



RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

**MATURAÇÃO DE PESCADA
(*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758):
EXERCÍCIO DE CALIBRAÇÃO E PROPOSTA
DE UMA NOVA ESCALA DE MATURAÇÃO**

Cristina Morgado e Patrícia Gonçalves



2007

39



Os **RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS DO IPIMAR** destinam-se a uma divulgação rápida de resultados preliminares de carácter científico e técnico, resultantes de actividades de investigação e de desenvolvimento e inovação tecnológica. Esta publicação é aberta à comunidade científica e aos utentes do sector, podendo os trabalhos serem escritos em português, em francês ou em inglês.

A **SÉRIE COOPERAÇÃO** destina-se, primordialmente, à divulgação de trabalhos realizados com países terceiros no âmbito de programas de cooperação.

A **SÉRIE DIGITAL** destina-se a promover uma consulta mais diversificada e expedita dos trabalhos na área da investigação das pescas e do mar.

Edição

IPIMAR
Avenida de Brasília
1449-006 LISBOA
Portugal

Corpo Editorial

Francisco Ruano - Coordenador
Aida Campos
Fátima Cardador
Irineu Batista
Manuela Falcão
Maria José Brogueira
Maria Manuel Martins
Rogélia Martins

Edição Digital

Anabela Farinha/Irineu Batista/Luís Catalan

As instruções para os autores estão disponíveis no “site” do IPIMAR w.w.w.ipimar.pt ou podem ser solicitadas aos membros do Corpo Editorial desta publicação.

Capa

Luís Catalan

ISSN

1645-863X

Todos os direitos reservados.

MATURAÇÃO DE PESCADA (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758): EXERCÍCIO DE CALIBRAÇÃO E PROPOSTA DE UMA NOVA ESCALA DE MATURAÇÃO

Cristina Morgado e Patrícia Gonçalves

Departamento de Recursos Marinhos – IPIMAR

Recebido em 02.04.2007 Aceite em 25.07.2007

RESUMO

A realização de um exercício de calibração surgiu da necessidade de aferir a qualidade dos dados de maturação de pescada (*Merluccius merluccius*) no IPIMAR. O objectivo deste trabalho foi o de calibrar os estados de maturação atribuídos por diferentes amostradores e validar esses estados histologicamente. Dois factores justificaram a sua realização: (i) a utilização de uma escala de maturação com cinco estados a partir de 2003, *versus* a anterior escala de dez estados (Gonçalves *et al.*, 2004) e (ii) a existência de uma escala microscópica que permite a validação das atribuições macroscópicas. Neste exercício de calibração foram utilizadas outras escalas, em uso noutros laboratórios, de modo a averiguar qual a mais fácil de utilizar e a que pode levar a menos erros na atribuição macroscópica dos estados de maturação. Verificou-se uma discrepância entre a identificação do desenvolvimento e da pós-postura, quer entre amostradores, quer após validação microscópica. A distinção entre imaturo e repouso apenas foi possível com base em características histológicas. Propõe-se uma nova escala com base nos resultados do exercício de observação efectuado de modo a permitir maior precisão na atribuição dos estados de maturação macroscópicos no futuro. A escala proposta consiste em quatro estados de maturação: imaturo; desenvolvimento; desova; pós-desova.

Palavras chave: Pescada, maturação, fêmeas, calibração.

ABSTRACT

Title: Hake (*Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758) maturity: an calibration exercise and the propose of a new maturity stage key

A calibration exercise was carried out to achieve hake (*Merluccius merluccius*) quality maturity data on IPIMAR. Its aims were to calibrate the maturity stages classification by each sampler and to validate those stages with histology. Two factors had justified its accomplishment: (i) a five stages maturity key has been used since 2003, *versus*, the previous one with 10 stages (Gonçalves *et al.*, 2004) and (ii) a microscopic maturity stage key that allows to validate the macroscopic classifications. Other scales used in other laboratories have been applied, in order to inquire which is the most easy scale to use and the one that can lead to less error in macroscopic attribution of the maturity stages. The results have been validated with the histological analysis of the ovaries. A discrepancy was verified between development and post-spawning stages classified by different samplers. This discrepancy remained when the results of histology classification were compared with the ones of macroscopic attributions. The distinction between immature and resting was only possible on the basis of microscopic characteristics. As a result of this exercise a new macroscopic maturity stage key is proposed, in order to increase the precision in macroscopic maturity stages attribution. This maturity stage key has four stages: immature; development; spent; post-spawning.

Key-words: Hake, maturity, females, calibration

INTRODUÇÃO

Um dos principais critérios de avaliação do estado de exploração dos recursos pesqueiros baseia-se na dimensão do *stock* reprodutor (Bromley, 2003). A biomassa do *stock* reprodutor (SSB) do *stock* Sul de pescada (*Merluccius merluccius*) (Divisão VIIIc e IXa do ICES¹) é estimada com base em ogivas de maturação anuais resultantes da identificação macroscópica dos estados de desenvolvimento das gónadas (ICES, 2006). A correcta atribuição do estado de maturação é de extrema importância, dado que erros na sua determinação podem conduzir à incorrecta estimação da biomassa desovante e consequentemente do estado de exploração do *stock*.

Nos últimos cinco anos, no IPIMAR, duas importantes alterações relativamente à identificação macroscópica do estado de maturação das gónadas de pescada ocorreram: (i) alteração de uma escala de maturação de dez estados para uma de cinco estados (Gonçalves *et al.*, 2004); (ii) a existência de uma escala microscópica que permite a validação das atribuições macroscópicas. Estas alterações justificaram a realização de uma acção concertada de modo a validar e padronizar uma escala de maturação macroscópica. As dúvidas expressas por vários amostradores experientes, reforçaram a necessidade da realização deste exercício de calibração. Nomeadamente, suspeitas que o estado que corresponde aos indivíduos imaturos também representa os em repouso, uma vez que o comprimento que alguns apresentavam era muito superior ao tamanho de primeira maturação referenciado para esta espécie.

Os objectivos do exercício de calibração, que decorreu no IPIMAR a 15 de Abril de 2005, foram os seguintes:

- (i) Estimar a precisão da atribuição macroscópica dos estados de maturação de fêmeas de pescada, efectuada pelos amostradores que por rotina realizam as amostragens biológicas desta espécie.
- (ii) Detectar inconsistências e deficiências na actual escala de maturação macroscópica.
- (iii) Obter uma escala de maturação com um número de estados de fácil interpretação de acordo com o desenvolvimento das gónadas.
- (iv) Validar a escala acordada com base na identificação histológica.

¹ ICES- Conselho Internacional de Exploração do Mar

MATERIAL E MÉTODOS

Analísaram-se 20 gónadas femininas de pescada capturadas na época de reprodução (mês de Abril) (BIOSDEF, 1998; Piñeiro e Saínza, 2003), numa tentativa de cobrir todo o tipo de desenvolvimento das gónadas. Os exemplares foram capturados na véspera da realização do *workshop*, por um arrastão comercial. Participaram no exercício de calibração cinco amostradores (A, B, C, D e E) que realizam regularmente amostragens de pescadas. Os exemplares estavam com a cavidade abdominal aberta de modo a facilitar a visualização da gónada e cada amostrador atribuiu o estado de maturação usando três escalas de maturação macroscópicas distintas. As escalas de maturação consideradas foram as seguintes: (i) escala utilizada à data pelo IPIMAR (Gonçalves *et al.*, 2004); (ii) escala utilizada pelo Instituto Espanhol de Oceanografia (IEO) que também está envolvido na avaliação do stock Sul de pescada (Lúcio *et al.*, 2000); (iii) escala proposta por Pájaro *et al.* (2005) para a pescada argentina (*Merluccius hubbsi*) (Tabela 1).

Tabela 1 – Escalas de maturação macroscópica utilizadas do *workshop*.

Lúcio <i>et al.</i> (2000)	Gonçalves <i>et al.</i> (2004)	Pájaro <i>et al.</i> (2005)
I – Inactivo Gónadas pequenas Ovários cilíndricos e transparentes. Sem oócitos.	I – Imaturo Gónadas pequenas, triangulares ou ovoídes, rosadas, sem oócitos visíveis.	I – Imaturo (juvenil) Ovários pequenos e translúcidos. Oócitos não são visíveis a olho nu.
II – Em maturação Ovários grandes com capilares. Cor amarela/laranja. Oócitos opacos visíveis sem áreas machucadas.	II – Desenvolvimento Gónadas ovoídes, translúcidas, rosadas, com pequenos oócitos visíveis.	II – Desenvolvimento Ovários opacos e amarelados. Oócitos visíveis.
III – Desova Oócitos transparentes que podem sair ou não após pressão do abdómen.	III – Pré-desova Gónadas volumosas, com oócitos opacos (brancos) e transparentes (hialinos).	III – Desova Ovários que ocupam a maior parte da cavidade abdominal. Presença de oócitos translúcidos (hidratados) e opacos (vitelados).
	IV – Desova Gónadas volumosas com a membrana envolvente fina, ovos quase todos transparentes, observando-se a sua saída (“running”).	
IV – Pós-Desova Ovário machucado. Cor púrpura. Flácido. Ocasionalmente com oócitos residuais.	V – Pós –desova Gónada mais flácida, rosada escura	IV – Pós –desova Ovários túrgidos e flácidos com poucos oócitos vitelados
		V – Imaturo (adulto) Ovários opacos sem oócitos vitelados

Cada amostrador identificou individualmente 20 pescadas utilizando uma escala de cada vez. À exceção do efeito memória do observador, ao identificar-se a amostra com uma dada escala não se conheciam as identificações do mesmo exemplar efectuadas anteriormente, com outras escalas. Foram realizadas observações individuais por quatro dos participantes. Foi igualmente pedido aos amostradores para realizarem uma apreciação crítica global de cada escala, focando o número de estados de maturação, a descrição de cada um e a aplicabilidade de cada escala.

Após todas as observações obteve-se o registo fotográfico de cada gónada que, seguidamente, foram guardadas em formol salino a 10%, para posterior análise histológica. As gónadas conservadas foram transferidas para álcool a 70% antes do início do processamento histológico. De cada gónada cortaram-se duas secções transversais, que foram colocadas em cassetes histológicas devidamente identificadas. Em seguida procedeu-se à desidratação e consequente impregnação dos tecidos com parafina, de acordo com o protocolo descrito na Tabela 1 do Anexo I. Posteriormente, montaram-se os blocos com parafina a 56°C. Estes foram colocados numa placa refrigeradora (-5°C) permitindo uma rápida solidificação da parafina. Nos blocos de parafina foram realizados cortes definitivos com uma espessura de 5µm. Os cortes histológicos foram corados com Hematoxilina-Eosina de Harris (Tabela 2 do Anexo I) e as lâminas montadas em preparações definitivas com Entellan[®]. Estas foram observadas ao microscópio óptico para identificação do estado de desenvolvimento da gónada. A descrição dos estados de maturação microscópicos encontra-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Descrição dos estados de maturação microscópicos.

Estado	Descrição
Imaturo	Presença de oócitos primários – oogónias.
Desenvolvimento	Presença de oócitos vitelados
Pré-postura	Presença de oócitos com núcleos migrados
Postura	Presença de oócitos hidratados
Pós-postura	Existência de espaço entre os oócitos.
Recuperação	Presença de oócitos primários com uma heterogeneidade de diâmetros e septos ovários desorganizados.

Participantes

Sandra Dores – Amostrador A

Patrícia Gonçalves – Amostrador B

Cristina Morgado – Amostrador C

Rui do Lago – Amostrador D

Corina Chaves – Amostrador E

RESULTADOS

O estado de maturação, para cada escala, atribuído pelos quatro amostradores encontra-se na Tabela 3. Verificaram-se algumas discrepâncias nas identificações entre os amostradores. Na maioria desses casos, os amostradores criticaram o texto descritivo de um dado estado/escala e, referiram que, com base no conhecimento do desenvolvimento do ciclo reprodutivo, o estado de maturação atribuído seria diferente daquele que foi apontado. Um exemplo deste facto, foram os estados atribuídos pelos amostradores B e C aos exemplares 1, 7, 9, 11, 14 e 15 através do uso da escala de Pájaro *et al.* (2005). Assim, de acordo com o texto descritivo desta escala atribuíram o estado “desenvolvimento”, apesar de considerarem que a gónada tem um aspecto de “pós-desova”.

Os exemplares 4, 8, 10 e 15 foram os que apresentaram maior desacordo entre os amostradores, ocorrendo essa discordância entre os estados que representam o “desenvolvimento” da gónada e a “pós-desova”. Nas gónadas que macroscopicamente suscitaram dúvidas entre estes dois estados, foi cortada a sua membrana, como forma de avaliar a existência de espaços no seu interior, característica associada à “pós-desova”. No entanto, a observação microscópica não veio confirmar esta característica como conclusiva na distinção destes dois estados (Tabela 3). Na Tabela 1 (em Anexo) é apresentada a descrição de cada observação, o registo fotográfico da gónada inteira e da gónada processada para histologia, assim como o estado de maturação atribuído de acordo com uma escala proposta.

Na Tabela 3 estão, igualmente, apresentados os estados de maturação macroscópico acordado por todos os observadores com base no conhecimento do ciclo reprodutivo da espécie (sem seguir nenhuma escala) e o estado resultante da análise histológica. A análise macroscópica da gónada não permite a diferenciação entre indivíduos imaturos e adultos inactivos. A percentagem de discordância entre a análise macroscópica e microscópica é de 25%, sendo

todos os casos diferenças entre o “desenvolvimento” da gónada e a “pós-desova”, facto que coincide com a disparidade verificada entre leitores (ver Tabela 3).

A apreciação global dos participantes é favorável à escala de maturação Lúcio *et al.* (2000). A escala Gonçalves *et al.* (2004), actualmente usada no IPIMAR, apresenta uma fraca descrição do estado de “pós-desova”, e o estado de “desova” é muito específico, dizendo respeito unicamente à ocorrência de saída de oócitos hialinos, fenómeno que ocorre em poucas horas, não justificando a sua existência como um estado individualizado. Um exemplo deste último caso são os resultados obtidos para o exemplar 19, em que as outras escalas indicam “desova” e a escala Gonçalves *et al.* (2004) indica “pré-desova” (Tabela 3). À semelhança da escala proposta por Lúcio *et al.* (2000) na escala proposta por Gonçalves *et al.* (2004) o estado “imaturo” pode contemplar adultos em repouso. A escala de maturação de mais fácil interpretação, relativamente à nomenclatura dos estados, foi a escala proposta por Pájaro *et al.* (2005). No entanto, todos os participantes referem que usando esta escala o estado que se obtém, tendo em conta o respectivo texto descritivo, não está de acordo com o conhecimento do desenvolvimento do ciclo reprodutivo.

Tabela 3 – Estado de maturação atribuído por cada amostrador para as diferentes escalas utilizadas. Estado de maturação macroscópico acordado por todos os participantes e estado de maturação obtido com análise histológica das gónadas.

Obs.	Observador A			Observador B			Observador C			Observador D			Estado Macros. acordado	Histologia
	Lúcio <i>et al.</i> (2000)	Gonçalves <i>et al.</i> (2004)	Pájaro <i>et al.</i> (2005)	Lúcio <i>et al.</i> (2000)	Gonçalves <i>et al.</i> (2004)	Pájaro <i>et al.</i> (2005)	Lúcio <i>et al.</i> (2000)	Gonçalves <i>et al.</i> (2004)	Pájaro <i>et al.</i> (2005)	Lúcio <i>et al.</i> (2000)	Gonçalves <i>et al.</i> (2004)	Pájaro <i>et al.</i> (2005)		
1	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.
2	inactivo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	imaturo	inactivo	imaturo	imaturo	inativo	imaturo	inactivo	inactivo	inactivo (i)
3	inactivo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	inactivo	inactivo	imaturo	desenv.	inativo	imaturo	inactivo	inactivo	inactivo (r)
4	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	desenv.	desenv.	pós-desova	pós-desova	imaturo	desen.	desen.	desen.	pós-desova	desenv.
5	inactivo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	imaturo	inactivo	imaturo	desenv.	inativo	imaturo	inactivo	inactivo	inactivo (r)
6	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desen.	desenv.	desenv.	desen.	desen.	desen.	desenv.	desenv.
7	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.
8	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	desenv.	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova
9	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.
10	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	pós-desova	desenv.	desen.	desenv.	desenv.	pós-desova	pós-desova
11	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova
12	inactivo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	imaturo	inactivo	imaturo	imaturo	inativo	imaturo	inactivo	inactivo	inactivo (r)
13	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.									
14	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova	pós-desova
15	desenv.	desenv.	desenv.	pós-desova	pós-desova	desenv.	desenv.	pós-desova	desenv.	desen.	desenv.	desenv.	desenv.	pós-desova
16	inactivo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	imaturo	inactivo	imaturo	imaturo	inativo	imaturo	inactivo	pós-desova	inactivo (i)
17	inactivo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	inactivo	inactivo	imaturo	imaturo	inativo	imaturo	inactivo	inactivo	inactivo (i)
18	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desen.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.
19	pós-desova	pós-desova	pós-desova	desova	pré-desova	desova	desova	pré-desova	desova	desova	pré-desova	desova	desova	desova
20	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desenv.	desen.	desenv.	desenv.	desenv.	pós-desova

desenv.- desenvolvimento da gónada; inactivo (i) – inactivo (imaturo); inactivo (r) – inactivo (repouso)

DISCUSSÃO

As discrepâncias entre e intra amostradores reflectem principalmente uma fraca descrição do estado de maturação da escala considerada, do que o desconhecimento do ciclo reprodutivo da espécie. Os erros detectados na validação ocorreram na distinção entre o “desenvolvimento” e a “pós-desova” devido ao aspecto macroscópico semelhante que as gónadas apresentam nestes dois estados. Sendo a pescada uma espécie que apresenta desovas contínuas ao longo do tempo (BIOSDEF, 1998), a flacidez das gónadas, que nas escalas aparece como característica determinante, não é fundamental para a atribuição macroscópica de “pós-desova”, principalmente no final da época de postura. A presença de folículos pós-ovulatórios, factor indicador da ocorrência de postura, apenas é observada microscopicamente.

A existência de espaços no interior da gónada observada com o corte da membrana não é diagnosticante de pós-desova, porque de acordo com a validação histológica algumas gónadas em desenvolvimento também apresentavam espaços. Estas situações devem corresponder a gónadas em desenvolvimento que recentemente se encontravam em pós-desova, já que uma gónada após a desova recupera para o desenvolvimento iniciando, um novo ciclo. É importante salientar que o processo de maturação é um processo contínuo e a aplicação de uma escala de maturação discretiza este processo. Este erro (entre a atribuição do “desenvolvimento” e da “pós-desova”) não provoca efeitos na estimação da biomassa desovante dado que para o cálculo da ogiva de maturação ambos os estados são considerados como maduros.

As escalas de maturação da pescada propostas por Lúcio *et al.* (2000) e Gonçalves *et al.* (2004) não separam os imaturos dos adultos em repouso (inactivos), pelo facto de não se conseguir distingui-los macroscopicamente, o que pode provocar uma subestimação da biomassa desovante. Uma pescada adulta que participou no início da época de reprodução, e que, no final desta se encontra em repouso (estado que macroscopicamente é semelhante aos imaturos), não é considerada na biomassa desovante, quando efectivamente contribuiu para o potencial reprodutivo desse ano. Se durante o pico da época de reprodução não se verificar a presença de indivíduos em repouso este facto deixa de constituir um problema para a estimação da ogiva de maturação. Num trabalho desenvolvido posteriormente, em Fevereiro (pico da época de reprodução de pescada) de 2006, foram validados histologicamente 30

exemplares identificados macroscopicamente como imaturos e nenhum destes se encontrava em repouso (Gonçalves *com. pess.*). No entanto, na amostra deste *workshop*, recolhida em Abril, observaram-se indivíduos em repouso que macroscopicamente foram classificados como imaturos, e que se encontravam no período de reprodução considerado para estimar as ogivas de maturação. O facto de não se ter conseguido separar macroscopicamente os indivíduos imaturos dos que estavam em repouso, aponta para que a época considerada para a estimação da ogiva de maturação deverá cingir-se ao pico de postura. De futuro deverão ser recolhidas mais amostras ao longo de toda a época de postura para se avaliar o início da ocorrência de repouso e para quantificar os erros na atribuição destes dois estados.

Uma vez que se propõe uma redução do número de estados relativamente à actual escala é importante adaptar de igual modo a escala de machos para facilitar a interpretação dos amostradores, permitindo uma equivalência entre a escala de machos e a de fêmeas.

Com base nos problemas detectados elaborou-se uma nova escala de maturação (Tabela 4), que compreende quatro estados: imaturo, desenvolvimento, desova e pós desova. A estrutura desta escala é semelhante à usada pelo IEO que também estuda o mesmo stock de Pescada. A escala proposta compreende no estado de “desova” os estados de “pré-desova” e “desova” da escala Gonçalves *et al.* (2004) (actual escala usada no IPIMAR), considerando que a presença de oócitos hidratados (transparentes) é indicativa da desova.

Para facilitar a amostragem é conveniente que as escalas de ambos os sexos apresentem o mesmo número de estados, e que cada um destes seja equivalente. Na Tabela 5 está descrita uma escala de maturação macroscópica de machos com o mesmo número de estados, da proposta para as fêmeas. À semelhança do que foi considerado na escala das fêmeas, os estados de “pré-desova” e “desova” da escala Gonçalves *et al.* (2004) foram convertidos num único estado de “desova”.

Tabela 4 – Escala de maturação proposta para gónadas femininas de pescada.

I - IMATURO

Tamanho: pequena;
 Forma: cilíndrica;
 Cor: transparente ou rosada;
 Oócitos opacos: ausentes;
 Oócitos transparentes: ausentes.

**II - DESENVOLVIMENTO**

Tamanho: média ou grande;
 Forma: ovóide;
 Cor: rosada ou amarelada;
 Oócitos opacos: presentes;
 Oócitos transparentes: ausentes;
 Aspecto: sem áreas pisadas ou machucadas.

**III - DESOVA**

Tamanho: grande;
 Forma: ovóide;
 Cor: rosada;
 Oócitos opacos: presentes;
 Oócitos transparentes: presentes;
 Aspecto: volumosas; membrana envolvente fina; pressão do abdómen pode provocar saída de oócitos transparentes.

**IV - PÓS-DESOVA**

Tamanho: grande;
 Forma: ovóide deformada;
 Cor: rosada escura;
 Oócitos opacos: presentes;
 Oócitos transparentes: ausentes;
 Aspecto: flácida, com espaço junto ao hilo.



Tabela 5 – Escala de maturação proposta para gónadas masculinas de pescada.

I - IMATURO

Tamanho: pequena;

Forma: fita ou folho pequeno;

Cor: transparente ou esbranquiçada;

Folho: ausente;

Esperma: ausente.

**II - DESENVOLVIMENTO**

Tamanho: média;

Forma: com folho largo;

Cor: esbranquiçada;

Esperma: observa-se quando se corta.

**III - DESOVA**

Tamanho: grande;

Forma: lobos desenvolvidos;

Cor: branca;

Esperma: saída com pequena pressão.

**IV - PÓS-DESOVA**

Tamanho: grande;

Forma: lobos vazios e deformados, folhos com espaço anterior largo;

Cor: branca ou ensanguentados;

Esperma: ausente ou restos.



AGRADECIMENTOS

Este *workshop* foi financiado pelo projecto PNAB - Recolha de Dados. Os autores agradecem aos participantes do *workshop* e ao Projecto NeoMav – Novas Metodologias para a Avaliação (QCA-3/MARE FEDER) pela amostra de Fevereiro referida neste trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIOSDEF, 1998. Biological studies of demersal fish to European commission (BIOSDEF) - Final Report to the Commission of European Communities, EU DG FISH (Project no. 95/038), 522pp.
- BROMLEY, P.J., 2003. The used of market sampling to generate maturity ogives and to investigate growth, sexual dimorphism and reproductive strategy in central and south-western North Sea sole (*Solea solea* L.), *ICES J. Marine Science*, 60: 52-65.
- GONÇALVES, P., CUNHA, E., COSTA, A. 2004. Escala de maturação microscópica e macroscópica das gónadas femininas de pescada (*Merluccius merluccius*). *Relat. Cient. Téc. IPIMAR, Série digital* (<http://ipimar-iniap.ipimar.pt>) nº 21, 27 p. + anexos.
- ICES, 2006. Report of the Working Group on the Assessment of Southern Shelf Stocks of Hake, Monk and Megrim (WGHMM), *ICES CM 2006/ACFM:29*.
- LUCIO, P.; SANTURTÚN, M; MURUA, H. 1998. Growth and reproduction of Hake (*Merluccius merluccius*) in the Bay of Biscay during 1996-1997. *ICES C.M.1998/CC:20*
- PÁJARO, M., MACCHI; G.J., MARTOS, P. 2005. Reproductive pattern of the Patagonian stock of Argentine hake (*Merluccius hubbsi*), *Fisheries Research*, 72: 97-108.
- PIÑEIRO, C. and SAÍNZA, M. 2003. Age estimation, growth and maturity of the European hake (*Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758)) from the Iberian Atlantic waters, *ICES Journal of Marine Science*, 60: 1086-1102.

ANEXO

Tabela 1 - Reagentes e os tempos de reacção dos mesmos nas respectivas fases do processamento dos tecidos para preparação histológica – impregnação de parafina.

Reagente	Duração	Fase do processamento
Álcool a 90%	15 min	Desidratação
Álcool a 96%	15 min	Desidratação
Álcool Absoluto	15 min	Desidratação
Butanol	30 min	Desidratação
Butanol	3 horas	Desidratação
Parafina (comp.f.*42-44°C) + butanol	6 horas na estufa a 50°C	Inclusão dos tecidos
Parafina (comp.f.*42-44°C)	1 hora na estufa a 50°C	Inclusão dos tecidos
Parafina (comp.f.*56°C)	1 hora e 30 min na estufa a 50°C	Inclusão dos tecidos

* ponto de fusão

Tabela 2 - Reagentes e os seus tempos de reacção durante a fase de coloração (método Hematoxilina-Eosina) dos tecidos.

Reagente	Duração	Observações
Xilol	15 min	
Xilol	15 min	
Álcool a 90°	Passagem rápida	
Álcool a 70°	Passagem rápida	
Água destilada	Passagem rápida	
Hematoxilina	4 a 6 min	Este tempo depende da intensidade do corante e do estado de desenvolvimento (maturação) a que se referem os cortes.
Água da torneira	Passagem rápida	
Água destilada	Passagem rápida	
Álcool clorídrico*	Passagem rápida	
Água destilada	Passagem rápida	
Água da torneira	1 min	Colocar os cestos junto à torneira com um fio de água corrente; tendo o cuidado deste não cair directamente sobre eles – pois poderá soltá-los.
Água destilada	Passagem rápida	
Eosina	+ ou – 30 segundos	Este tempo depende da intensidade do corante e do estado de desenvolvimento (maturação) a que se referem os cortes. Exemplo: cortes referentes a fêmeas em estado de postura ou pré-postura, absorvem mais rapidamente o corante.
Água da torneira	Passagem rápida	
Água destilada	Passagem rápida	
Água destilada	Passagem rápida	
Álcool a 95°	Passagem rápida	
Álcool a 95°	Passagem rápida	
Álcool absoluto	Passagem rápida	Nesta fase ter o especial cuidado de escorrer muito bem o cesto, para evitar que quando mergulhado em xilol este fique saturado.
Xilol	10 min	
Xilol	10 min	

* - 0,3 ml de HCl (ácido clorídrico) + 250 ml de álcool a 70°

Tabela 3 – Descrição da gónada, aspecto macroscópico e microscópico da gónada e respectivo estado de maturação com base na escala proposta.

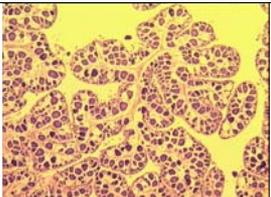
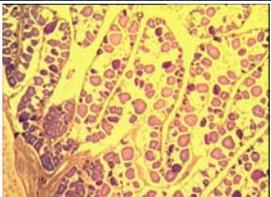
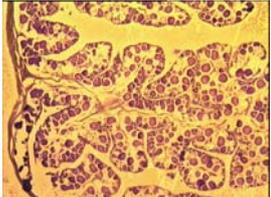
OBS.	COMP (cm)	DESCRIÇÃO DA GÓNADA			EST. MAT.
1	44,1	<p>Macroscópica: Flácida, com espaços e muitas depressões</p> <p>Microscópica: Oócitos vitelados com a presença de gotas lípidicas</p> <p>Desenvolvimento</p>			II
2	30,5	<p>Microscópica: Oócitos não-vitelados</p> <p>Inativo (imaturo)</p>			I
3	46,2	<p>Microscópica: Oócitos em início de vitelogénese e espaços entre os oócitos</p> <p>Inativo (repouso)</p>			I
4	41,5	<p>Macroscópica: Flácida, com espaços e muitas depressões</p> <p>Microscópica: Oócitos com núcleos migrados</p> <p>Desenvolvimento</p>			II
5	32,1	<p>Microscópica: Oócitos em início de vitelogénese e espaços entre os oócitos</p> <p>Inativo (repouso)</p>			I
6	44,1	<p>Macroscópica: Não tem espaços; tonalidade mais clara</p> <p>Microscópica: Oócitos com núcleos migrados</p> <p>Desenvolvimento</p>			II

Tabela 3 (continuação).

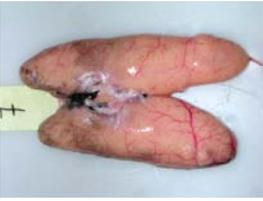
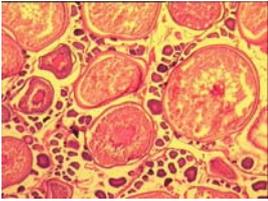
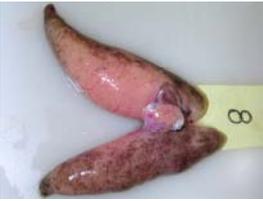
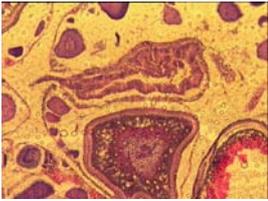
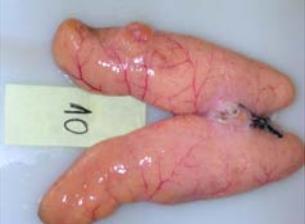
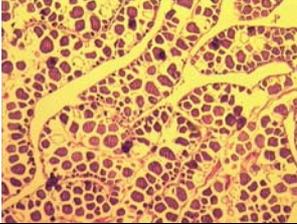
OBS.	COMP (cm)	DESCRIÇÃO DA GÓNADA			EST. MAT.
7	48,6	Macroscópica: Flácida, com espaços Microscópica: Oócitos vitelados Desenvolvimento			IV
8	45,6	Macroscópica: Flácida, com espaços Microscópica: Folículos pós-ovulatórios Pós-desova			IV
9	52,4	Microscópica: Oócitos vitelados Desenvolvimento			IV
10	49,9	Macroscópica: Esta gónada foi aberta de modo a visualizar os espaços no seu interior Microscópica: Folículos pós-ovulatórios Pós-desova			IV
11	51,6	Macroscópica: Flácida, com espaços Microscópica: Folículos pós-ovulatórios e atresia Pós-desova			IV
12	36,3	Microscópica: Oócitos perinucleares e espaços entre oócitos Inactivo (repouso)			I

Tabela 3 (continuação).

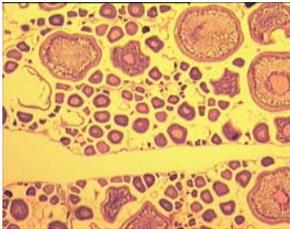
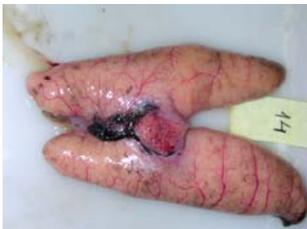
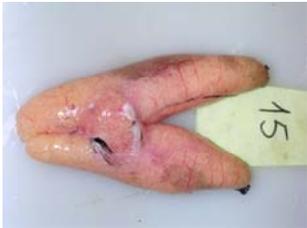
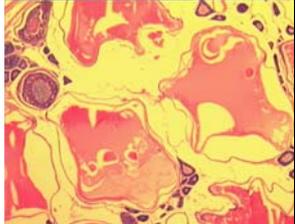
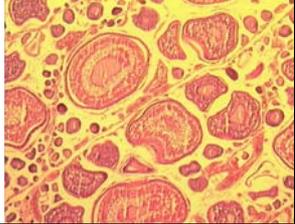
OBS.	COMP (cm)	DESCRIÇÃO DA GÓNADA	EST. MAT.	
13	43,2	<p>Macroscópica: De muito fácil atribuição o estado de maturação. Metade é uma massa e outra metade são oócitos opacos</p> <p>Microscópica: Oócitos vitelados</p> <p>Desenvolvimento</p>	 	II
14	56,0	<p>Macroscópica: De muito fácil atribuição o estado de maturação</p> <p>Microscópica: Folículos pós-ovulatórios</p> <p>Pós-desova</p>	 	IV
15	40,4	<p>Macroscópica: Gónada que difícil atribuição do estado de maturação. Encontra-se entre o <u>desenvolvimento e a pós-desova</u></p> <p>Microscópica: Folículos pós-ovulatórios</p> <p>Pós-desova</p>	 	IV
16	36,9	<p>Microscópica: Oócitos não-vitelados</p> <p>Inativo (imaturado)</p>	 	I
17	38,1	<p>Microscópica: Oócitos não-vitelados</p> <p>Inativo (imaturado)</p>	 	I

Tabela 3 (continuação)

OBS.	COMP (cm)	DESCRIÇÃO DA GÓNADA			EST. MAT.
18	54,9	Microscópica: Oócitos vitelados e atresia Desenvolvimento			II
19	42,1	Macroscópica: Com muitos oócitos hialinos Microscópica: Oócitos hidratados Desova			III
20	43,7	Microscópica: Folículos pós-ovulatórios e atresia Pós-desova			IV