



RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

ASPECTOS RELATIVOS À BIOLOGIA REPRODUTIVA
DA SOLHA, *Plathichthys flesus* (Linnaeus, 1758),
DA RIA DE AVEIRO E LITORAL ADJACENTE

Maria Preciosa Camões Sobral

2008

44



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

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 sítio web do IPIMAR <http://ipimar-iniap.ipimar.pt/> ou podem ser solicitadas aos membros do Corpo Editorial desta publicação

Capa

Luís Catalan

ISSN

1645-863x

Todos os direitos reservados

ASPECTOS RELATIVOS À BIOLOGIA REPRODUTIVA DA SOLHA, *Plathichthys flesus* (Linnaeus, 1758), DA RIA DE AVEIRO E LITORAL ADJACENTE

Maria Preciosa Camões Sobral

Centro Regional de Investigação Pesqueira do Centro
Recebido em 2007-12-13 Aceite em 2008-06-03

RESUMO

Com vista ao conhecimento do ciclo reprodutivo de *Plathichthys flesus* foi realizada na Ria de Aveiro amostragem mensal, durante um ano, proveniente de capturas com rede de arrasto de fundo. As amostras foram complementadas, na altura da reprodução, com amostragem resultante da pesca efectuada com redes de tresmalho no litoral adjacente. Os comprimentos dos exemplares distribuíram-se entre 15 e 47 cm, e a observação macroscópica e histológica das gónadas de 560 fêmeas e 394 machos permitiram seguir e analisar pormenorizadamente as fases sucessivas da evolução da maturação das gónadas, tendo-se elaborado, separadamente para os indivíduos de cada sexo, escalas de maturação constituídas por 8 estados. A evolução dos índices gonadossomático e hepatossomático mostraram que a época de reprodução da espécie tem lugar de Janeiro até Março, com maior intensidade em Fevereiro e Março.

O tamanho da primeira maturação nos machos foi de 19,61, cm correspondente a exemplares do grupo de idade 1+, e nas fêmeas foi de 23,65 cm sendo equivalente a indivíduos do grupo de idade 2+.

Palavras chave: Escala de maturação, postura, índice gonadossomático, índice hepatossomático tamanho da primeira maturação.

ABSTRACT

Title: Reproductive biology of flounder, *Plathichthys flesus* (Linnaeus, 1758), from Ria de Aveiro and adjacent littoral area

Monthly sampling of *Plathichthys flesus* from bottom trawl catches carried out during one year in Ria de Aveiro was realized in order to study the reproductive cycle. To complement this sampling program, during the spawning season, samples were obtained from trammel net fishery of adjacent littoral area. A number of 560 females and 394 males with lengths between 15 cm and 47 cm were obtained and macroscopic and histological observation of gonads allowing to follow and analyse in a detailed way the successive phases of the sexual glands evolution. Maturity scales with eight stages for each sex have been elaborated. The evolution of gonadossomatic and hepatossomatic indexes showed that spawning of *Plathichthys flesus* occurs between January and March with highest intensity in February and March.

The males reached first maturity at age group 1+, with 19,61 cm of size, and females at age group 2+ with a length of 23,65 cm.

Keywords: Maturity scales, spawning, gonadossomatic index, hepatossomatic index, first maturity length.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

SOBRAL, M. P. 2007. Aspectos relativos à biologia reprodutiva da solha, *Plathichthys flesus* (Linnaeus, 1758), da Ria de Aveiro e litoral adjacente. *Relat. Cient. Téc. IPIMAR, Série digital* (<http://ipimar-iniap.ipimar.pt>), n°44, 31pp

INTRODUÇÃO

A solha, *Plathichthys flesus*, é uma espécie pertencente à ordem dos Pleuronectiformes, cuja abundância tem importância considerável, particularmente nos desembarques da zona norte. A sua ocorrência ao longo de todo o ano na Ria de Aveiro, é indicativa das condições favoráveis deste ecossistema no acolhimento quer dos juvenis quer dos sub adultos e adultos. O conhecimento do ciclo reprodutivo é um aspecto importante da biologia das espécies dado que, em conjunto com outras informações de natureza biológica e técnica, permite fundamentar uma gestão adequada dos recursos.

A solha, *Plathichthys flesus*, é uma espécie demersal cuja postura tem lugar no mar a cerca de 60 milhas náuticas da costa (Ehrenbaum & Mielck, 1910 *in* Van Der Land, 1991). Coloniza na sua fase juvenil e sub adulta os sistemas estuarino-lagunares onde a temperatura, a salinidade e a quantidade de alimento disponível são factores particularmente favoráveis, ao crescimento e à sua permanência nestes meios. O desenvolvimento maturativo das gónadas é geralmente iniciado nestes ecossistemas podendo as gónadas, por vezes, alcançar fases mesmo muito próximas da postura - ovários com alguns oócitos hialinos são referidos por Vianet (1985) no Golfo de Lion, por Deniel (1981) na Baía de Douarnenez, e Sobral, (2007) na Ria de Aveiro -. No estuário do Rio Mondego, onde as condições são menos favoráveis devido à baixa salinidade e a grandes variações dos parâmetros ambientais, os exemplares observados apenas apresentaram gónadas em estados iniciais do desenvolvimento maturativo (Jorge, 1999).

Com este trabalho pretendeu-se proceder ao estudo do ciclo sexual desta espécie na Ria de Aveiro e litoral adjacente.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostragem na Ria de Aveiro teve uma periodicidade mensal de Janeiro a Dezembro de 1995. A fim de dispor de exemplares nas várias fases do ciclo reprodutivo amostras suplementares foram obtidas no litoral adjacente, durante o período de postura. No laboratório procedeu-se ao registo do comprimento total em centímetros com aproximação às décimas, do sexo, do peso do corpo, das gónadas e do fígado em gramas, com aproximação às centésimas em 560 fêmeas e 394 machos.

Para caracterizar os estados de maturação e compreender o processo maturativo, foi descrito o aspecto macroscópico das gónadas, tendo-se recolhido pequenas porções para posterior observação histológica. As fracções das gónadas foram fixadas em AFA, ou em Líquido de Bouin. Após um período superior a 48 h as peças fixadas em AFA foram transferidas para álcool a 70 %, onde permaneceram até ao início do processo de desidratação e inclusão, bem como as fixadas em Bouin após sucessivas passagens por álcool para remoção do fixador. Os cortes das peças foram efectuados com micrótomo, com espessura que variou entre 7 e 10 μ e corados com hemalumen e eosina ou com azul de toluidina, segundo Martoja & Martoja-Pierson (1970). Na montagem das preparações foi utilizado Entellan. As observações foram efectuadas ao microscópio binocular (ZEISS) com sistema de fotografia incorporado.

Os índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) expressos em percentagem relativamente ao peso do corpo, após terem sido retiradas as vísceras da cavidade abdominal, foram calculados por indivíduo, tendo a variação temporal sido analisada separadamente para os indivíduos de cada sexo.

O comprimento na primeira maturação, considerado como sendo o comprimento ao qual 50% dos indivíduos estão maduros, foi determinado separadamente para machos e fêmeas, tendo a ogiva de maturação sido calculada a partir do ajustamento à curva logística da variação da percentagem de indivíduos maduros em função do tamanho.

RESULTADOS

Reprodução

Escala de maturação

O acompanhamento do processo da maturação sexual das gónadas foi possível através da observação macroscópica e histológica das gónadas e permitiu, para cada sexo, a elaboração de escalas macroscópica e microscópica com 8 estados (Tabelas 1 e 2 em Anexo).

Estado 1 – Gónadas virgens

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - Neste estado os ovários apresentavam-se com cor ligeiramente rosada, transparentes, com irrigação sanguínea muito ténue e forma triangular.

Aspecto histológico: - Microscopicamente as preparações histológicas mostravam as lamelas ovígeras já definidas e com oócitos de forma oval ou poliédrica e com núcleo bastante volumoso (Fig. 1 A).

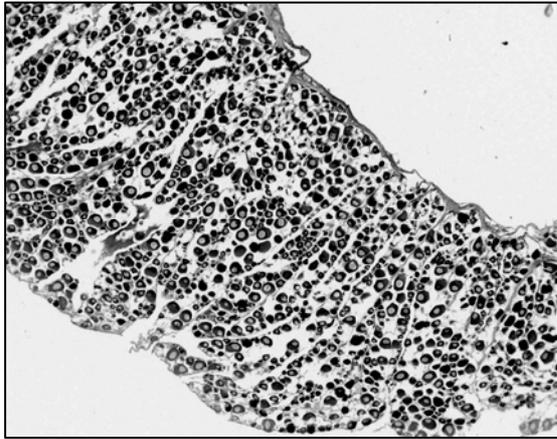


Figura 1 A - Aspecto histológico da secção de um ovário no estado 1 (ampl. 50x.).

Os oócitos apresentavam reacção fortemente basofílica e núcleo com um número variável de nucléolos, situados próximo da membrana nuclear, e geralmente um com maiores dimensões. O diâmetro médio máximo atingido pelos oócitos foi de 61,75 μm e o diâmetro nuclear de 38,53 μm (Fig. 1 B).

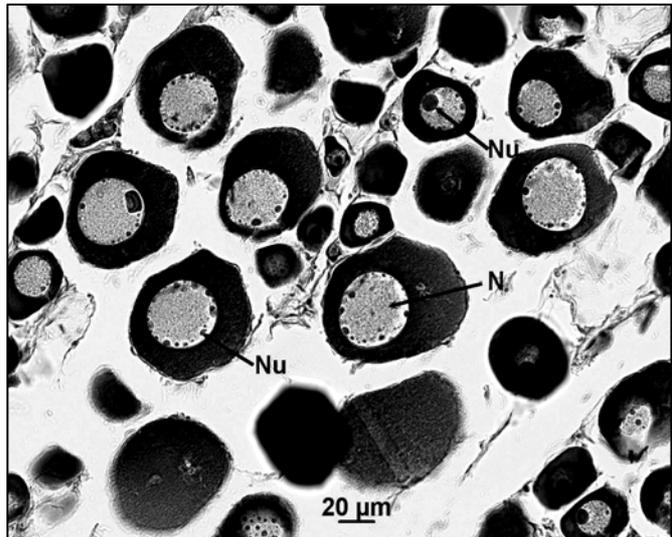


Figura 1 B - Parte da secção de um ovário no estado 1 (N - núcleo, Nu - nucléolo).

Machos

Aspecto macroscópico: - Os testículos apresentaram pequenas dimensões, forma alongada, e coloração esbranquiçada ou ligeiramente rosada.

Aspecto histológico: - Nesta fase constatou-se que a organização histológica dos testículos em tubos seminíferos não era ainda perfeitamente nítida contendo no seu interior células germinais primordiais e espermatogónias (Fig. 2 A e Fig. 2 B).

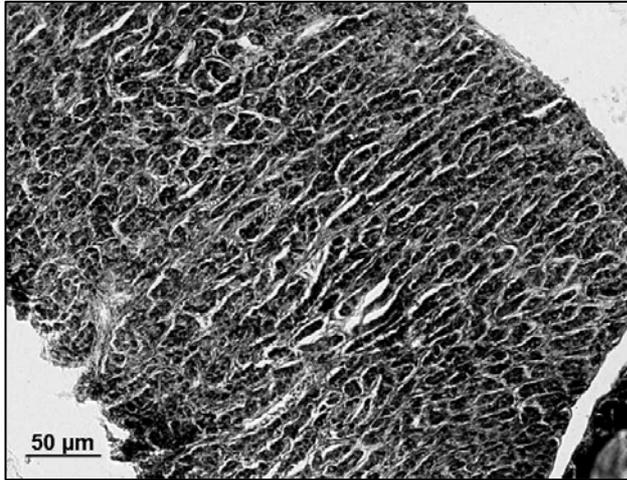


Figura 2 A - Aspecto histológico da secção de testículo no estado 1.

As células germinais apresentam núcleo evidente, com um nucléolo claramente visível e citoplasma pouco distinto, podendo atingir um diâmetro médio de 8,46 µm. As espermatogónias, embora semelhantes às células germinais, possuem um citoplasma bastante corado e evidente, e podem atingir um diâmetro médio de 7,34 µm.

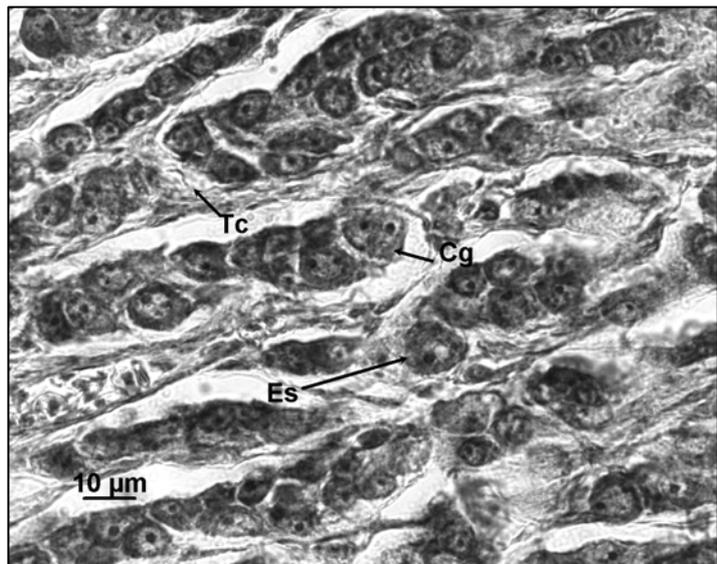


Figura 2 B - Pormenor da secção de testículo do estado 1 - (Cg - célula germinativa; Es - espermatogónia, Tc - tecido conjuntivo).

Estado 2 – Gónadas em início de desenvolvimento

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - Os ovários dos indivíduos neste estado apresentavam-se de maiores dimensões que no estado anterior, translúcidos, de cor rósea e com vasos sanguíneos evidentes.

Aspecto microscópico: - Observou-se à periferia dos oócitos uma zona de aspecto granuloso, envolvendo-os completamente ou em parte, que apresentava menor afinidade para os corantes utilizados. Esta zona contrastava com a parte mais interna do citoplasma à volta do núcleo, que se apresentava mais fortemente basofílica. O diâmetro médio dos oócitos foi de $92,9\ \mu\text{m}$ e o nuclear $50,46\ \mu\text{m}$ (Fig. 3 A e Fig. 3 B).

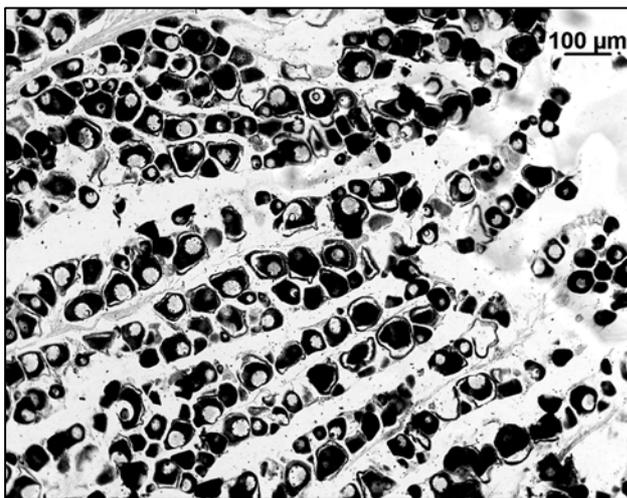
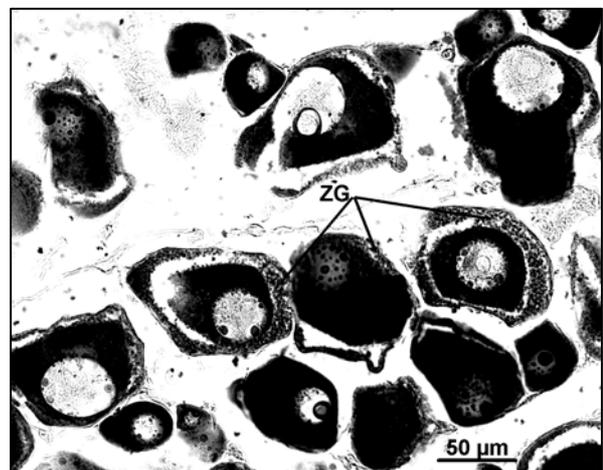


Figura 3 A - Aspecto da secção de ovário do estado 2.

Figura 3 B - Pormenor de oócitos do estado 2 evidenciando a zona granulosa (ZG).



Machos

Aspecto macroscópico: - Neste estado os testículo tem a forma característica de um rim, e mostraram-se algo translúcidos e com vascularização sanguínea na face interna.

Aspecto microscópico: - Os túbulos seminíferos mostraram-se perfeitamente individualizados, com uma camada de tecido intersticial bastante espessa a rodeá-los e cheios de espermatogónias. A presença de espermatócitos primários foi observada nos túbulos junto ao espermiducto. (Fig. 4 A e Fig. 4 B).

Os espermatócitos primários apresentam núcleo com cromatina condensada irregularmente em forma de novelo e possuem um diâmetro médio de 3,25 μm .

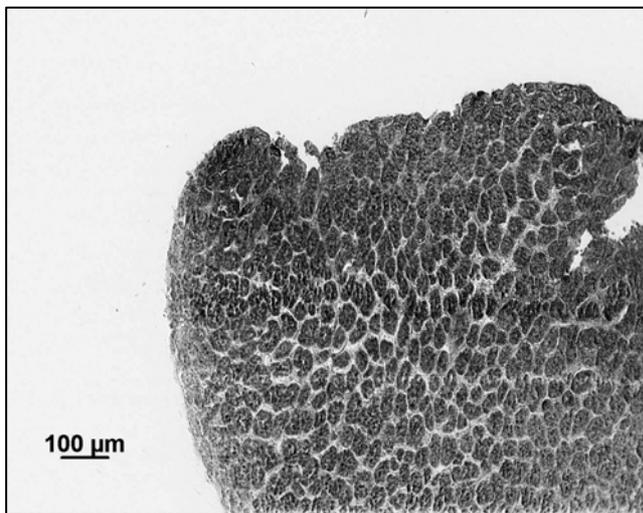


Figura 4 A - Aspecto da secção de testículo do estado 2.

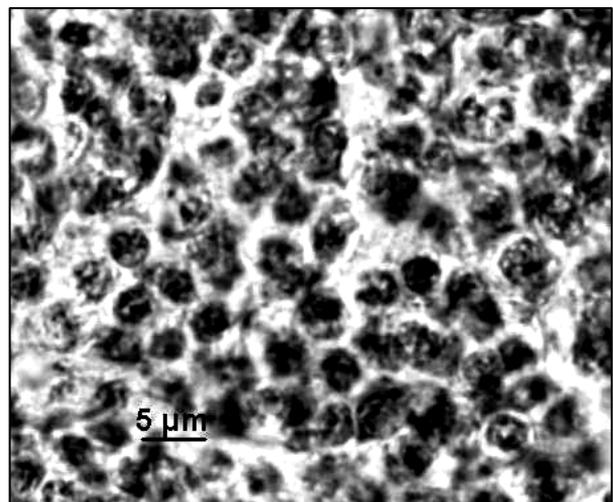


Figura 4 B - Grupos de espermatócitos primários

Estado 3 - Gónadas em desenvolvimento

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - Os ovários apresentam cor rósea mais acentuada, ocupam cerca de 1/3 da cavidade visceral, são mais volumosos, menos translúcidos e os vasos sanguíneos da face interna estão mais evidentes.

Aspecto microscópico: - Os oócitos apresentam citoplasma homogéneo, sem a zonação do estado anterior e com pequenas gotas lipídicas, nem sempre perfeitamente visíveis. Apresentam-se ligeiramente arredondados, com a teca visível e com os nucléolos junto à membrana nuclear. O diâmetro celular médio é de 96,73 μm e o nuclear de 52,79 μm (Fig. 5 A).

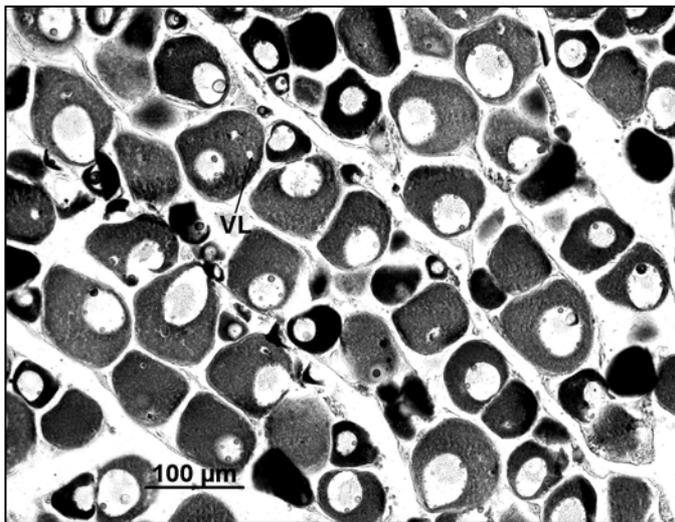


Figura 5 A - Aspecto histológico da secção de um ovário no estado 3.

Machos

Aspecto macroscópico: - Verifica-se um aumento do tamanho dos testículos, que se apresentam opacos e consistentes, com cor rósea e vascularização mais evidente.

Aspecto microscópico: - Nos cortes histológicos dos testículos observou-se uma diminuição acentuada do tecido conjuntivo envolvente dos túbulos seminíferos, permanecendo estes, no entanto, individualizados. Encontram-se praticamente preenchidos de espermatócitos primários, podendo no entanto ocorrer nos túbulos junto ao espermiducto espermatócitos secundários (Fig. 6 A e Fig. 6 B).

Os espermatócitos secundários apresentam menor diâmetro que os primários, cromatina mais condensada e diâmetro médio nuclear de 1,96 μm .

Figura 6 A - Aspecto histológico da secção de um testículo no estado 3.

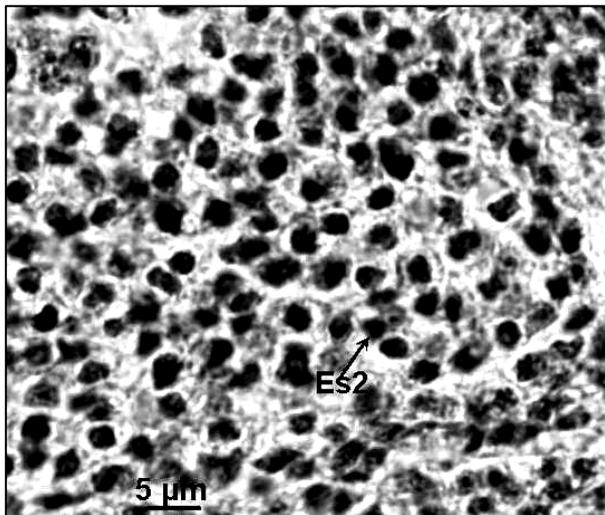
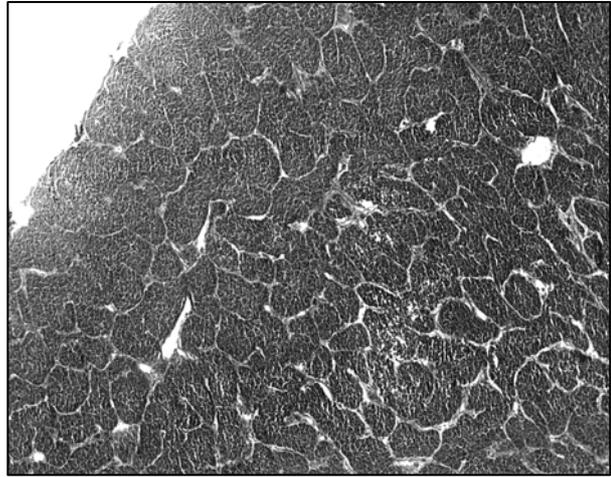


Figura 6 B - Grupos de espermatócitos secundários (Es2).

Estado 4 - Gónadas em desenvolvimento avançado

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - As gónadas nesta fase apresentaram-se mais consistentes, com cor rósea mais escura que no estado anterior e com vascularização nítida. Ocupavam mais de metade da cavidade visceral e os oócitos eram de difícil visualização.

Aspecto microscópico: - Histologicamente os oócitos no início apresentaram pequenos vacúolos, os alvéolos corticais, à periferia do citoplasma e pequenas gotas lipídicas dispersas no seu interior. Os nucléolos estão ainda junto à membrana nuclear, sendo o diâmetro médio do oócito de 102,25 μm e o diâmetro nuclear de e 54,28 μm (Fig. 7 A).

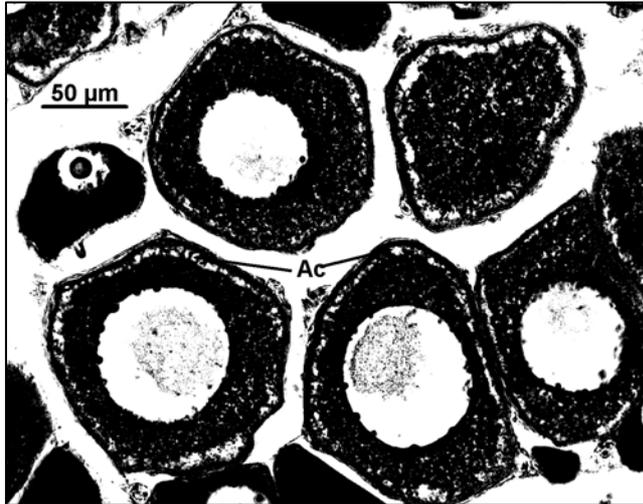


Figura 7 A – Aspecto de oócitos em início o estado 4, Ac - alvéolos corticais

Numa fase mais avançada os alvéolos corticais vão aumentando progressivamente em direcção ao núcleo e vão-se associando às pequenas vesículas lipídicas, não sendo possível a distinção destes dois tipos de estruturas, por perderem os seus conteúdos durante a desidratação pela série dos álcoois. Aparecem assim ambas vazias quando coradas pela hematoxilina e eosina (Forberg, 1982 e Selman e Wallace, 1989). O citoplasma encontra-se apenas numa pequena zona à volta do núcleo (Fig. 7 B).

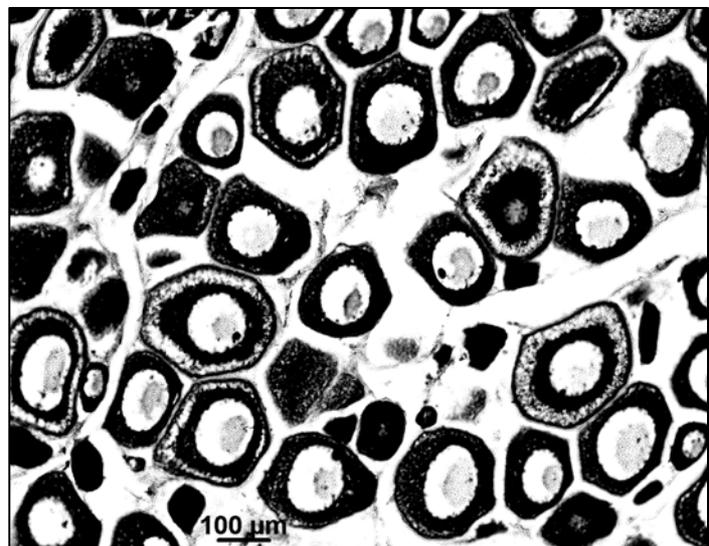


Figura 7 B – Aspecto de oócitos no final do estado 4.

A camada envolvente do oócito (granulosa) já se encontra presente, sendo ainda a radiata difícil de visualizar (Fig. 7 C). Os oócitos atingem um diâmetro médio de 103,92 μm e o núcleo um tamanho de 58,23 μm .

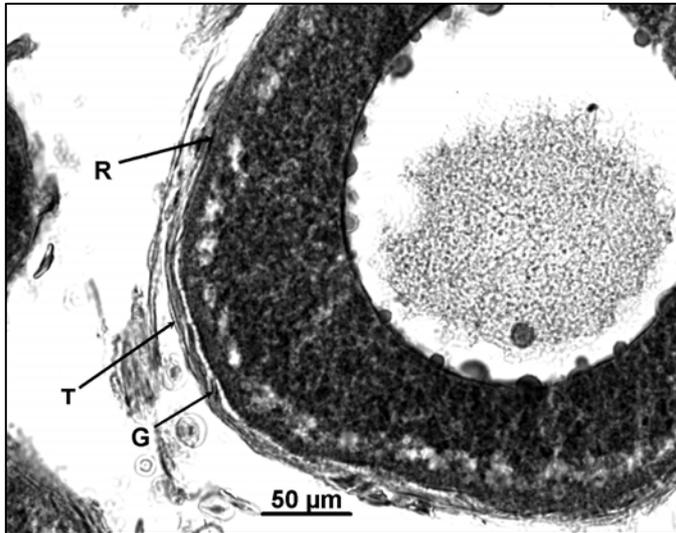


Figura 7 C - Oócito no início do estado 4 mostrando as camadas envolventes (T - teca, G - granulosa, R - radiata).

Machos

Aspecto macroscópico: - Embora com aspecto semelhante ao do estado anterior, os testículos, neste estado, apresentaram-se mais volumosos e com manchas esbranquiçadas na superfície.

Aspecto microscópico: - Os espermatócitos secundários, resultantes da divisão meiótica dos espermatócitos primários, já são visíveis nos túbulos à periferia do testículo. As espermatogônias são raras e ocorrem também junto à periferia. Apesar de muito desenvolvidos os túbulos mantêm ainda a sua individualização. A presença de espermatídeos e espermatozóides tornou-se evidente quer nos túbulos junto do espermiducto quer na região central do testículo (Fig. 8 A, Fig. 8 B e Fig. 8 C).

Os espermatídeos apresentam forma arredondada e por vezes alongada com diâmetro de cerca de 1,5 μm . Estes, por reorganização do núcleo e do citoplasma e desenvolvimento do flagelo, originam os espermatozóides que atingem um diâmetro de cerca de 1,24 μm ou ligeiramente superior.

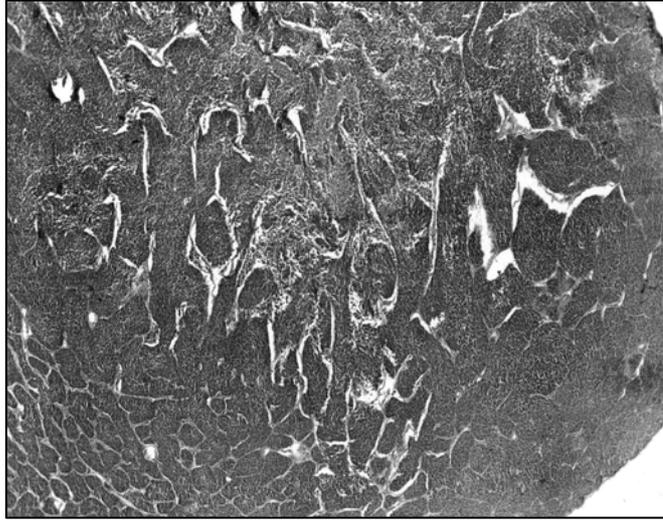


Figura 8 A - Aspecto da secção de testículo no estado 4 (ampl. 50x).

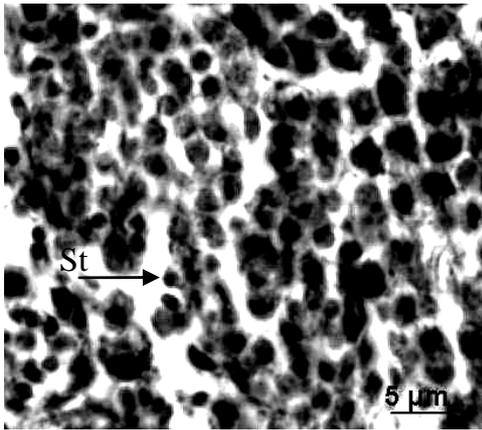


Figura 8 B - Grupo de espermátídeos.

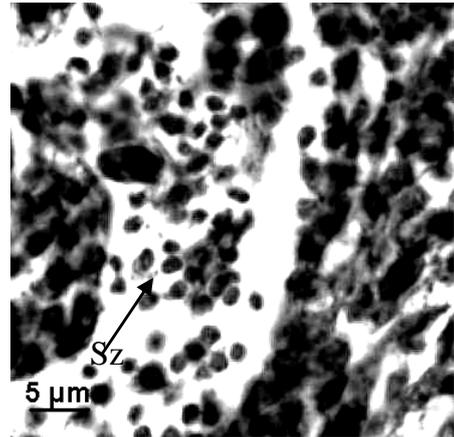


Figura 8 C - Grupo de espermatozóides.

Estado 5 - Gónadas em estado de pré-postura

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - Os ovários neste estado foram caracterizados pela presença de oócitos perfeitamente visíveis. As gónadas ocupam toda a cavidade visceral, apresentam vasos sanguíneos muito evidentes na face interna e coloração rosada.

Aspecto microscópico: - Verifica-se nesta fase um aumento do tamanho dos oócitos devido à deposição dos grânulos de vitelo que se inicia à periferia. Os grânulos vão aumentando em número e tamanho acabando por preencher completamente o oócito, e evidenciam cor diferente consoante o corante utilizado (rosa se o corante é a eosina e azul se é a toluidina). O diâmetro médio celular e nuclear atingido é de cerca de $174,73 \mu\text{m}$ e $63,34 \mu\text{m}$ respectivamente. A membrana radiata é perfeitamente visível, embora se encontre ainda muito pouco espessada (Fig. 9 A, Fig. 9 B e Fig. 9 C).

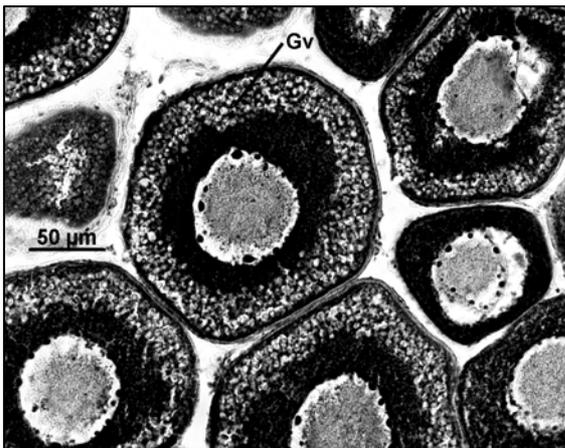


Figura 9 A - Aspecto histológico de oócitos do estado 5 (Gv - grânulos de vitelo).

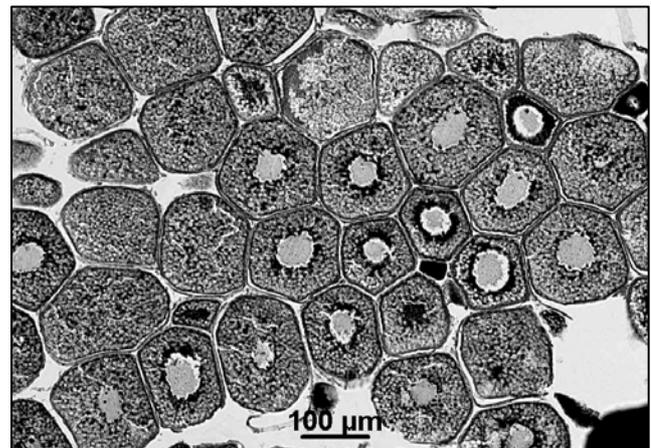


Figura 9 B - Aspecto de secção de ovário, do mesmo estado, em fase final.

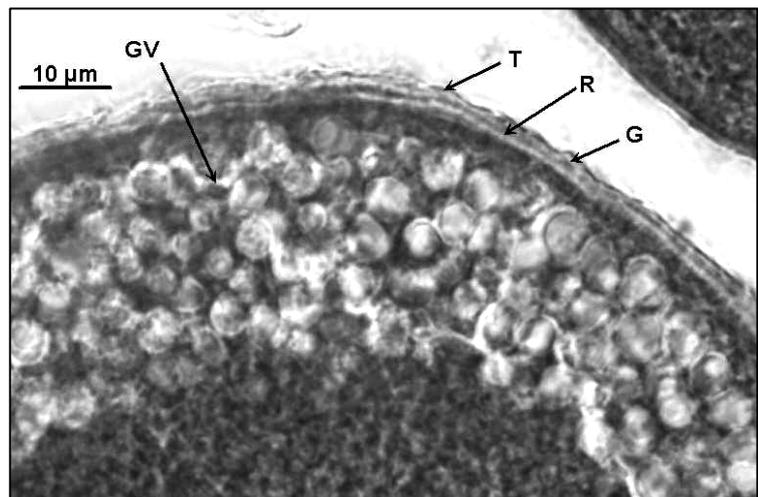


Figura 9 C - Pormenor de oócito do mesmo estado (T - teca, G - granulosa, R - radiata Gv - grânulos de vitelo).

Machos

Aspecto macroscópico: - Nesta fase os testículos apresentaram-se muito desenvolvidos, menos consistentes e com coloração leitosa.

Aspecto microscópico: - As preparações histológicas mostraram neste estado os túbulos seminíferos muito volumosos e preenchidos praticamente por espermatídeos e espermatozóides. Foi ainda visível a presença de grupos de espermátócitos primários e secundários. As espermatogónias eram raras e situavam-se nos túbulos junto à periferia do testículo (Fig. 10 A e Fig. 10 B).

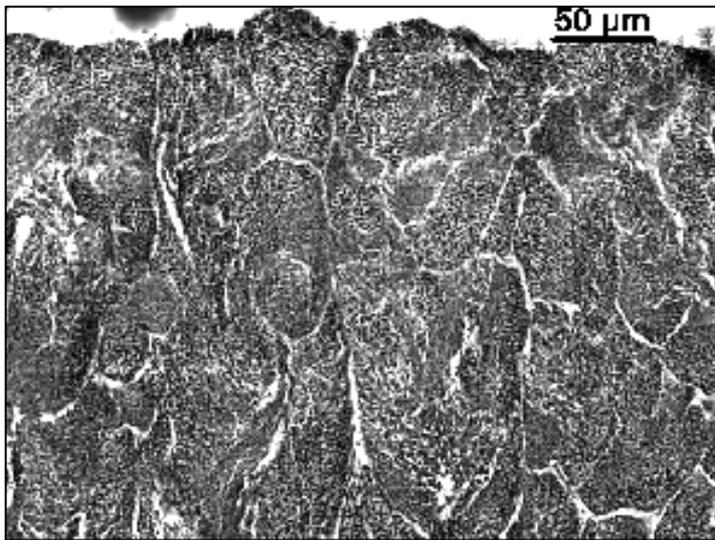
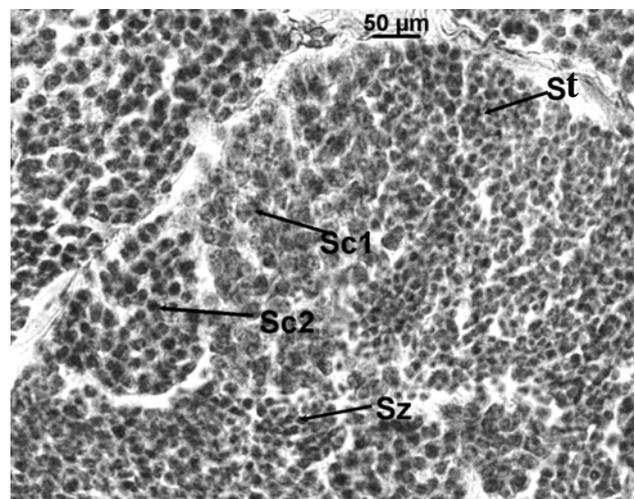


Figura 10 A: - Aspecto histológico da secção de testículo no estado 5.

Figura 10 B: - Pormenor dos vários grupos celulares (Sc1 - espermátócitos primários, Sc2 - espermátócitos secundários, St - espermatídeos, Sz - espermatozóides).



Estado 6 - Gónadas em estado de postura

Fêmeas:

Aspecto macroscópico: - Característico deste estado é a presença de oócitos hialinos que são em pequeno número no início mas que vão aumentado e acabam finalmente por encher toda a gónada ficando as gónadas a ocupar toda a cavidade visceral e apresentando vascularização pouco acentuada.

Aspecto microscópico: - Nesta fase a radiata tornou-se bastante espessa, cerca de 8 μm , permitindo a observação da sua estrutura estriada (Fig. 11 A). O núcleo de contorno irregular, com os nucléolos evidentes, inicia a sua migração para o pólo animal da célula onde vai sofrer desintegração.

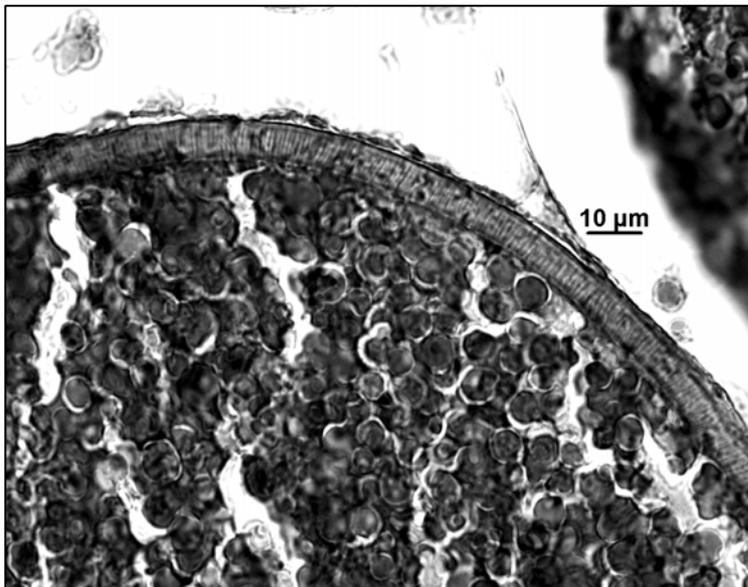


Figura 11 A - Pormenor de oócito mostrando o aspecto estriado da membrana radiata.

O diâmetro médio do oócito é nesta fase de cerca de 361 μm (Fig. 11 B). Inicia-se também neste momento a fusão das substâncias lipídicas e proteicas, que se propaga depois a toda a célula, originando uma massa mais ou menos uniforme no interior do oócito que se torna transparente.

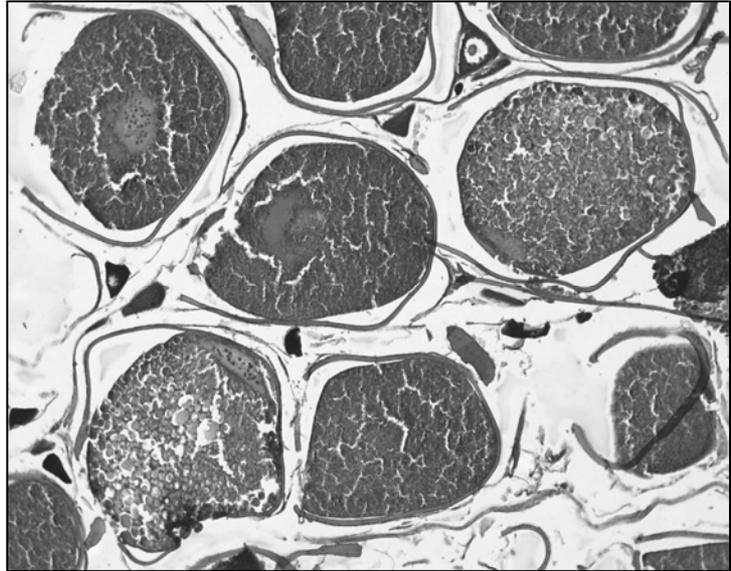


Figura 11 B - Aspecto histológico da secção de ovário no início do estado 6 (ampl. 50x).

Este processo tem duração muito curta e ocorre algumas horas antes da ovulação (Hunter e Macewicz, 1985). A hidratação do oócito provoca um aumento do seu volume e faz diminuir a espessura da membrana radiata (Fig. 11 C).

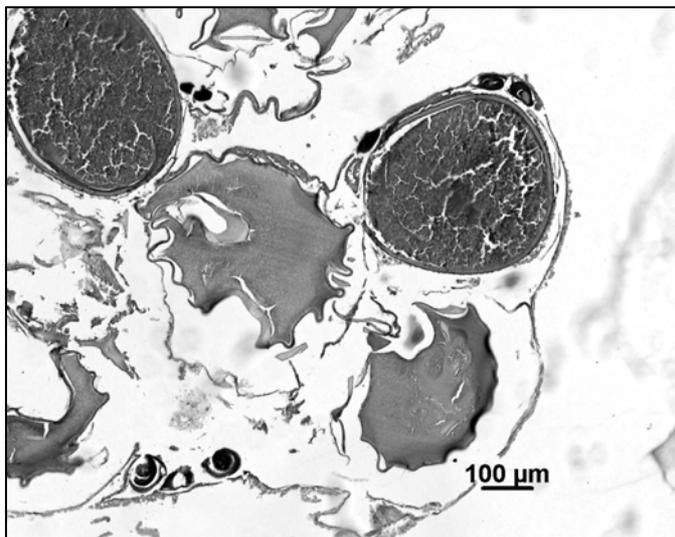


Figura 11 C – Secção de ovário com oócitos hialinos do final do estado 6.

Machos

Aspecto macroscópico: - Os indivíduos incluídos neste estado apresentavam testículos de cor branco leitosa e com os espermiductos cheios de esperma que sai por leve pressão no abdómen.

Aspecto microscópico: - Histologicamente observam-se os túbulos seminíferos repletos de espermatozóides formando uma massa contínua, que adquire o aspecto de “ondular dinâmico”, com as caudas dirigidas para o lúmen do folículo que caracteriza a emissão. À medida que a postura se processa os túbulos seminíferos tornam-se cada vez mais evidentes (Fig. 12).

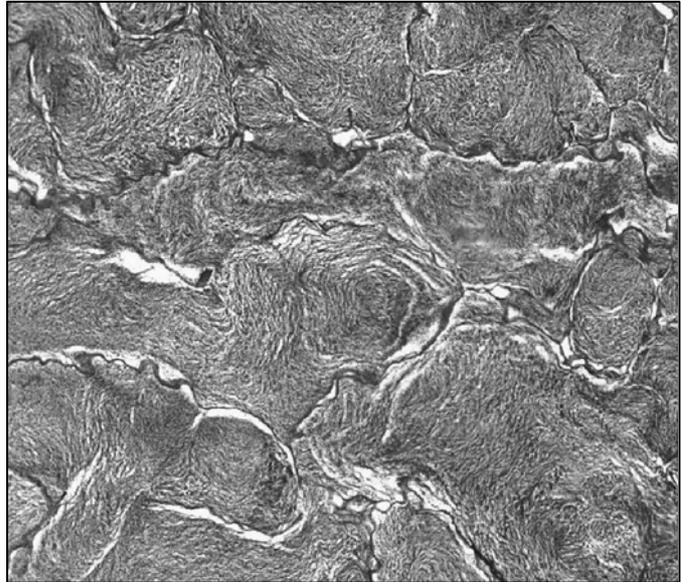


Figura 12 - Aspecto histológico de secção de testículo do estado 6 (ampl. 50x).

Estado 7 – Gónadas em estado de pós-postura

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - As gónadas apresentam-se vazias, flácidas e de cor rosada, com oócitos nem sempre perfeitamente visíveis e por vezes com manchas hemorrágicas.

Aspecto microscópico: - As preparações histológicas mostram as lamelas ovígeras mais vazias e desorganizadas. Verificou-se a presença de células foliculares vazias e de oócitos residuais não emitidos (oócitos atréticos) em degeneração que apresentam contracção do seu conteúdo e espessamento da membrana radiata. Estes oócitos atréticos são posteriormente reabsorvidos pelas células da granulosa. Observam-se ainda oócitos nos estados iniciais de desenvolvimento, incluindo os do início do estado 4, que vão também ser reabsorvidos. A parede do ovário mostra-se espessa e pregueada (Fig. 13 A e Fig. 13 B).

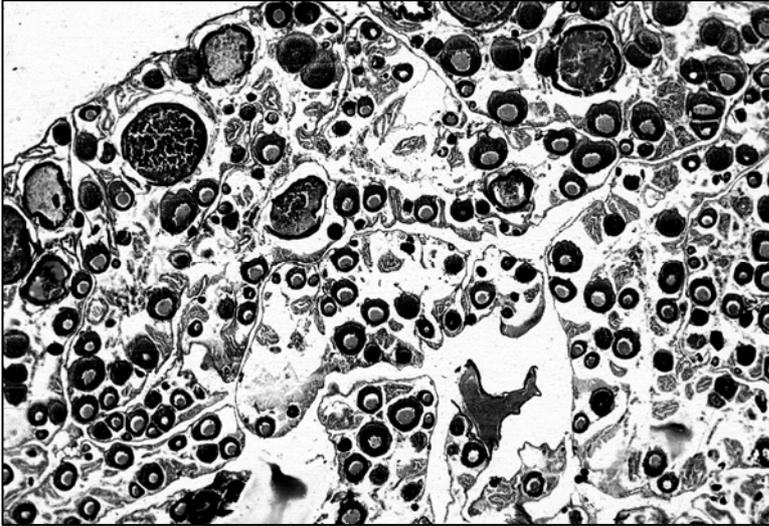


Figura 13 A - Aspecto da secção de um ovário no estado 7, com oócitos residuais em atresia (ampl. 50x).

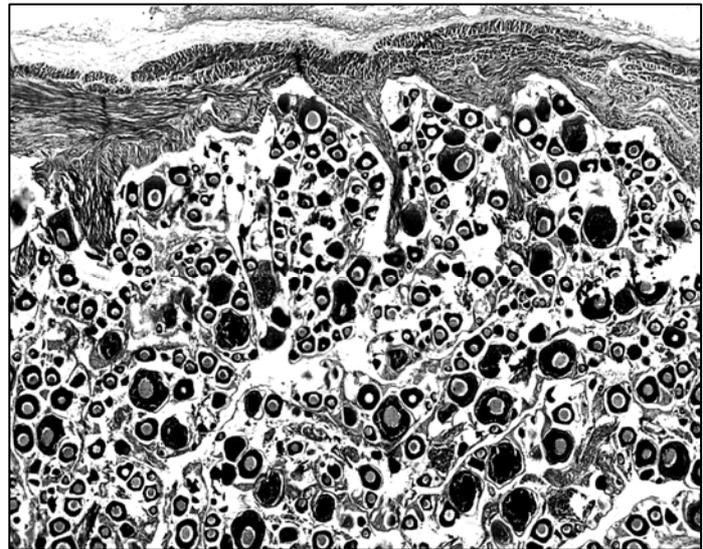


Figura 13 B - Aspecto de ovário no estado 7 mostrando o pregueamento e espessamento da parede do ovário. (ampl. 50x).

Machos:

Aspecto macroscópico: - Os testículos dos indivíduos em pós-postura (estado 7) apresentavam-se vascularizados, com restos de esperma, flácidos, pouco volumosos e achatados.

Aspecto microscópico: - Neste estado verifica-se a presença de espermatozóides residuais em reabsorção bem como de túbulos vazios que se encontram individualizados e distorcidos devido ao aumento do tecido intersticial (Fig. 14 A e Fig. 14 B), bem como espermatogónias isoladas.

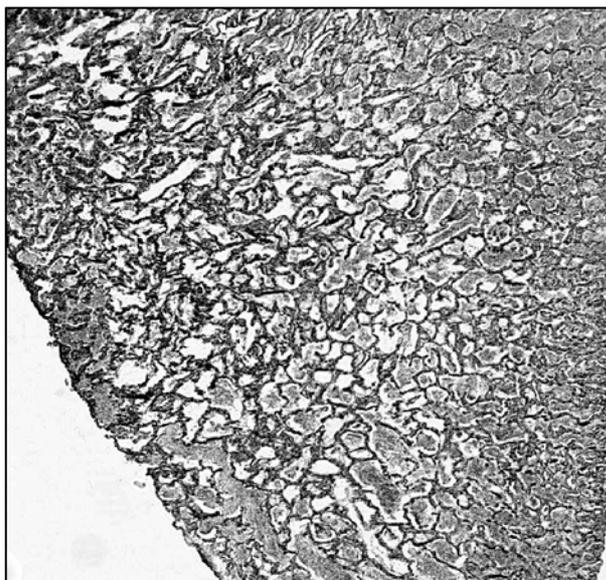


Figura 14 A - Aspecto da secção de um testículo no estado 7 (ampl. 50x).

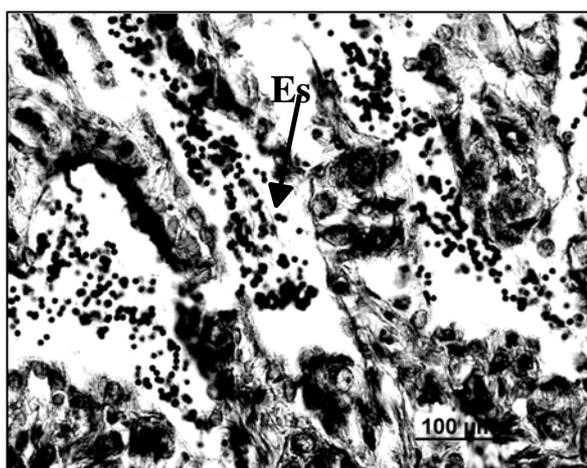


Figura 14 B - Pormenor de testículo no estado 7. Es - Espermatozóides residuais.

Estado 8 – Gónadas em reconversão

Fêmeas

Aspecto macroscópico: - Nesta fase, os ovários apresentavam-se rosados, de reduzidas dimensões, sem oócitos residuais visíveis a olho nu, com os vasos sanguíneos da face interna esbranquiçados e semelhantes aos dos indivíduos em início de desenvolvimento, embora mais consistentes e de maiores dimensões.

Aspecto microscópico: - Histologicamente as lamelas ovígeras ainda que algo vazias apresentavam já uma certa reorganização, verificando-se a presença de oócitos do estado 1 e do início do estado 2. Um ovário em reconversão distingue-se do estado 2 pelo espessamento

da sua parede e pela presença de feixes de tecido conjuntivo que se projectam em direcção ao lúmen (Fig. 15).

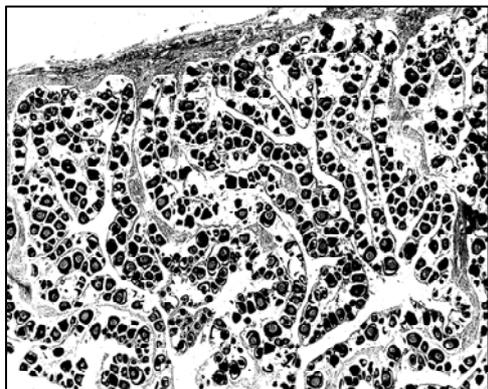


Figura 15 - Aspecto da secção de ovário no estado 8 (ampl. 50x).

Machos

Aspecto macroscópico: - Os testículos dos indivíduos neste estado mostraram-se de cor rosada e translúcidos, embora mais compactos e irrigados do que os que se encontram em início de desenvolvimento.

Aspecto microscópico: - Nesta fase o tecido intersticial atinge o seu pleno desenvolvimento, podendo observar-se restos de espermatozóides e espermatogónias isoladas ou em pequenos grupos dispersos entre o tecido intersticial. Numa fase mais avançada os túbulos seminíferos apresentam-se individualizados, reorganizados e revestidos de uma camada espessa de tecido intersticial. A parede do testículo mostra-se espessada, distinguindo-se assim das gónadas no estado 2 (Fig. 16).

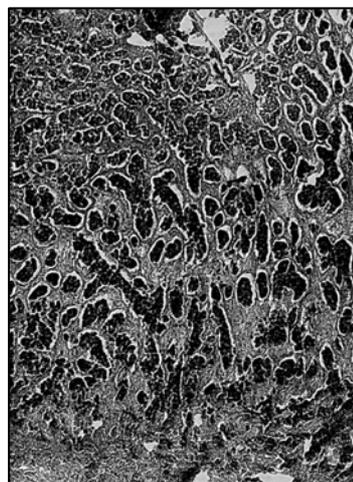


Figura 16 - Aspecto da secção de testículo no final do estado 8 (ampl. 50x).

Através dos gráficos pode-se constatar que as referidas variações reflectem as alterações ocorridas no desenvolvimento das gónadas.

Assim, durante o período de amostragem constata-se a presença de indivíduos imaturos (estado 1 e estado 2) ao longo de todo o ano, e de um aumento da percentagem de indivíduos no estado 2 a partir de Setembro, quando nas fêmeas os oócitos mostram uma zona de aspecto granuloso à periferia, e nos machos se observa espermátocitos secundários nos túbulos junto ao espermiduto.

Exemplares no estado 3 ocorrem particularmente de Setembro a Dezembro, quando os oócitos apresentam um citoplasma granuloso, com a presença de vesículas lipídicas ou gotas lipídicas, por vezes de difícil visualização, e que constituem indicativo de início da vitelogénese.

O estado 4 foi observado particularmente de Outubro a Dezembro. A vitelogénese proteica, correspondente ao estado 5, ocorreu de Outubro a Fevereiro e a postura (estado 6) principalmente de Janeiro a Março em ambos os sexos. A presença de alguns machos em Dezembro no estado de postura (estado 6) e a ausência de fêmeas neste estado parece sugerir que a maturação dos testículos se inicia mais cedo do que os ovários, uma vez que o número de indivíduos capturados de cada sexo foi muito semelhante (37 machos e 34 fêmeas). Foram observados indivíduos principalmente em pós-postura (estado 7) na Primavera (de Março a Maio nas fêmeas e em Abril/Maio nos machos), e em reconversão (estado 8) principalmente de Junho a Agosto.

Índice gonadossomático e hepatossomático

A Figura 18 representa a variação média mensal dos índices gonadossomático e hepatossomático em ambos os sexos.

Os valores mais elevados do índice gonadossomático, quer nos machos quer nas fêmeas, ocorreram de Janeiro a Março, e coincidiram com o período de postura. A descida dos valores deste índice, coincidiu com a situação de pós-postura. O aumento que se constata a partir de Setembro, em ambos os sexos é indicativo do começo do desenvolvimento das gónadas no início de um novo ciclo. Relativamente ao índice hepatossomático verifica-se uma tendência decrescente de Janeiro a Abril. Os valores em Junho, Julho e Agosto nas fêmeas e em Maio e Julho nos machos apresentam-se elevados podendo corresponder a uma acumulação de reservas hepáticas provavelmente numa fase de alimentação mais intensa durante a reconversão da gónada. Tanto nos machos como nas fêmeas verifica-se a partir de Setembro

uma tendência descendente nos valores do índice hepatossomático correspondente ao início da utilização das reservas hepáticas para a reprodução no início de um novo ciclo sexual.

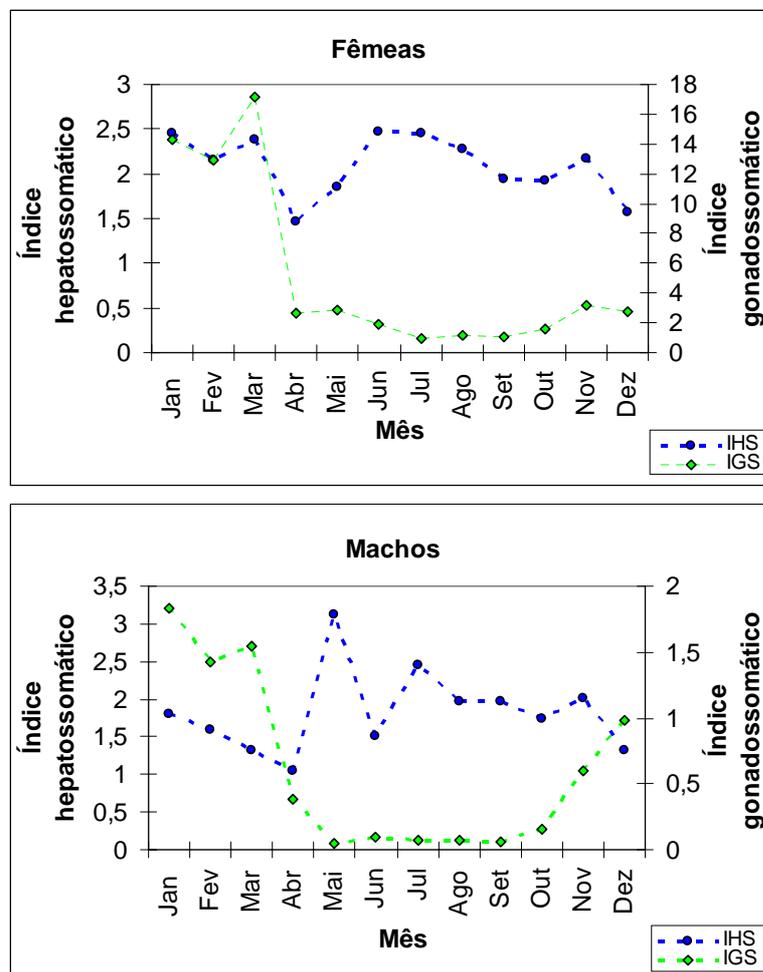


Figura 18 - Evolução dos índices gonadosomático e hepatossomático nos machos e nas fêmeas de *Plathichthys flesus*.

Comprimento à primeira maturação

O comprimento à primeira maturação (comprimento ao qual 50% dos indivíduos estão maduros) foi determinado por ajustamento da curva logística à variação da proporção de indivíduos maduros de ambos os sexos (Figura 19, respectivamente machos e fêmeas) em função do comprimento (Lt) dos indivíduos. Nos cálculos foram considerados maduros os indivíduos que nos meses de Janeiro a Março se encontravam nos estados de pré-postura (estado5), postura (estado 6) e pós-postura (estado 7).

Os machos atingem o comprimento na primeira maturação com 19,61 cm e as fêmeas com 23,65 cm, quando se encontram respectivamente nos grupos de idade 1+ e 2+.

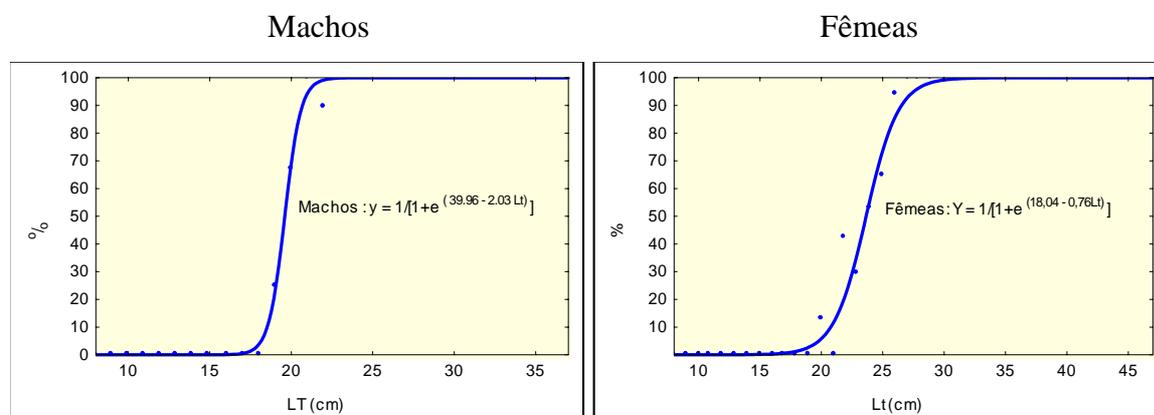


Figura 19 - Ogiva de maturação dos machos e fêmeas de *Plathichthys flesus*.

DISCUSSÃO

A observação macroscópica e histológica das gónadas permitiu verificar um certo sincronismo na evolução da gametogénese dos machos e das fêmeas, durante os mesmos meses embora nos machos o desencadear da postura se inicie ligeiramente mais cedo nos machos (Dezembro) do que nas fêmeas (Janeiro). Segundo alguns autores (Vianet, 1985; Deniel, 1981 e Summers, 1979) esta circunstância deve-se ao facto de a espermatogénese se desenvolver de uma forma ligeiramente mais rápida que a ovogénese.

O período de postura de *P. flesus* no litoral de Aveiro decorreu de Janeiro a Março, tal como no Atlântico na Baía de Douarnenez. Na zona sul do Mar do Norte ocorreram ovos desta espécie principalmente em Fevereiro, podendo ser encontrados de Janeiro a Abril (Van Der Land, 1991). A sueste do Canal da Mancha a postura decorre desde o fim de Janeiro ao fim de Abril (Lahaye, 1972); no Mediterrâneo estende-se de Janeiro a Abril (Vianet, 1985) e no Báltico (Kosior *et al.*, 1996) de Março a Junho. Tal como para a maioria das espécies que têm uma vasta área de distribuição, a maturidade da solha aparece mais tardiamente nas regiões mais setentrionais, provavelmente devido ao facto de a temperatura óptima da reprodução se atingir mais cedo no Atlântico e no Mediterrâneo e só posteriormente no Báltico.

A espécie parece efectuar apenas movimentos sazonais em áreas limitadas (Ehrenbaum & Mielck, 1910 *in* Van Der Land, 1991 e Ciegiewicz, 1944 *in* Draganik, 1993) e os locais de postura parecem ser pouco afastados dos sistemas litorais, uma vez que foi observado o início

do aparecimento de oócitos hialinos nos ovários em exemplares capturados na Ria de Aveiro, na Baía de Douarnenez (Deniel, 1981) e no Golfo de Lion (Vianet, 1985).

À semelhança do que foi também descrito para outras espécies (Arruda, 1988 em *Macrorhynchus gracilis*; Andrade, 1990 em *S. vulgaris*, *S. senegalensis*, *S. lascaris* e *Microchirus azevia*; Gordo, 1992 em *Boops boops*), observou-se no início do desenvolvimento dos oócitos durante a fase perinucleolar (estado 2), da solha do litoral de Aveiro, o aparecimento, na periferia do citoplasma, de uma zona de aspecto granuloso (menos basofílica do que a área do citoplasma em redor do núcleo), que parece estar relacionada com a síntese de grânulos de vitelo e de pequenas gotas lipídicas. Esta camada granulosa foi observada também em ovários em pós postura (estado 7) em ligação com a reabsorção dos oócitos atréticos.

Os índices gonadossomáticos tiveram valores mais elevados em ambos os sexos, de Janeiro a Março, durante o período de reprodução. Os valores mais baixos ocorreram nas fases seguintes e corresponderam aos estados de pós-postura e reconversão. Os índices hepatossomáticos, como seria de esperar, foram decrescendo desde o início do ano até ao fim do período de postura (Abril) e os valores mais elevados foram observados em ambos os sexos, no período após a postura, quando as reservas hepáticas deixaram de ser utilizadas para reprodução.

No presente estudo os tamanhos da primeira maturação de machos e fêmeas foram respectivamente 19,61 e 23,65 cm e ocupando uma posição intermédia entre os referidos por Vianet (1985) para o Golfo de Lion (Mediterrâneo) - 16 cm para os machos e de 25 cm para as fêmeas - e os determinados por Deniel (1981) na Baía de Douarnenez (Atlântico), respectivamente de 24,7 e 27 cm para machos e fêmeas. Os comprimentos dos indivíduos da primeira maturação foram superiores nos exemplares do sexo feminino tanto na região de Aveiro como em outras áreas do Atlântico e Mediterrâneo.

CONCLUSÕES

- A observação macroscópica e histológica das gónadas da solha permitiu seguir a evolução do seu ciclo sexual e a elaboração de escalas de maturação sexual para cada sexo.

- A reprodução da solha teve lugar de Janeiro a Março e com maior intensidade em Fevereiro e Março.
- Os machos amadureceram ligeiramente mais cedo do que as fêmeas, iniciando assim a reprodução mais precocemente.
- Na região estudada 50% dos machos atingiram a maturação sexual com 19,61cm, quando se encontravam no grupo de idade 1+ e 50% das fêmeas estavam maduras com 23,65 cm, quando no grupo de idade 2+.

Agradecimentos

Agradecemos a Victor Bettencourt e ao pescador Raúl Maia a colaboração no trabalho de campo, e a Laurinda Paiva e Vera Sobral o apoio durante o processamento da amostragem no laboratório.

BIBLIOGRAFIA

ANDRADE, J. P. de A. e S., 1990. A importância da Ria Formosa no ciclo biológico de *Solea senegalensis* Kaup 1858, *Solea vulgaris* Quensel 1806, *Solea lascaris* (Risso, 1810) e *Microchirus azevia* (Cappello, 1868). Universidade do Algarve. Tese de Doutoramento: 410 p.

ARRUDA, L. M., 1988. Maturation cycles in the female gonad of the snipefish, *Macrorhamphosus gracilis* (Lowe, 1839) (Gasterosteiformes, Macrorhamphosidae), of the western coast of Portugal. *Investigatións Pesqueiras.*, 52 (3): 355 - 374.

DENIEL, C., 1981. Les poissons plats (Téléostéens, Pleuronectiformes) en Baie de Douarnenez. Reproduction, croissance et migration des Bothidae, Scophthalmidae, Pleuronectidae et Soleidae. Université de Bretagne Occidentale. Thèse de Doctorat; 476 p.

DRAGANIK, B., 1993. Report of the study group on the biology of Baltic flounder. ICES -C. M. 1993/J: 4.

FORBERG K. G., 1982. A histological study of development of oocytes in capelin, *Mallotus villosus villosus* (Muller). *Journal of Fish Biology.* 20: 143 - 154.

GORDO, L. P. S. DE SERRANO, 1992. Contribuição para o conhecimento da biologia e do estado de exploração do stock de boga [*Boops boops* (L., 1758)] da costa portuguesa. Universidade de Lisboa. Tese de Doutoramento; 361 p.

HUNTER, J. R.; MACEWICZ, B. J., 1985. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. In R. Lasker (editor), An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy (*Engraulis mordax*), U. S. Dep. Commer., NOAA Technical Report NMFS 36: 79-94

JORGE, I. M. F. B. S., 1999. A fauna ictiológica do estuário do Mondego. Contribuição para o conhecimento da biologia e ecologia das populações. Instituto de Investigação das Pescas e do Mar. Tese apresentada no IPIMAR para acesso à categoria de Investigador auxiliar; 228 p.

KOSIOR M.; GRYGIEL, W.; KUCZYNSKI, J., 1996. Change in the absolute fecundity of the southern Baltic flounder, *Plathichthys flesus* (L.). *Bulletin of Sea Fisheries Institute* 2 (138): 15-27 p.

LAHAYE, J., (1972) – Cycles sexuels de quelques poissons plats des cotes Bretonnes. *Revue Travail Institut Pêches Maritimes.*, 36 (2): 191 - 207.

MARTOJA, R.; MARTOJA-PIERSON, M., 1970. Técnicas de histologie animale. Masson et Cie (Ed.), Paris: 345 p.

SELMAN, K.; WALLACE, R. A., 1989. Cellular Aspects of Oocyte Growth in Teleosts. *Zoological Science* 6: 211-231.

SOBRAL M. P., 2007. A fauna ictiológica da Ria de Aveiro – distribuição espaço-temporal das comunidades e caracterização biológica dos principais Pleuronectiformes: *Solea vulgaris*, *Plathichthys flesus*, *Solea senegalensis* e *Scophthalmus rhombus*. Instituto Nacional de Investigação Agrária e das Pescas. Tese apresentada no IPIMAR para acesso à categoria de Investigador auxiliar; 227 pp.

SUMMERS, R. W., 1979. Life cycle and population ecology of flounder *Plathichthys flesus* (L.) in the Yathan estuary, Scotland. *Journal of Natural History*, 13: 703 - 723.

VAN DER LAND, M. A., 1991 – Distribution of flatfish eggs in the 1989 egg surveys in the southeastern North Sea, and mortality of plaice and soles eggs. *Netherlands Journal of Sea Research*. 27 (3/4): 277 - 286.

VIANET, R., 1985. Le flet du Golfe du Lion, *Plathichthys flesus* Linné, 1758. Systématique - Ecobiologie - Pêche. Thèse de Doctorat ; 316 p.

Tabela 1 – Escalas de maturação macroscópica e microscópica das fêmeas e respectivas características.

Estados de maturação	Descrição macroscópica	Descrição microscópica
Estado 1 Virgem	Ovários ligeiramente rosados, transparentes, de forma triangular e irrigação sanguínea ténue	Lamelas ovíferas definidas e com oócitos de forma oval ou poliédrica Núcleo bastante evidente Nucléolos situados próximo da membrana nuclear. Diâmetro médio do oócito: 61,75 µm e do núcleo: 38,5 µm
Estado 2 Em início de desenvolvimento	Ovários de maiores dimensões e translúcidos Cor rósea e vasos sanguíneos evidentes	Deposição à periferia do oócito de uma zona de aspecto granuloso, envolvendo-o completamente ou em parte Nucléolos junto à membrana nuclear Diâmetro médio do oócitos 92,9 µm e diâmetro nuclear 50,46 µm.
Estado 3 Em desenvolvimento	Ovários de cor rosa mais acentuada, menos translúcidos, e ocupando cerca de 1/3 da cavidade visceral Vasos sanguíneos da face interna mais evidentes	Citoplasma homogéneo, com pequenas gotas lipídicas nem sempre perfeitamente visíveis Oócitos ligeiramente arredondados, com teca visível e nucléolos dispostos junto à membrana nuclear Diâmetro celular médio 96,73 µm e diâmetro do núcleo 52,79 µm
Estado 4 Em desenvolvimento avançado	Ovários mais consistentes com cor rósea mais escura Vascularização nítida, ocupando mais de metade da cavidade visceral Oócitos de difícil visualização	Formação à periferia do citoplasma de vacúolos que se vão fundindo com as pequenas gotas lipídicas em direcção ao centro da célula Nucléolos dispostos ainda junto à membrana nuclear Diâmetro do oócito 102,25 µm e do núcleo 54,28 µm
Estado 5 Pré-postura	Coloração rosada e oócitos visíveis Gónadas ocupam toda a cavidade visceral e vasos sanguíneos evidentes na face interna	Início da deposição dos grânulos de vitelo Aumento acentuado do diâmetro dos oócitos devido ao incremento do número de grânulos e do seu tamanho Radiata ainda pouco espessada Diâmetro celular 174,73 µm e nuclear 63,34 µm
Estado 6 Postura	Presença de oócitos hialinos que em fase final enchem toda a gónada Vascularização pouco acentuada	Radiata bastante espessa mostrando a sua estrutura estriada Núcleo de contorno irregular e em migração para o polo animal da célula Diâmetro médio do oócito 361 µm Aumento do tamanho do oócito devido à fusão das substâncias lipídicas e proteicas e há hidratação Radiata menos espessa
Estado 7 Pós-postura	Ovários vazios, flácidos, cor rosada e manchas hemorrágicas à superfície Oócitos residuais nem sempre perfeitamente visíveis	Lamelas ovíferas vazias, desorganizadas Oócitos residuais em degeneração Presença de oócitos dos estados iniciais de desenvolvimento Parede do ovário espessa e pregueada
Estado 8 Em reconversão	Ovários rosados e de reduzidas dimensões Vasos sanguíneos da face interna esbranquiçados Mais consistentes e de maiores dimensões do que os em início de desenvolvimento	Lamelas ovíferas com uma certa reorganização e com oócitos do estado 1 e do início do estado 2. Os ovários deste estado distinguem-se dos no estado 2 devido à parede mais espessada e à presença de feixes de tecido conjuntivo projectando-se para o lúmen

Tabela 2 – Escala de maturação macroscópica e microscópica dos machos e respectivas características.

Estados de maturação	Descrição macroscópica	Descrição microscópica
Estado 1 Virgem	Testículos alongados e de pequenas dimensões Esbranquiçados ou ligeiramente rosados	Túbulos seminíferos ainda não perfeitamente nítidos Presença de células germinais e espermatogónias
Estado 2 Início de desenvolvimento	Testículos translúcidos e em forma de rim Vascularização sanguínea visível na face interna	Túbulos perfeitamente individualizados e rodeados de uma camada espessa de tecido intersticial Espermatogónias abundantes Espermatócitos primários junto ao espermiducto
Estado 3 Em desenvolvimento	Gónadas de coloração rósea, opacas e consistentes Vascularização evidente	Diminuição acentuada do tecido conjuntivo Túbulos individualizados e com abundantes espermatócitos primários Espermatócitos secundários presentes junto ao espermiducto
Estado 4 Em desenvolvimento avançado	Aspecto macroscópico semelhante ao do estado anterior Testículos mais volumosos e com manchas esbranquiçadas na superfície	Túbulos ainda individualizados Espermatócitos secundários já evidentes nos túbulos mais à periferia do testículo Espermatogónias raras e localizadas mais junto à periferia Espermatídios e espermatozoides presentes quer junto ao espermiducto quer na região central do testículo
Estado 5 Pré-postura	Testículos com coloração leitosa, muito desenvolvidos e pouco consistentes	Túbulos seminíferos preenchidos praticamente com espermatídios e espermatozoides Presença de grupos de espermatócitos primários e secundários Espermatogónias raras e localizadas à periferia
Estado 6 Postura	Testículos cor branca leitosa, com espermiducto cheio de esperma que sai por leve pressão	Túbulos repletos de espermatozoides formando uma massa contínua À medida que a postura se processa os túbulos vão-se tornando mais evidentes
Estado 7 Pós-postura	Testículos com restos de esperma e vascularizados Flácidos, pouco volumosos e achatados	Presença de espermatozóides residuais e túbulos vazios Aumento do tecido intersticial Espermatogónias isoladas
Estado 8 Reconversão	Translúcidos, coloração rosada Mais compactos e irrigados do que no estado 2	Tecido intersticial muito desenvolvido e restos de espermatozóides Espermatogónias isoladas ou em pequenos grupos Numa fase mais avançada os túbulos encontram-se reorganizados e com camada espessa de tecido intersticial que os permite distinguir dos no estado 2