embora não ocorra uma degradação significativa dos tecidos se os exemplares forem imediatamente guardados numa câmara fria, misturados com gelo, até ser feita a amostragem biológica, como observado para a sardinha por Nunes (2006 *in* NeoMav, 2008).

Duas das informações mais importantes para a gestão de uma pescaria são o comprimento da

primeira maturação, para o qual é necessário obter indivíduos maduros e imaturos, e a identificação do ciclo de maturação, que implica a obtenção de exemplares em todos os estados de desenvolvimento.

Tendo isto em consideração procurou-se para este trabalho obter indivíduos em todos os estados de maturação, das espécies a que por rotina se faz amostragem biológica completa. No entanto e devido à origem e objectivo dos dados recolhidos verificou-se que nem todas as espécies podiam fornecer as mesmas informações, nomeadamente em relação ao sexo e ao estado de maturação. Em particular no caso de sexo, as amostras de carapau branco e de sardinha eram constituídas apenas por fêmeas e em relação ao estado de maturação obtiveram-se poucos ou nenhuns exemplares imaturos em todas as espécies.

Os testes ANOVA aplicados aos resultados obtidos na conversão dos pesos fixados em pesos frescos das gónadas dos exemplares das várias espécies mostraram em alguns casos diferenças significativas, indicando um erro associado ao sexo e/ou estado de maturação. Assim, para cada espécie deverá ser aplicada uma relação específica para cada uma destas variáveis, com excepção dos casos em que aqueles resultados mostraram não serem estatisticamente diferentes, podendo ser aplicada uma única relação, independentemente do sexo ou do estado de maturação.

Como prolongamento deste trabalho propõe-se um novo estudo para verificar a variação dos pesos das gónadas ao longo do tempo bem como o efeito da utilização de diferentes fixadores na mesma espécie ou em espécies diferentes, como referido pela maioria dos trabalhos encontrados na literatura, e procurando cobrir melhor todos os estados de maturação de cada espécie, em particular os indivíduos imaturos.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece a Cristina Nunes pelos dados de sardinha, cavala e biqueirão com os quais foram obtidas as respectivas relações entre pesos das gónadas fixadas e frescas e aos colegas Adelaide Resende, Ana Carolina Porfírio, Andreia Silva, Carmo Silva, Delfina Morais, Diana Feijó, Filomena Pombal, Georgina Correia, Helder Antunes, Jorge Barra, José Luis Ova, Luisa Freitas, Maria João Ferreira, Mónica Inácio, Patrícia Gonçalves, Paula Abreu, Pedro da Conceição e Susana Mendes a colaboração na pesagem das gónadas utilizadas neste estudo.

Tabela 6 - Relações entre o peso fixado e o peso fresco por estado de maturação das gónadas das espécies estudadas (sexos combinados)

Espécie	Estado 1			Estado 2			Estado 3			Estado 4			Estado 5			Estado 6		
	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²
ANE	11	$P_{fr} = 0,6859 * P_{fix} + 0,0140$	0,863				24	$P_{fr} = 0,8800 * P_{fix} - 0,0091$	0,981									
HKE				21	$P_{fr} = 1,0447 * P_{fix} - 0,0550$	0,994	28	$P_{fr} = 1,0289 * P_{fix} + 0,4922$	0,999	11	$P_{fr} = 1,0962 * P_{fix} - 0,5115$	0,999						
JAA													25	$P_{fr} = 0,8743 * P_{fix} + 0,2583$	0,994	10	$P_{fr} = 0,8552 * P_{fix} + 0,1048$	0,997
MAC													30	$P_{fr} = 0,9625 * P_{fix} - 1,0067$	0,997			
WHB				12	$P_{fr} = 0,8452 * P_{fix} + 0,0328$	0,658	21	$P_{fr} = 0,8615 * P_{fix} + 0,0117$	0,993									

P_{fr} = peso da gónada em fresco

P_{fix} = peso da gónada fixada

Tabela 7 - Relações entre o peso fixado e o peso fresco por sexo e estado de maturação das gónadas das espécies estudadas

Espécie	F1			F2			F3			F4			F5			F6		
	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²
ANE										11	$P_{fr} = 0,7058 * P_{fix} + 0,0798$	0,953	3	$P_{fr} = 0,4698 * P_{fix} + 0,1087$	0,992			
HKE	3	$P_{fr} = 0,8926 * P_{fix} + 0,2524$	1,000															
HOM				10	$P_{fr} = 0,8397 * P_{fix} + 0,0220$	0,988							28	$P_{fr} = 0,9521 * P_{fix} - 0,6085$	0,993			
JAA				5	$P_{fr} = 0,8558 * P_{fix} + 0,1519$	0,973												
MAC																3	$P_{fr} = 0,8771 * P_{fix} - 0,1336$	0,996
MAS	14	$P_{fr} = 0,6294 * P_{fix} + 0,3534$	0,599															
PIL							95	$P_{fr} = 0,8518 * P_{fix} - 0,0860$	0,981	29	$P_{fr} = 0,9410 * P_{fix} - 0,0079$	0,986	19	$P_{fr} = 0,7924 * P_{fix} - 0,0146$	0,992			
WHB													3	$P_{fr} = 0,7932 * P_{fix} + 0,0182$	1,000			

Espécie	M1			M2			M3			M4			M5			M6		
	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²	Nº	Relação $P_{fr} - P_{fix}$	R ²
MAS										3	$P_{fr} = 0,8730 * P_{fix} - 0,0937$	0,100						

P_{fr} = peso da gónada em fresco

P_{fix} = peso da gónada fixada

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

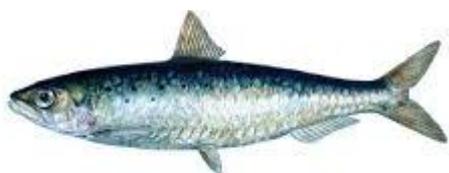
- COSTA, A.M., 2003. Efeito da conservação de gónadas em estudos de fecundidade e de maturação. *Relat. Cient. Téc. IPIMAR, Série digital* (<http://ipimar-iniap.ipimar.pt>) n° 4 , 8 pp.
- DEVLAMING, V.; GROSSMAN, G.; CHAPMAN, F., 1982. On the use of the gonosomatic index. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Physiology*, 73 (1): 31–39.
- FLEMING, I. A. e NG., S., 1987. Evaluation of techniques for fixing, preserving, and measuring salmon eggs. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44 (11): 1957–1962.
- FOWLER, C.B.; CUNNINGHAM, R.E.; WAYBRIGHT, T.J.; BLONDER, J.; VEENSTRA, T.D., O’LEARY, T.J. E MASON, J.T., 2008. Elevated hydrostatic pressure promotes protein recovery from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue surrogates. *Laboratory Investigation*, 88 (2): 185-195.
- FRIMPONG, E.A. e HENEGBRY, M.L., 2012. Short-term effects of formalin and ethanol fixation and preservation techniques on weight and size of fish eggs. *Transactions of the American Fisheries Society*, 141:1472–1479.
- GARABANA, D.; VILLAVERDE, A.; ROMÁN, E.; HERMIDA, M.; GONZÁLEZ, C.; FERNÁNDEZ, J.C. e ÁLVAREZ, S., 2011. Deterioration of Greenland halibut ovary samples in relation to time before fixation. Working Document to the Workshop on Sexual Maturity Staging of Redfish and Greenland halibut, (WKMSREGH) , 28 November–1 December 2011 Vigo, Spain. ICES CM 2011/ACOM:47.
- GODINHO, S.; SILVA, A.; RESENDE, A., 2001. Análise da amostragem biológica de verdinho (*Micromesistius poutassou*) proveniente dos desembarques comerciais entre 1997 e 1998. *Relat. Cient. Téc. Inst. Invest. Pescas Mar*, n° 66, 66p.
- HEINS, D.C. e BAKER, J.A., 1999. Evaluation of ovum storage techniques for reproductive studies of fishes. *Ecology of Freshwater Fish*, 8 (2): 65-69.
- HERSKOVITS, T.T.; GADEGBEKU, B. E JAILLET, H., 1970. On the structural stability and solvent denaturation of proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 245 (10): 2588-2598.
- ICES.2007. Report of the Workshop on Sexual Maturity Staging of Hake and Monk (WKMSHM), 21–24 November 2007, Lisbon, Portugal. ICES CM 2007/ACFM:34. 82 pp.
- JONES, C.M., 1976. Chemistry of fixation and preservation with aldehydes. Pages 155–171 In: H. F. Steedman, editor. Zooplankton fixation and preservation. UNESCO Press, Paris.
- KLIBANSKY, N. e JUANES, F., 2007. Species-specific effects of four preservative treatments on oocytes and ovarian material of Atlantic cod (*Gadus morhua*), haddock (*Melanogrammus aeglefinus*), and American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). *Fishery Bulletin*, 105 (4): 538-547.

- LOWERRE-BARBIERI, S. e BARBIERI, L. R., 1993. A new method of oocyte separation and Preservation for fish reproduction studies. *Virginia Institute of Marine Science Articles*, 602: 165-170.
- MARIDUENA, L.S., 1984. Observations in the maturity, effects of gonads preservation and daily spawning cycle of mackerel (*Scomber scombrus* L.). ICES CM 1984/H:21.
- NEOMAV, 2008. Workshop de Histologia. IPIMAR, Lisboa, 22-23 de Novembro de 2006 e 18-22 de Junho de 2007, 29 pág. + XXIII Apresentações (ed. Costa, A. M.).
- NIKOLSKY, G.V., 1963. The Ecology of Fishes. New York: Academic Press.
- PACE, C. N.; TREVINO, S.; PRABHAKARAN, E. e SCHOLTZ, J.M., 2004. Protein structure, stability and solubility in water and other solvents. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 359 (1448): 1225–1234.
- RAKKA, M. e GANIAS, K., 2015. Assessing species and stage-specific effects of preservation on fish oocytes over different temporal scales. *Mediterranean Marine Science*, 16 (3): 533-537.
- RAMON, D. e BARTOO, N., 1997. The effects of formalin and freezing on ovaries of albacore, *Thunnus alalunga*. *Fishery Bulletin*, 95: 869-872.
- SOARES, E.; SILVA, A.; NUNES, C., 2009. Manual de Amostragem Biológica de Sardinha. IPIMAR, Lisboa.
- WALSH, M.; HOPKINS, S. P.; WITTHAMES, P.; GREER-WALKER, P.; WATSON, J., 1990. Estimation of total potential fecundity and atresia in the western mackerel stock, 1989. ICES CM 1990/H:31.

ANEXO 1 - Escalas de maturação das espécies estudadas

Escala de maturação da sardinha e do biqueirão (Soares *et al.*, 2009)

Estado de maturação	Machos	Fêmeas
I Virgem/Em repouso	Testículos transparentes, em forma de duas lamelas de bordo inferior cortante, de dimensões variáveis e consistência firme.	Ovários de pequenas dimensões, translúcidos, com um sistema de vasos sanguíneos delicado mas bem definido.
II Em desenvolvimento	Testículos de consistência firme, coloração homogénea, branco-marfim, por vezes acinzentado. Por compressão liberta-se um líquido branco e espesso.	Ovários aumentam de tamanho; através da membrana ovárica é possível observar pequenos grânulos opacos.
III Pré-desova ou Pós-desova/Recuperação	Testículos túrgidos, coloração heterogénea, com numerosas figuras estreladas que correspondem a ramificações terminais de vascularização interna da gónada. Observa-se um mosaico irregular correspondente aos canais seminíferos cheios de esperma.	Ovários com oócitos completamente opacos, distribuídos em bandas paralelas, dando ao ovário a aparência granular.
IV Desova	Testículos intumescidos muito vascularizados, lisos e brilhantes, flácidos, coloração branco marmórea. Por compressão observa-se a formação de depressões à superfície e libertação de esperma.	Ovários com aspecto gelatinoso, devido às bandas oblíquas cheias de oócitos translúcidos firmemente acondicionados.
V Pós-desova	Testículos flácidos, ligeiramente enrugados e muito finos, transparentes com vascularização interna visível. Coloração branco róseo a cinzento róseo.	Ovários vazios e muito flácidos, com zonas hemorrágicas que dão ao ovário uma coloração sanguínea; presença de nódulos esbranquiçados.



Escala de maturação do carapau branco, carapau negrão, sarda e cavala

(Walsh *et al.*, 1990)

Estado de maturação	Machos	Fêmeas
I Imaturo	Testículos pequenos, cor pálida, achatados e transparentes.	Ovários pequenos, cor vermelho-vinho, claros, em forma de torpedos.
II Início do desenvolvimento	Testículos ocupando 1/4 a 3/4 da cavidade abdominal, coloração esbranquiçada, sem esperma.	Ovários ocupando 1/4 a 3/4 da cavidade abdominal, ovos opacos visíveis, os maiores ainda sem gota de óleo, coloração rosa pálido ou amarelada.
III Final do desenvolvimento	Testículos ocupando 3/4 à totalidade da cavidade abdominal, coloração branco leitoso.	Ovários ocupando 3/4 à totalidade da cavidade abdominal, coloração amarela a alaranjada, ovos maiores podendo conter gota de óleo.
IV Maduro / em desova	Testículos preenchendo a cavidade abdominal, deixando sair facilmente o esperma.	Ovários de dimensão variável (1/4 a 1), caracterizados pela presença de ovos hialinos, independentemente da sua abundância ou grau de hidratação.
V Desova parcial	Testículos ocupando 3/4 a menos de 1/4 da cavidade abdominal, flácidos na extremidade anal e ainda com esperma.	Ovários ocupando 3/4 a menos de 1/4 da cavidade abdominal, mais flácidos do que no estado 3 e frequentemente sanguíneos.
VI Pós-desova / recuperação	Testículos ocupando 1/4 ou menos da cavidade abdominal, opacos, de cor acastanhada e sem vestígios de esperma.	Ovários ocupando 1/4 ou menos da cavidade abdominal, avermelhados, por vezes com ovos opacos dispersos ou formando manchas.



Escala de maturação da pescada (ICES, 2007)

Estado de maturação	Machos	Fêmeas
I Repouso sexual / imaturo	Testículos pequenos, em forma de fita ou folho pequeno, brancos ou transparentes. Sem esperma.	Ovários transparentes ou rosados, pequenos, cilíndricos e alongados, de consistência firme e sem vascularização. Sem oócitos presentes. Inclui dois estados não distinguíveis macroscopicamente - imaturo e em repouso.
II Desenvolvimento/ maturação	Testículos médios, brancos e em forma de folho largo. Libertam esperma quando cortados.	Ovários de tamanho médio ou grandes, rosados ou amarelo-alaranjados, vascularizados. Com oócitos opacos presentes mas sem oócitos hialinos.
III Desova	Testículos grandes e brancos, em forma de folho com lobos desenvolvidos. Libertam esperma quando se pressiona o abdomen.	A - Hidratação - Ovários grandes e firmes, rosados ou laranja-avermelhados e vascularizados. Com oócitos opacos e hialinos presentes. B - Desova parcial - Ovários grandes e flácidos, rosados ou laranja-avermelhados e vascularizados. Com oócitos opacos presentes mas sem oócitos hialinos
IV Pós-desova	Testículos grandes, brancos ou ligeiramente rosados, vazios e deformados. Sem esperma ou só com vestígios	Ovários pequenos ou médios, flácidos, cor de rosa escuro ou arroxeados. Oócitos opacos e hialinos ausentes ou residuais.



Escala de maturação do verdinho (Godinho *et al.*, 2001)

Estado de maturação	Machos	Fêmeas
I Repouso sexual / juvenil	Testículos em fitas translúcidas, quase indistintos, ocupando 1/4 da cavidade abdominal.	Ovários branco translúcido, sem ovos visíveis, ocupando 1/4 da cavidade abdominal.
II Recuperação / 1ª maturação sexual	Testículos translúcidos, branco/rosados, ocupando 1/2 da cavidade abdominal.	Ovários translúcidos, laranja/avermelhados, bastante flácidos, ocupando 1/3 da cavidade abdominal.
III Em maturação	Testículos opacos, branco/rosados, lobados em espiral, com alguns vasos sanguíneos, ocupando 3/4 da cavidade abdominal.	Ovários opacos, laranja/rosados, com ovos visíveis, ocupando 1/2 a 2/3 da cavidade abdominal.
IV Desova	Testículos branco cremoso, opacos, túrgidos com dobras apertadas, ocupando toda a cavidade abdominal.	Ovários laranja/rosados, túrgidos, com ovos hialinos, ocupando 3/4 a toda a cavidade abdominal.
V Pós-desova	Testículos amarelo/esbranquiçado, avermelhados, numa estreita banda rugosa, ocupando 1/2 da cavidade abdominal.	Ovários flácidos, rosa/avermelhados, com restos de ovos, ocupando 1/2 da cavidade abdominal.



