

RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

**ESCALA DE MATURAÇÃO MACROSCÓPICA E
MICROSCÓPICA DO VERDINHO
(*Micromesistius poutassou*)**

**Patrícia Gonçalves, Ana M. Costa, Ana Luísa Ferreira,
Adelaide Resende, Carmo Nunes Silva, Paula Abreu e
Pedro Pechirra**

2022

36

Relatórios Científicos e Técnicos do IPMA - Série Digital

Destinam-se a promover de forma simples e acessível a divulgação de resultados de carácter científico e técnico, resultantes das atividades 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 tem, para além desta, como público-alvo, as diversas fileiras de atividade económica e ainda a sociedade em geral, podendo os trabalhos serem escritos em português, francês ou inglês.

Temas e Corpo Editorial:

Meteorologia

Diamantino Henriques, Lourdes Bugalho

Sismicidade, Geomagnetismo e Tsunamis

Célia Marreiros, Jorge Cruz

Clima, Variabilidade e Alterações Climáticas

Emília Salgueiro, Sílvia Antunes

Biogeoquímica e Geologia Marinha

Mário Mil-Homens, Vítor Magalhães

Estrutura e Dinâmica dos Ecossistemas Marinhos e de Águas de Transição

André Gonçalves, Teresa Moura, Victor Henriques

Biologia, Ecologia e Exploração de Recursos Vivos Marinhos

Rogélia Martins, Rui Coelho

Aquacultura

Laura Ribeiro, Paula Ramos

Qualidade e Valorização do Pescado e outros Produtos Marinhos

Amparo Gonçalves, Carla Pires

Contaminação, Salubridade e Segurança Alimentar

Helena Silva, Miguel Caetano

Desenvolvimentos Tecnológicos Laboratoriais, de Análise e de Monitorização

Corina Chaves, Susana Rodrigues

Coordenação: Maria Manuel Angélico, Francisco Ruano, Irineu Batista

Edição digital e capa: Conceição Almeida

ISSN: 2183-2900

Instruções para os autores

<http://ipma.pt> ou através do endereço rct@ipma.pt

Edição

IPMA - Instituto Português do Mar e da Atmosfera; Rua C, Aeroporto de Lisboa; 1749-007 Lisboa, Portugal

Todos os direitos reservados

ESCALA DE MATURAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA DO VERDINHO

(*Micromesistius poutassou*)

Patrícia Gonçalves, Ana M. Costa, Ana Luísa Ferreira, Adelaide Resende², Carmo Nunes Silva, Paula Abreu, Pedro Pechirra

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera, Av. Alfredo Magalhães Ramalho, 1495-165, Algés

Recebido em: 21/10/2021

Aceite em: 29/04/2022

Resumo

O verdinho (*Micromesistius poutassou*) é um teleósteo mesopelágico, da família dos gadídeos e amplamente distribuído ao longo do Atlântico Norte e Mediterrâneo. Na costa Portuguesa, a época principal de desova para esta espécie ocorre entre janeiro e março. No IPMA, a amostragem biológica de verdinho é realizada regularmente em amostras provenientes das rejeições recolhidas a bordo da frota comercial, dos desembarques em lota (Peniche, Matosinhos e Vila Real de St. António) e das campanhas de investigação científicas. Relativamente ao ciclo reprodutivo, a identificação dos estados de maturação é feita macroscopicamente durante a amostragem biológica. A escala de maturação atualmente em uso no IPMA e aplicada ao verdinho é a sugerida por Godinho et al. (2001) que foi desenvolvida com base apenas em observações e descrições macroscópicas, sem validação microscópica. Este estudo tem como objetivo, descrever microscopicamente a morfologia das gónadas ao longo do ciclo reprodutivo, validar e intercalibrar as identificações macroscópicas com base na histologia e ainda propor uma nova escala de maturação macroscópica tendo em conta as características microscópicas e macroscópicas das diversas fases do ciclo de desenvolvimento sexual.

Palavras chave: Verdinho, *Micromesistius poutassou*, histologia, identificação macroscópica, escala maturação microscópica, escala maturação macroscópica.

Title: Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) macroscopic and microscopic maturity stage key

Abstract

Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) is a mesopelagic teleost, of the gadidae family and widely distributed along the Atlantic North and Mediterranean. On the Portuguese coast, the main spawning season for this species occurs between January and March. At IPMA, the biological sampling of blue whiting is carried out regularly, in samples from discards collected onboard commercial vessels, fishing landings (Peniche, Matosinhos e Vila Real de St. António) and from scientific research surveys. Regarding the reproductive cycle, the identification of the maturity stages is made macroscopically during biological sampling. The maturity stage key currently in use at IPMA and applied to blue whiting is of the one suggested by Godinho et al. (2001), which was developed only based on macroscopic observations and descriptions, without microscopic validation. This study aims to microscopically describe the morphology of the gonads throughout the reproductive cycle for blue whiting, to validate and intercalibrate the macroscopic identifications based on histology and also to propose a new macroscopic maturity stage key taking into account the microscopic and macroscopic characteristics of the different stages from the sexual development cycle.

Keywords: Blue whiting, *Micromesistius poutassou*, histology, macroscopic identification, microscopic maturity scale, macroscopic maturity scale.

Referência bibliográfica: GONÇALVES, P.; COSTA, A.M.; FERREIRA, A.L.; RESENDE, A.; NUNES SILVA, C.; ABREU, P.; PECHIRRA, P. 2022. Escala de maturação macroscópica e microscópica do verdinho (*Micromessius poutassou*).

Relatórios Científicos e Técnicos do IPMA (<http://ipma.pt>) n° 36, 40pp.

1. Introdução

O verдинho (*Micromesistius poutassou*) é um teleósteo mesopelágico, da família dos gadídeos, amplamente distribuído ao longo Atlântico Norte e Mediterrâneo (Bailey, 1982; Monstad, 1990; ICES, 2021). Esta espécie é avaliada no âmbito do Conselho Internacional para a Exploração do Mar (ICES) como uma única unidade populacional/stock ao longo do Nordeste Atlântico (NEA), cuja distribuição compreende as áreas ICES 27.1 a 27.9, 27.12 e 27.14 (ICES, 2021) e na qual o IPMA participa. Apesar de estar indicado como uma única unidade populacional, vários estudos indicam a existência de duas componentes populacionais distintas ao longo da área de distribuição do NEA, cuja separação se situa na latitude do Banco de Porcupine (na costa Oeste da Irlanda) (e.g. Mork and Giæver, 1995; Giæver and Stein, 1998; Ryan et al., 2005; Keating et al., 2014; Pointin and Payne, 2014; Mahe et al., 2016).

O verдинho, ao longo da costa continental Portuguesa (área ICES 27.9.a), apresenta uma distribuição em comprimento estratificada em função da profundidade, sendo os indivíduos mais pequenos (12cm-24cm) encontrados maioritariamente a uma profundidade entre os 200 e os 300m, enquanto que os maiores (>24cm) em águas mais profundas, entre os 400 e os 500m. Esta espécie apresenta também dimorfismo sexual após o início da maturação, com as fêmeas a atingirem comprimentos maiores do que os machos. Contudo, numa fase inicial a taxa de crescimento é descrita como sendo superior nos machos em todo o NEA, com uma única exceção nos do Mar do Norte. O pico principal de desova é em fevereiro na costa Portuguesa e em abril na costa da Irlanda (considerada a área de desova principal para o stock único). A época principal de desova para esta espécie ao longo da costa Portuguesa é entre janeiro e março (Gonçalves et al., 2017).

No IPMA, é realizada a amostragem biológica regular de verдинho em amostras provenientes das rejeições recolhidas a bordo da frota comercial, dos desembarques em lota (Peniche, Matosinhos e Vila Real de St. António) e das campanhas de investigação científicas. Durante o processo de amostragem biológica os exemplares são classificados de acordo com o seu estado de maturação sexual. Para esse efeito é utilizada a escala de maturação proposta por Godinho et al. (2001), desenvolvida com base em observações e descrições macroscópicas das gónadas, sem validação microscópica.

Este estudo tem como objetivos: descrever microscopicamente a morfologia das gónadas ao longo do ciclo reprodutivo do verдинho; validar e intercalibrar as classificações macroscópicas com base na histologia; e propor uma nova escala de maturação macroscópica tendo em conta as características microscópicas e macroscópicas das diversas fases do ciclo de desenvolvimento sexual.

2. Material e Métodos

As amostras de verdimho utilizadas neste estudo foram provenientes de: (i) campanha demersal de outubro de 2016 a bordo do N.I. “Noruega”; e (ii) desembarques da lota de Peniche, recolhidas em fevereiro de 2019, março de 2019, de 2020 e de 2021. Os indivíduos foram medidos (comprimento total em centímetros), pesados (peso total em gramas), foi identificado o sexo, e determinado o estado de maturação macroscópico de acordo com a escala de maturação de cinco estados descrita em Godinho et al., 2001 (Anexo I). Em ambas as amostragens [(i) e (ii)], todo o procedimento foi realizado com as amostras ainda em fresco. As gónadas recolhidas nas amostras de desembarques (ii), foram fotografadas para posterior descrição dos estados macroscópicos, após validação.

Durante a amostragem, as gónadas foram recolhidas e fixadas em formol tamponado com sais fosfato a 4% (Hunter, 1985).

De cada gónada foi cortada uma secção transversal de cerca de 0,5cm, na zona central de um dos lóbulos. Esta secção foi colocada numa cassete histológica. As cassetes foram colocadas no processador de tecidos onde ocorreu a desidratação, diafanização e a inclusão em parafina, pela passagem em sucessivos banhos de álcool de gradientes crescentes, xilol e parafina líquida (Anexo II).

Posteriormente foram feitos os blocos de parafina. Nos blocos foi utilizada parafina com ponto de fusão 56°- 58°C. Depois de arrefecidos os blocos, procedeu-se à realização dos cortes com uma espessura de 3 µm, utilizando um micrótopo rotativo manual. As lâminas com os cortes foram colocadas na estufa a uma temperatura de 52°C durante pelo menos 12 horas, para que ocorresse a desparafinação e a fixação do corte na lâmina. No processo de coloração, as lâminas foram submetidas a banhos de xilol para terminar a desparafinação dos cortes que foram posteriormente hidratados e corados com Hematoxilina-Eosina, desidratados e diafanizados (Anexo III). As preparações definitivas foram montadas com meio de montagem Entellan®. Depois de secas, as lâminas foram limpas do excesso de Entellan® para posterior observação ao microscópio ótico.

As lâminas foram observadas ao microscópio e os estados de maturação microscópicos foram atribuídos de acordo com o estado de desenvolvimento dos gâmetas, com a estrutura interna e a organização das células dentro das gónadas (ovários e testículos): Estado 1 – Imaturo; Estado 2 – Desenvolvimento; Estado 3 – Pré-desova; Estado 4 – Desova; Estado 5 – Pós-desova e Estado 6 - Repouso.

A análise estatística dos dados e a apresentação dos resultados foram realizadas em linguagem S, através da utilização do software R (R Core Team, 2019).

3. Resultados

A composição de cada amostra, com a indicação da distribuição em peso e do número de indivíduos de cada sexo classificado em cada estado de maturação macroscópico /microscópico encontra-se descrita na tabela seguinte (Tabela 1):

Tabela 1. Para cada amostra (campanha demersal de outono de 2016 e lota de Peniche) é indicado o número de indivíduos recolhidos de cada sexo; a distribuição de comprimentos (cm), com indicação do comprimento mínimo e do comprimento máximo observados; o peso total dos indivíduos amostrados, com indicação do peso mínimo e do peso máximo; a distribuição dos estados de maturação macroscópicos em cada amostra e indicação do número de indivíduos em cada estado; e a distribuição dos estados de maturação microscópicos observados em cada amostra e indicação do número de indivíduos identificados em cada estado resultante da observação das preparações histológicas.

Table 1. For each sample (2016 autumn demersal survey and Peniche auction) is indicated the number of individuals collected for each sex; the length distribution (cm), indicating the minimum and maximum lengths observed; the total weight of the sampled individuals, with indication of the minimum and maximum weight; the distribution of the macroscopic developmental stages in each sample and an indication of the number of individuals at each stage; and the distribution of microscopic developmental stages observed in each sample and an indication of the number of individuals identified at each stage based on the observation of the histological preparations.

Amostra	Sexo	Número de indivíduos (n)	Comprimento (cm) (min – máx)	Peso Total (g) (min – máx)	Estado de maturação macroscópico (n)	Estado de maturação microscópico (n)
Campanha demersal outono 2016	F	10	19.1 – 24.5	38.0 - 96.0	1(4); 2(6)	1(7); 6(3)
	M	8	19.6 - 21.7	40.0 – 65.0	1(1); 2(7)	1(8)
Lota de Peniche	F	34	18.3 – 27.3	37.3 – 127.0	2(7); 3(23); 4(2); 5(2)	2(5); 3(15); 5(12); 6(2)
	M	15	17.9 – 27.2	32.2 – 99.9	1(1); 2(12); 3(2)	1(2); 3(6); 4(6); 5(1)

A amostra proveniente da campanha demersal de outono, apresenta os indivíduos mais pequenos e uma menor variação dos estados de maturação macroscópicos e microscópicos, comparativamente com a amostra da lota de Peniche. A maioria dos indivíduos, quer fêmeas quer machos, na campanha demersal foi classificado em estado de maturação 2 (desenvolvimento) (ver detalhes em Anexo I). No entanto, com base na histologia nenhum destes indivíduos se encontrava em estado de desenvolvimento.

3.1 Estados de maturação macroscópicos *versus* estados de maturação microscópicos

3.1.1 Descrição dos estados de maturação microscópicos

A descrição e classificação dos estados de maturação microscópicos do verdinho foi efetuada tendo como base os critérios descritos em estudos anteriores e aplicados a outras espécies de teleósteos (Domínguez-Petit et al., 2017, Gonçalves et al., 2004, Hunter e Macewicz, 1985). A avaliação microscópica dos cortes

histológicos permitiu caracterizar os diferentes estados de maturação do verdinho (Secção 3.1.2 - fêmeas e 3.1.3 - machos). No anexo IV apresenta-se a escala de maturação microscópica resumida e aplicada ao verdinho.

3.1.2 Fêmeas

3.1.2.1 Estado 1 – IMATURO

Ovários pequenos, com paredes finas, bem organizados e os septos ováricos formados na direção do lúmen. Presença de oogónias - células com um núcleo grande (que pode conter um nucléolo) rodeado por uma camada estreita de citoplasma - e oócitos primários - gónada imatura (Figura 1).

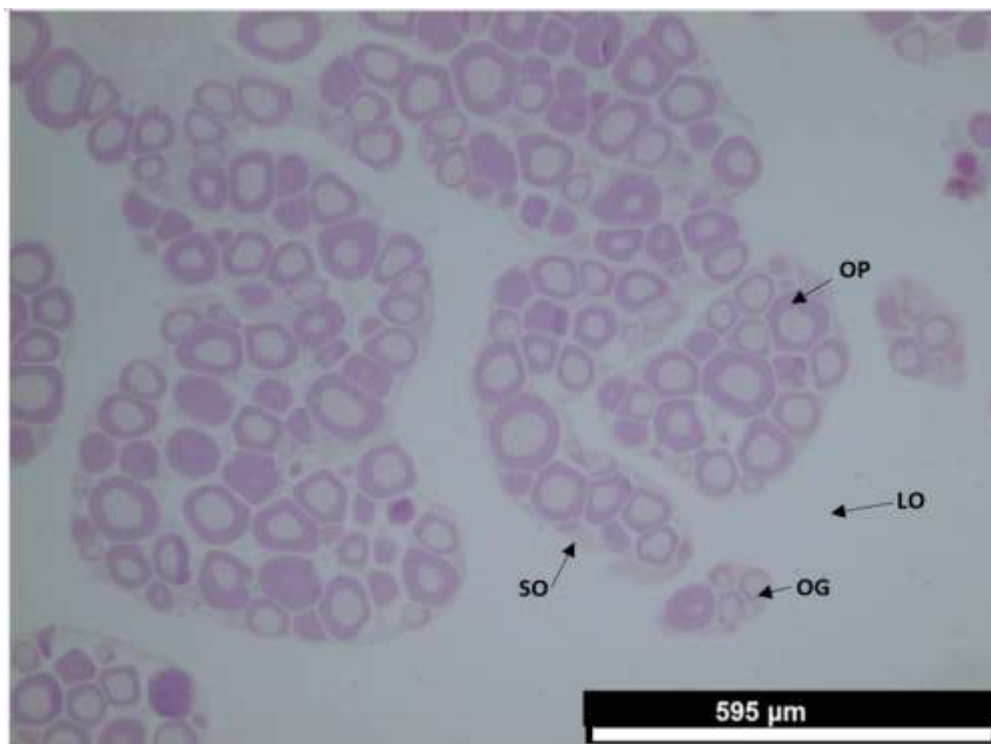


Figura 1. Aspeto microscópico de uma gónada feminina em estado imaturo. OG- oogónia; OP – oócitos primários; SO – septos ováricos; LO – lúmen do ovário.

Figure 1. Microscopic aspect of a female gonad at the immature stage. OG- oogonia; OP – primary oocytes; SO – ovarian septa; LO – ovary lumen.

3.1.2.2 Estado2 – DESENVOLVIMENTO

No estado de desenvolvimento encontram-se oócitos primários, maiores do que os do estado anterior (imaturo). Maioritariamente a gónada apresenta oócitos com gotas lipídicas visíveis no citoplasma, correspondendo ao início da vitelogénese com um grande núcleo e também a presença de oócitos com pequenos vacúolos, os alvéolos corticais, situados na periferia do citoplasma (Figura 2). Neste estado pode ocorrer a presença de alguns oócitos atréticos na gónada, que indicam que esta fêmea já passou pelo processo de desova e alguns dos oócitos vitelados estão em reabsorção, atrésia (Figura 3).

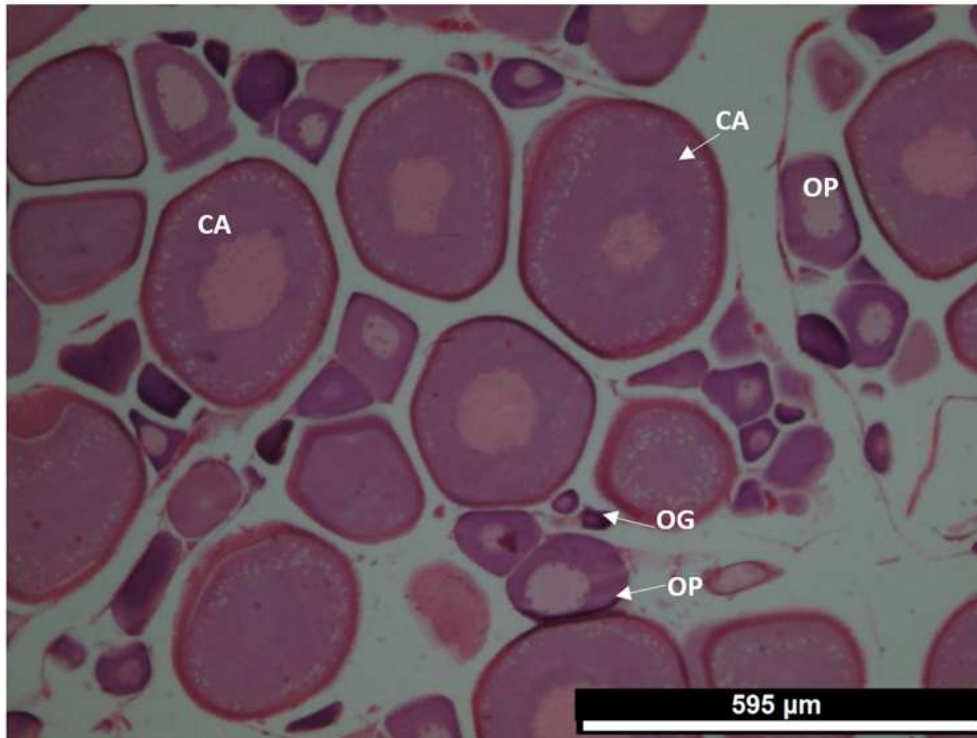


Figura 2. Aspecto microscópico de uma gónada feminina em estado de desenvolvimento. OG- oogónia; OP – oócitos primários; CA – oócitos vitelados com alvéolos corticais.

Figure 2. Microscopic aspect of a female gonad at the development stage. OG- oogonia; OP – primary oocytes; CA – vitellogenic oocytes with cortical alveoli.

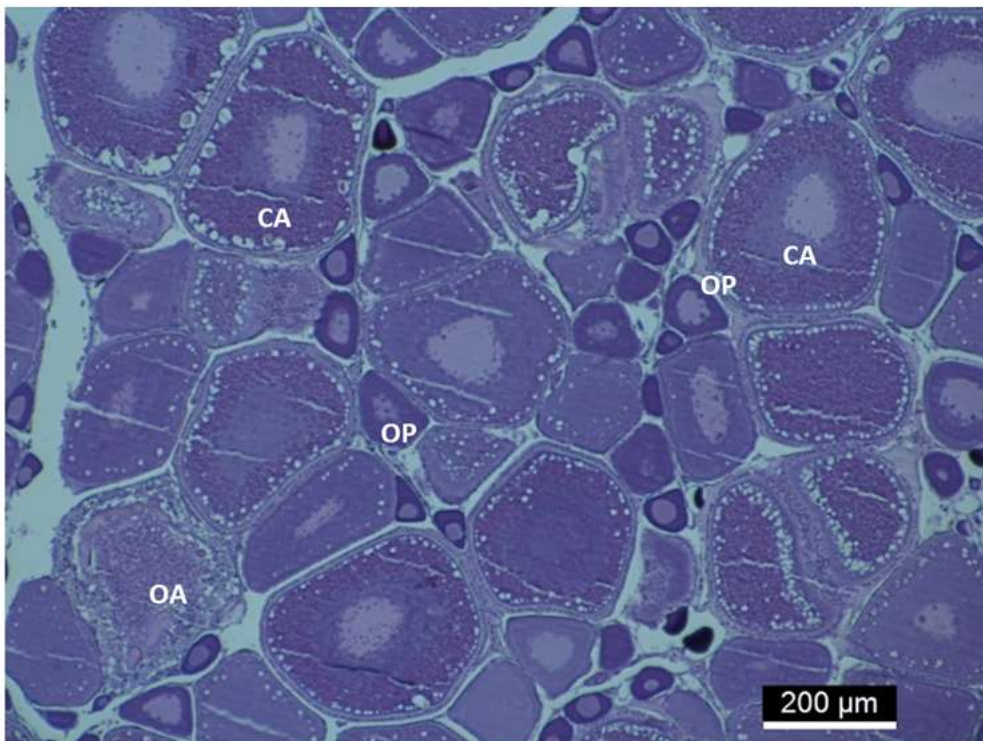


Figura 3. Aspecto microscópico de uma gónada feminina em estado de desenvolvimento. OP – oócitos primários; CA – oócitos vitelados com alvéolos corticais; OA – oócitos atréticos.

Figure 3. Microscopic aspect of a female gonad at the development stage. OP – primary oocytes; CA – vitellogenic oocytes with cortical alveoli; OA- atretic oocytes.

3.1.2.3 Estado 3 – PRÉ-DESOVA

No estado de pré-desova a gónada apresenta uma grande quantidade de oócitos vitelados, em que são visíveis os grânulos de vitelo e gotas lipídicas no citoplasma. Na fase mais avançada as gotas lipídicas fundem-se, formando placas de vitelo situadas de um dos lados do núcleo. Finalmente, estas placas fundem-se numa única, que empurra o núcleo para a periferia do oócito, os oócitos nesta fase são denominados de núcleos migrados. Continuam ainda presentes oócitos nas fases anteriores (Figura 4 e Figura 5).

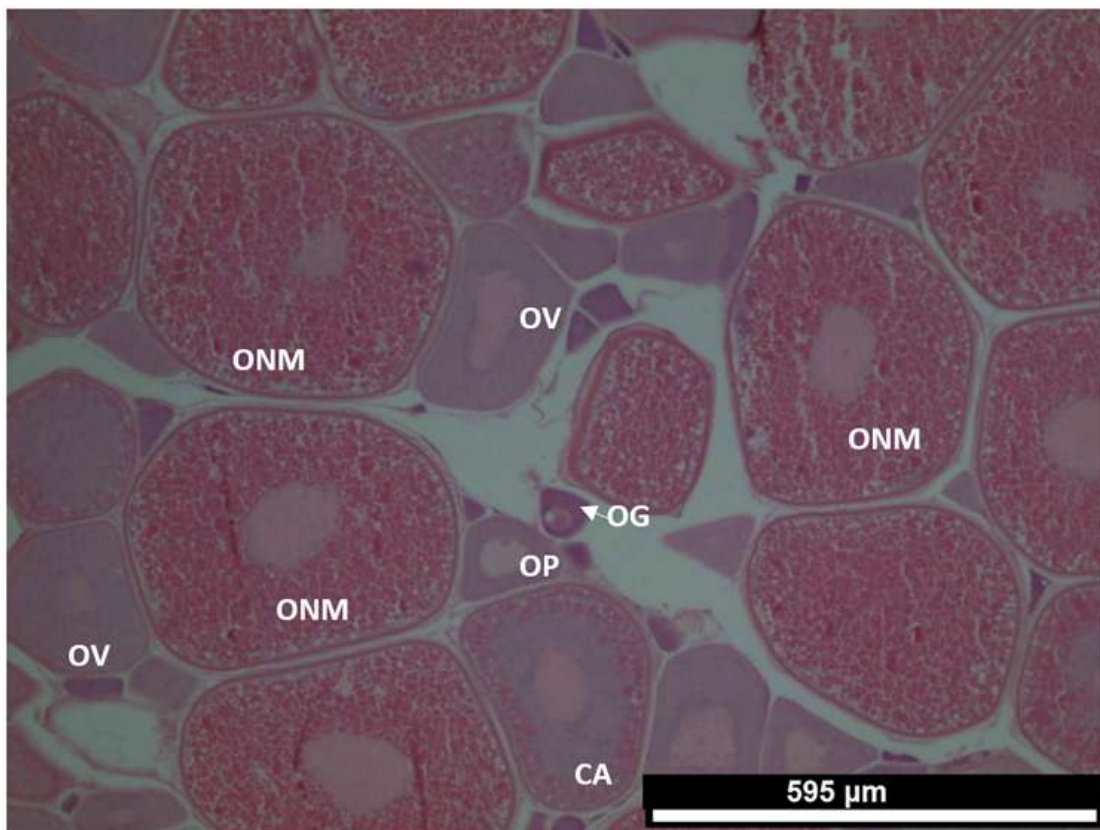


Figura 4. Aspeto microscópico de uma gónada feminina em estado de pré-desova. OG – oogónia; OP – oócitos primários; OV – oócitos em início de vitelogénese; CA – oócitos vitelados com alvéolos corticais; ONM – oócitos em fase de núcleo migrado (fase inicial).

Figure 4. Microscopic aspect of a female gonad at pre-spawning stage. OG – oogonia; OP – primary oocytes; OV – oocytes at the beginning of vitellogenesis; CA – vitellogenic oocytes with cortical alveoli; ONM – oocytes at migratory nucleus stage (initial phase).

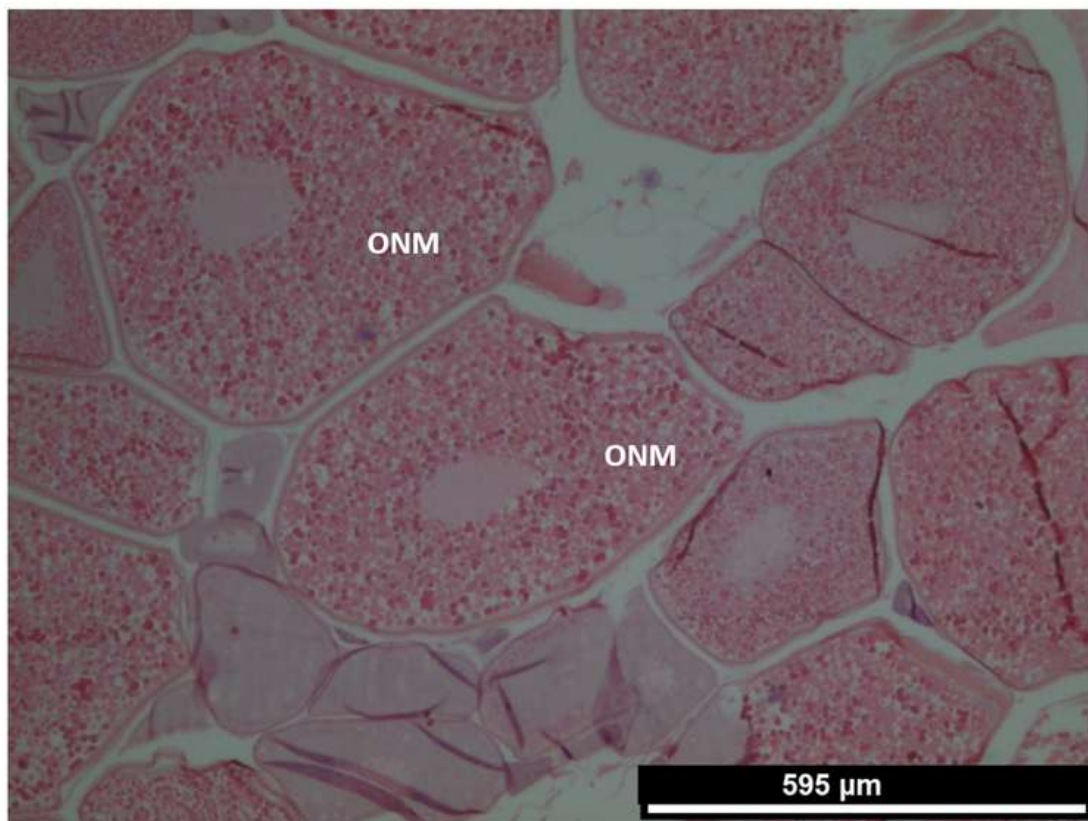


Figura 5. Aspeto microscópico de uma gónada feminina em estado de pré-desova. ONM – oócitos em fase de núcleo migrado (fase mais avançada).

Figure 5. Microscopic aspect of a female gonad at pre-spawning stage. ONM – oocytes at migratory nucleus stage (more advanced phase).

3.1.2.4 Estado 4 – DESOVA

A gónada no estado de desova apresenta a maioria dos oócitos em estado de hidratação final, denominados de oócitos hidratados. Nesta fase os oócitos, devido ao excesso de hidratação, quando observados na preparação microscópica, apresentam uma forma irregular porque durante o processamento histológico (na fase de desidratação) perdem a forma esférica que os caracteriza macroscopicamente (Figura 6). Encontram-se ainda presentes outros oócitos em estado de desenvolvimento anterior.

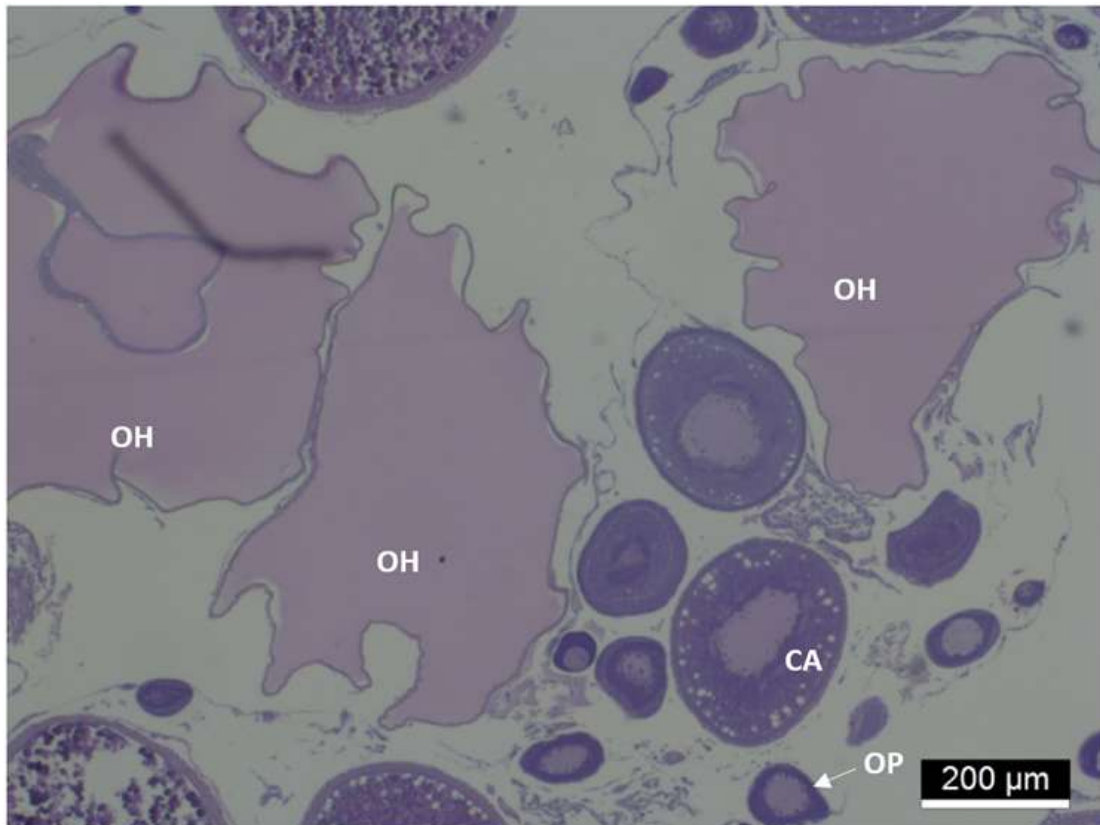


Figura 6. Aspeto microscópico de uma gónada feminina em estado de desova. OH - oócitos hidratados; OP – oócitos primários; CA – oócitos vitelados com alvéolos corticais.

Figure 6. Microscopic aspect of a female gonad at spawning stage. OH – hydrated oocytes; OP – primary oocytes; CA – vitellogenic oocytes with cortical alveoli.

3.1.2.5 Estado 5 – PÓS-DESOVA

A fase de pós-desova caracteriza-se pela presença de folículos pós-ovulatórios (POFs) na gónada, resultantes do processo de desova após a libertação dos oócitos hidratados. São ainda visíveis na gónada alguns oócitos nos estados de desenvolvimento anteriores, podendo ainda ser visíveis alguns/poucos oócitos hidratados (indicação de desova recente). Podem também ser visíveis na gónada oócitos atréticos e vasos sanguíneos (Figura 7).

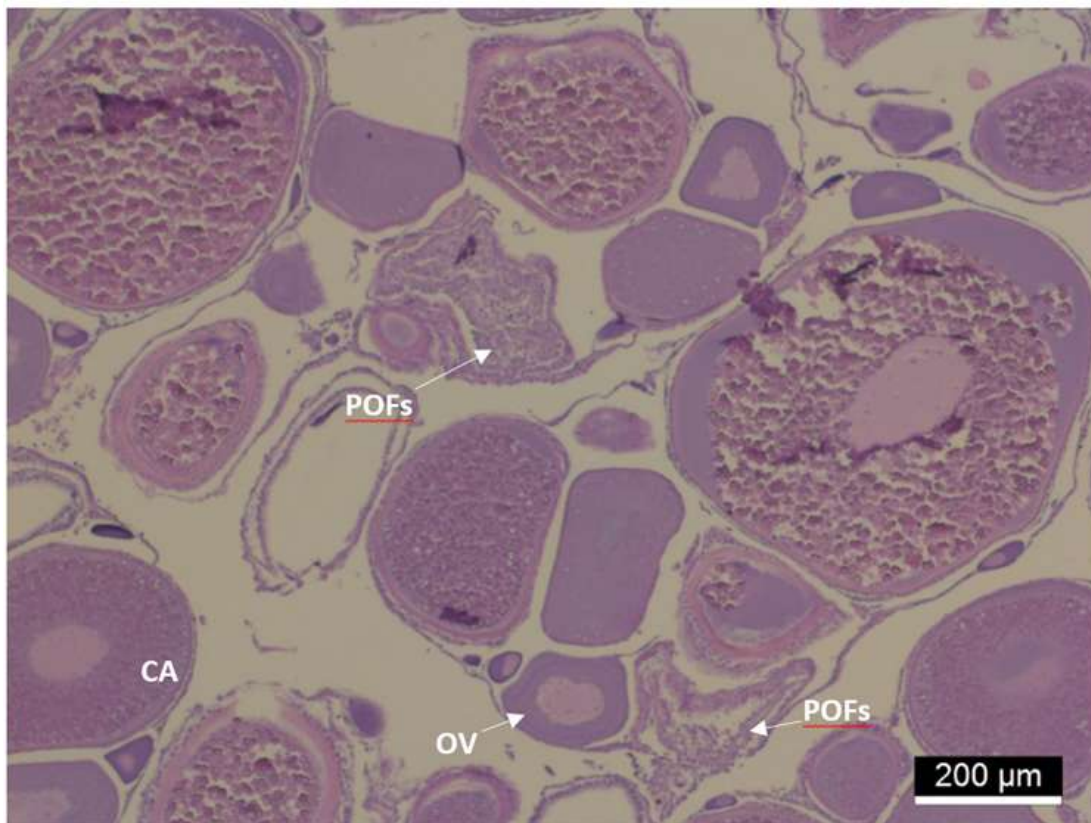


Figura 7. Aspeto microscópico de uma gónada feminina em estado de pós-desova. POFs – folículos pós-ovulatórios; OV – oócitos em início de vitelogénese; CA – oócitos vitelados com alvéolos corticais.

Figure 7. Microscopic aspect of a female gonad at post-spawning stage. POFs – post-ovulatory follicles; OV – oocytes at the beginning of vitellogenesis; CA – vitellogenic oocytes with cortical alveoli.

3.1.2.6 Estado 6 – REPOUSO

Os ovários em estado de repouso apresentam a membrana com as paredes espessas, os oócitos presentes apresentam um aspeto desorganizado dentro dos septos ováricos e são visíveis espaços vazios. Presença de oócitos em estado de atresia (Figura 8).

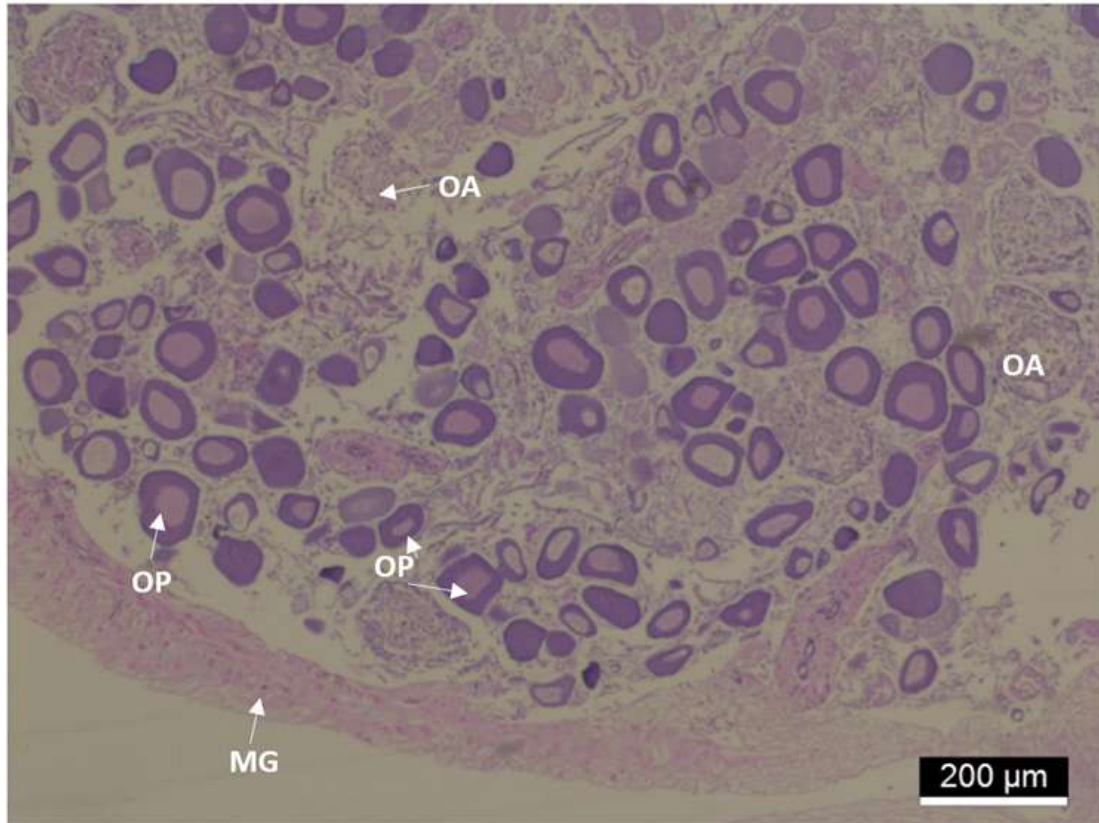


Figura 8. Aspeto microscópico de uma gónada feminina em estado de repouso. OP – oócitos primários; OA – oócitos atréticos; MG – membrana da gónada.

Figure 8. Microscopic aspect of a female gonad at resting stage. OP – primary oocytes; OA – atretic oocytes; MG – gonad membrane.

3.1.3 Machos

3.1.3.1 Estado 1 – IMATURO

Na gónada masculina, no estado imaturo, é visível o tecido intersticial sem túbulos seminíferos nem cistos, e com a presença de espermatogónias - células redondas, pouco coradas e onde se pode identificar o nucléolo. A membrana da gónada é fina (Figura 9).

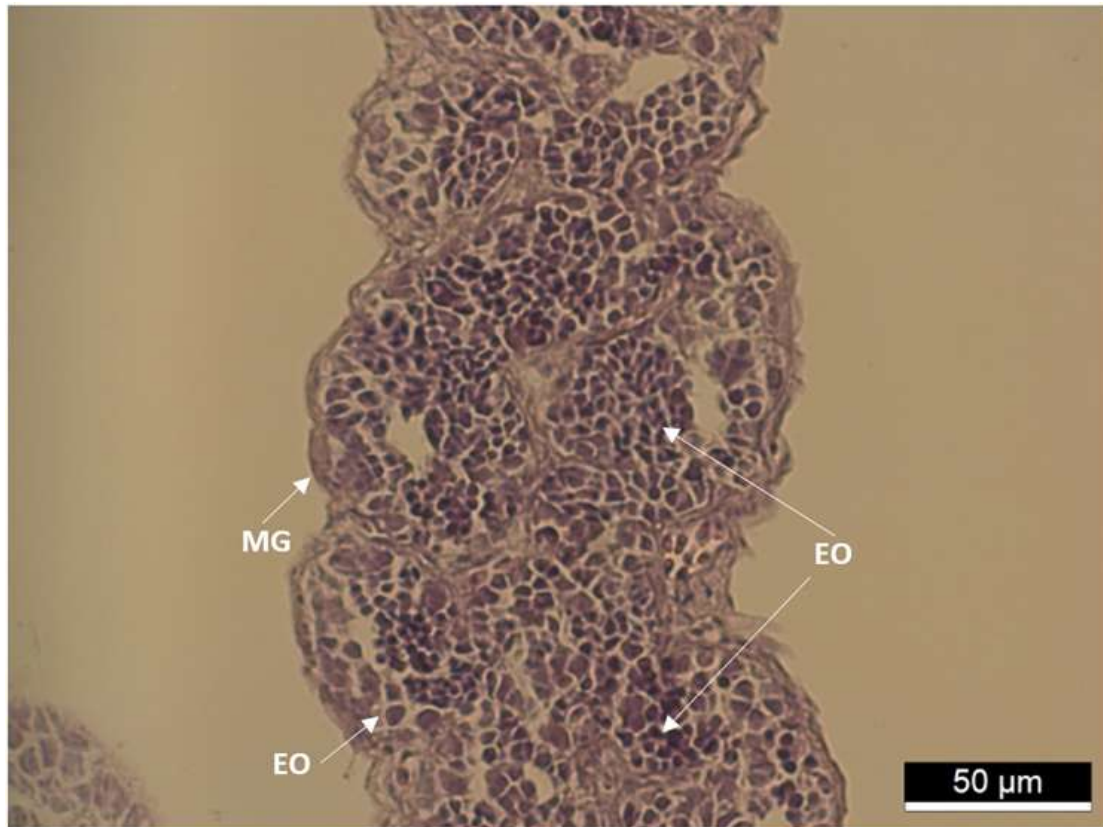


Figura 9. Aspeto microscópico de uma gónada masculina em estado imaturo. EO – espermatogónias; MG – membrana da gónada.

Figure 9. Microscopic aspect of a male gonad at immature stage. EO - spermatogonia; MG – gonad membrane.

3.1.3.2 Estado 2 – DESENVOLVIMENTO

A gónada em desenvolvimento apresenta os tubos seminíferos já individualizados onde, além das espermatogónias já se identificam outras células esféricas, de menores dimensões os espermatócitos (Figura 10).

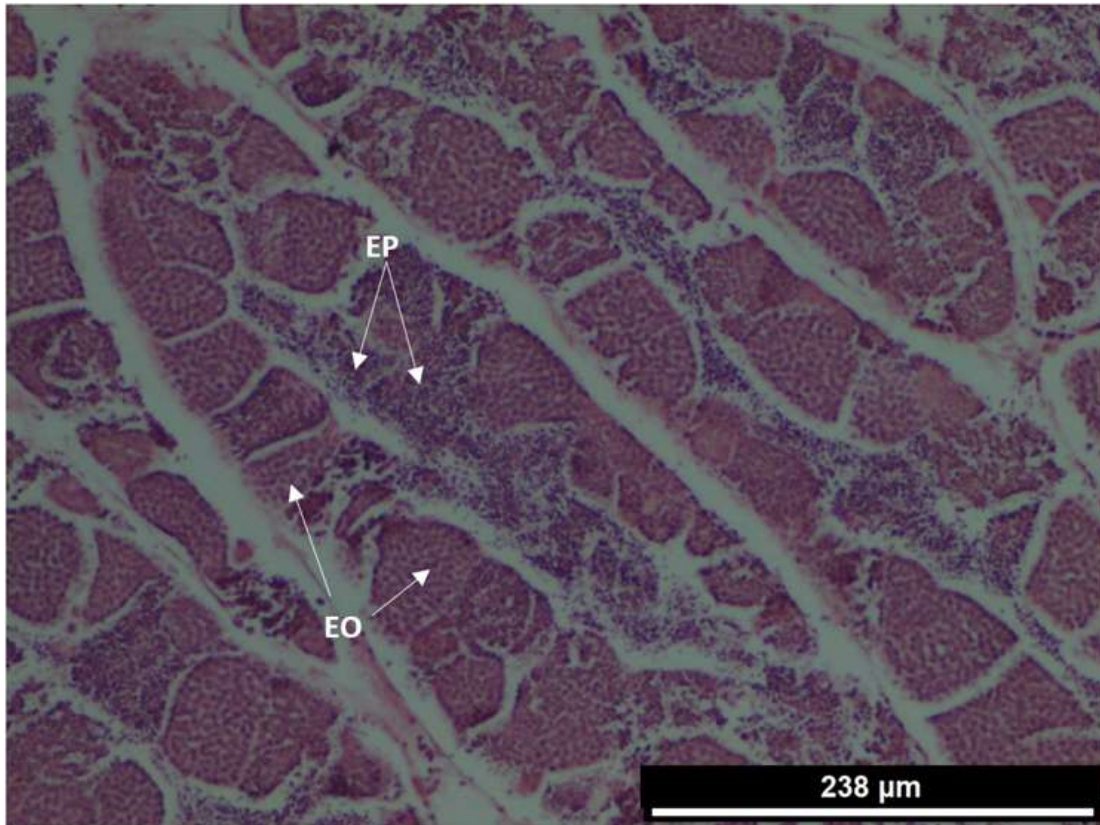


Figura 10. Aspeto microscópico de uma gónada masculina em estado de desenvolvimento. EP-espermatócitos; EO – espermatogónias.

Figure 10. Microscopic aspect of a male gonad at development stage. EP – spermatocytes; EO – spermatogonia.

3.1.3.3 Estado 3 – PRÉ-DESOVA

A gónada masculina no estado de pré-desova apresenta os tubos seminíferos com espermatócitos e espermatídeos - células igualmente esféricas, mas menores que as anteriores. Neste estado, é possível identificar espermatozóides nos cistos dos tubos seminíferos, mas em número reduzido (Figura 11).

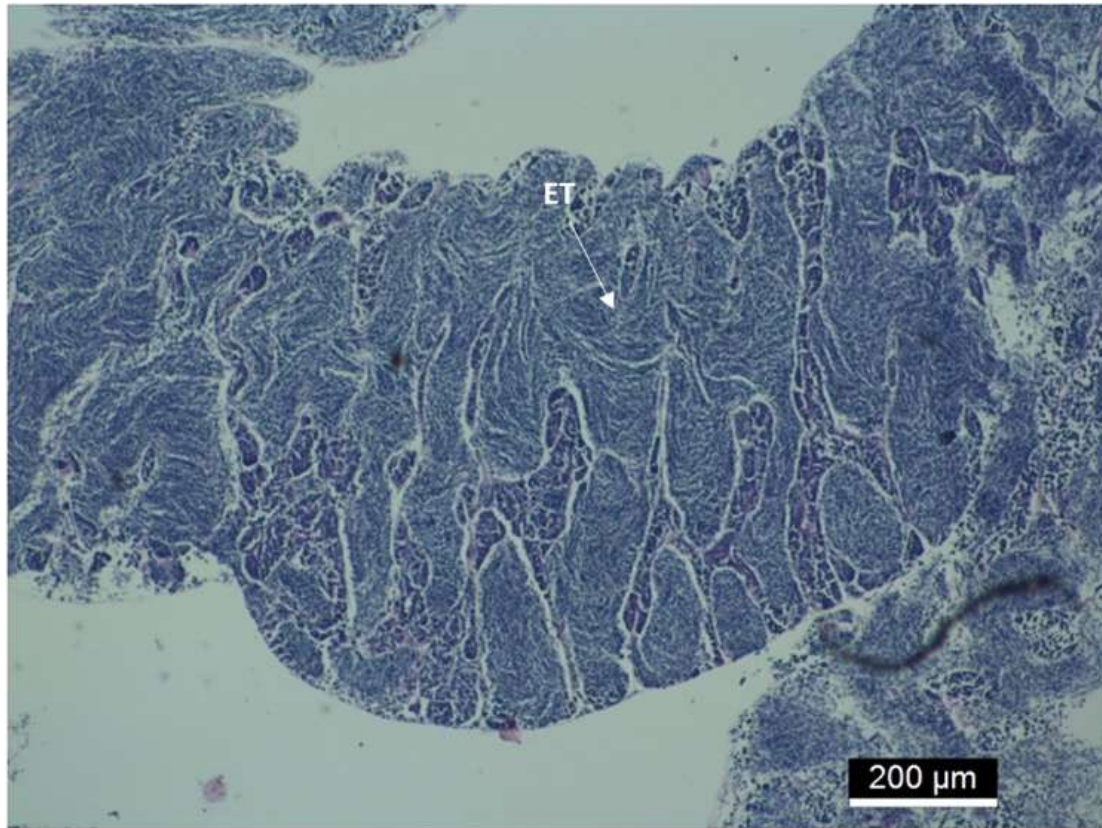


Figura 11. Aspeto microscópico de uma gónada masculina em estado de pré-desova. ET - espermatídeos.
Figure 11. Microscopic aspect of a male gonad at pre-spawning stage. ET – spermatids.

3.1.3.4 Estado 4 – DESOVA

As gónadas masculinas em estado de desova apresentam os tubos seminíferos com o lúmen cheio de espermatozoides, células esféricas, mas muito mais pequenas do que as anteriores e com uma cauda. Ainda podem estar presentes algumas células dos estados anteriores, mas em número muito pequeno (Figura 12).

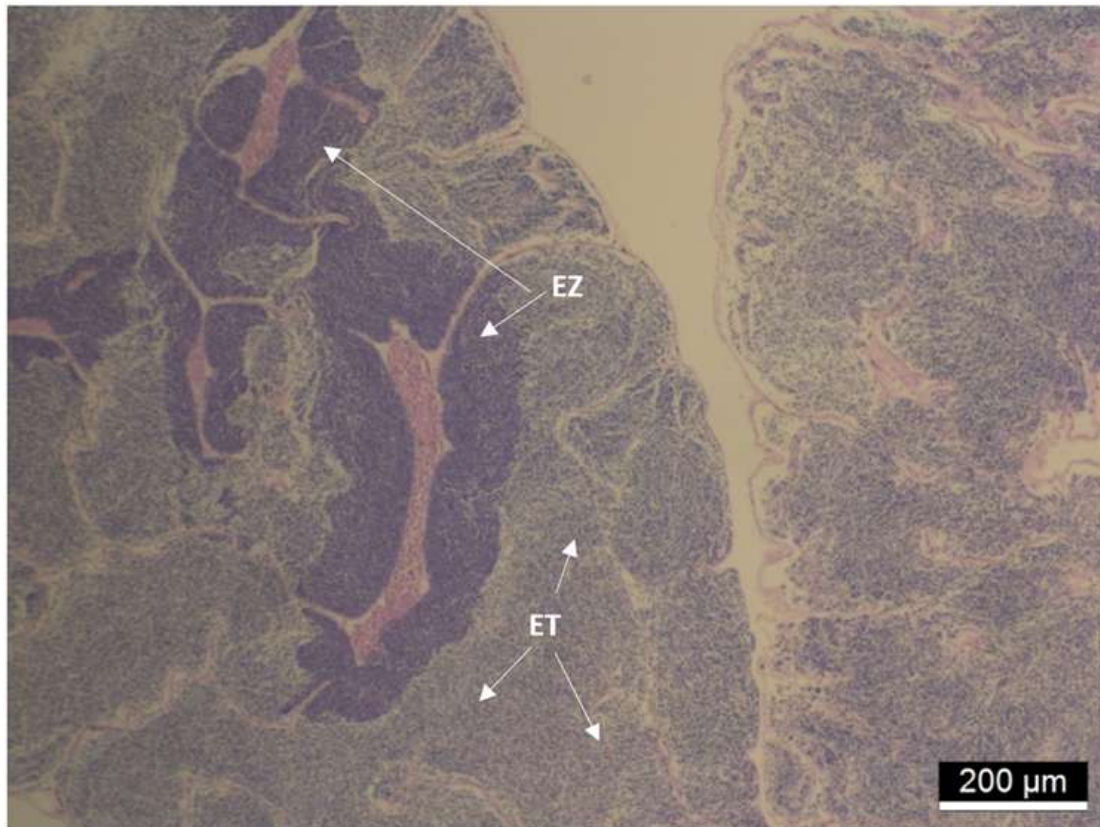


Figura 12. Aspeto microscópico de uma gónada masculina em que é visível a presença de ET – espermatídeos; EZ - espermatozoides.

Figure 12. Microscopic aspect of a male gonad at spawning stage. ET – spermatids; EZ - spermatozoon.

3.1.3.5 Estado 5 – PÓS-DESOVA

Gónadas em pós-desova apresentam espaços vazios. Verifica-se o espessamento do tecido conjuntivo intersticial, podendo haver espermatozóides residuais no lúmen (Figura 13).

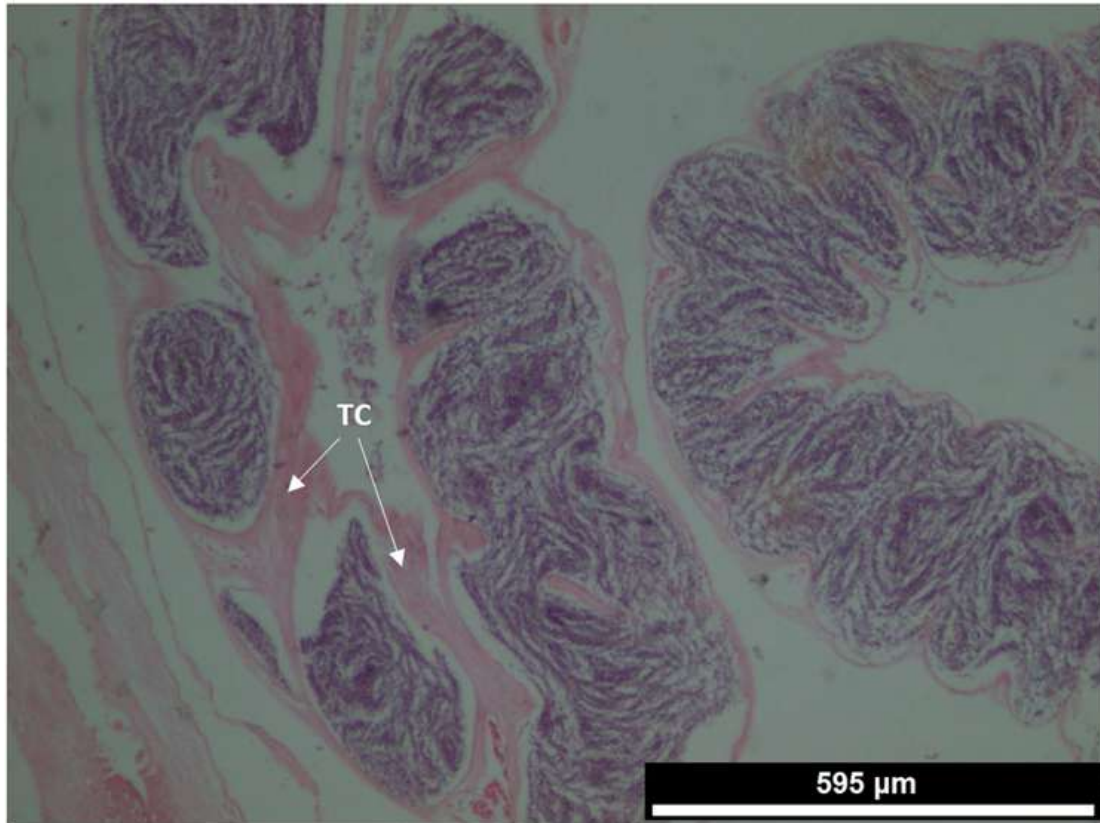


Figura 13. Aspeto microscópico de uma gónada masculina em estado de pós-desova. TC - tecido conjuntivo intersticial.

Figure 13. Microscopic aspect of a male gonad at post-spawning stage. TC – interstitial connective tissue.

3.1.3.6 Estado 6 – REPOUSO

As gónadas em repouso apresentam uma aparência mais desorganizada e espaços vazios, e com algumas células residuais e em reabsorção (Figura 14).

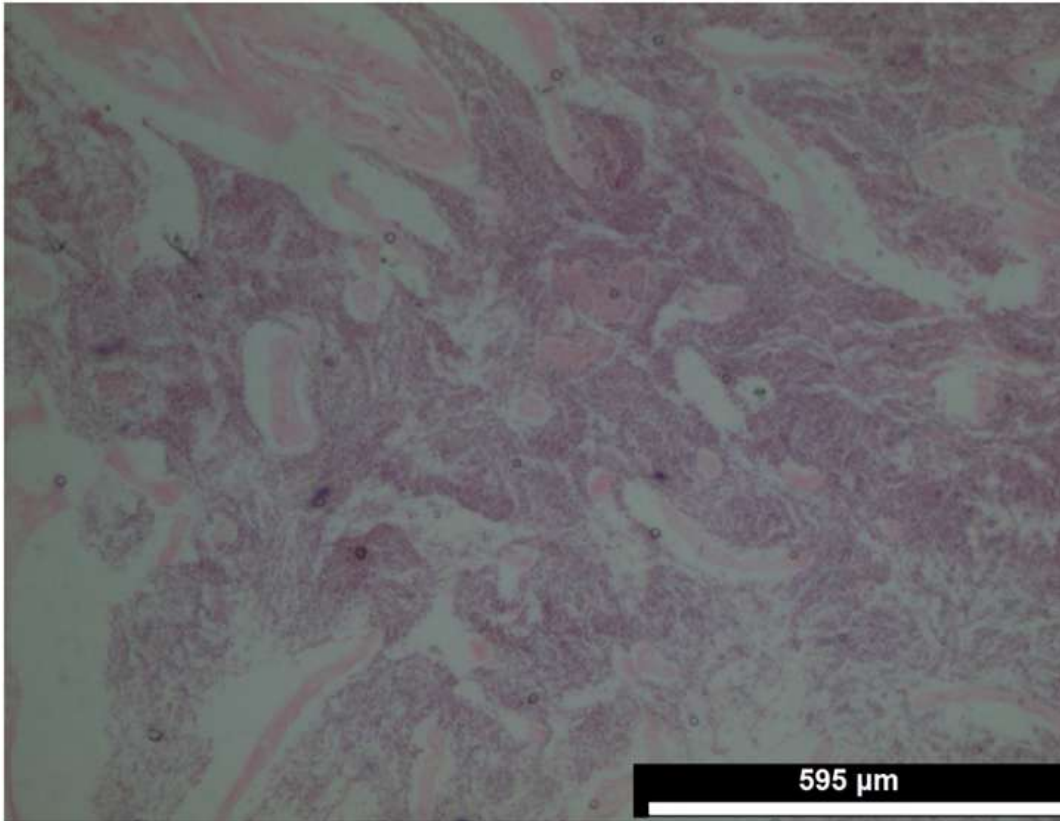


Figura 14. Aspeto microscópico de uma gónada masculina em estado de repouso. Nota: esta gónada classificada em estado de repouso é de uma amostra de verdinho recolhida em 2013 em Matosinhos e cujos dados não foram incluídos neste relatório.

Figure 14. Microscopic aspect of a male gonad at resting stage. Note: this gonad classified in a resting stage is from a blue whiting sample collected in 2013 in Matosinhos and whose data were not included in this report.

3.1.4 Comparação entre as classificações de maturação macroscópicas e microscópicas

A comparação entre os estados de classificação macroscópicas e microscópicas é apresentado para as fêmeas e machos, nas figuras 15 e 16, respectivamente.

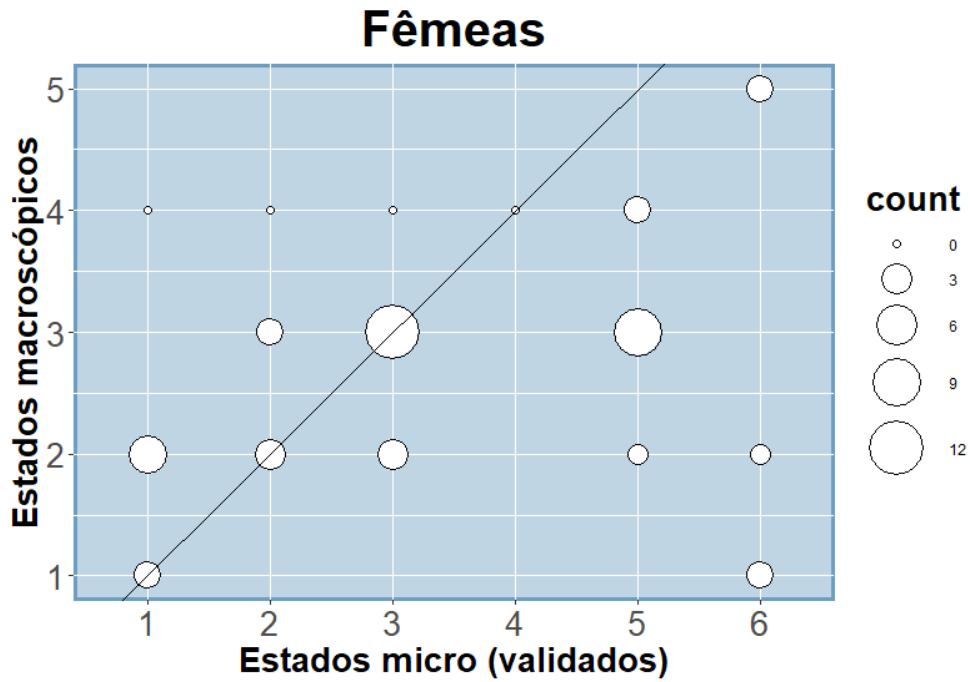


Figura 15. Relação entre as classificações macroscópicas e as correspondentes e validadas a nível microscópico para as fêmeas.

Figure 15. Relationship between the macroscopic classifications and the corresponding and validated at the microscopic level for females.

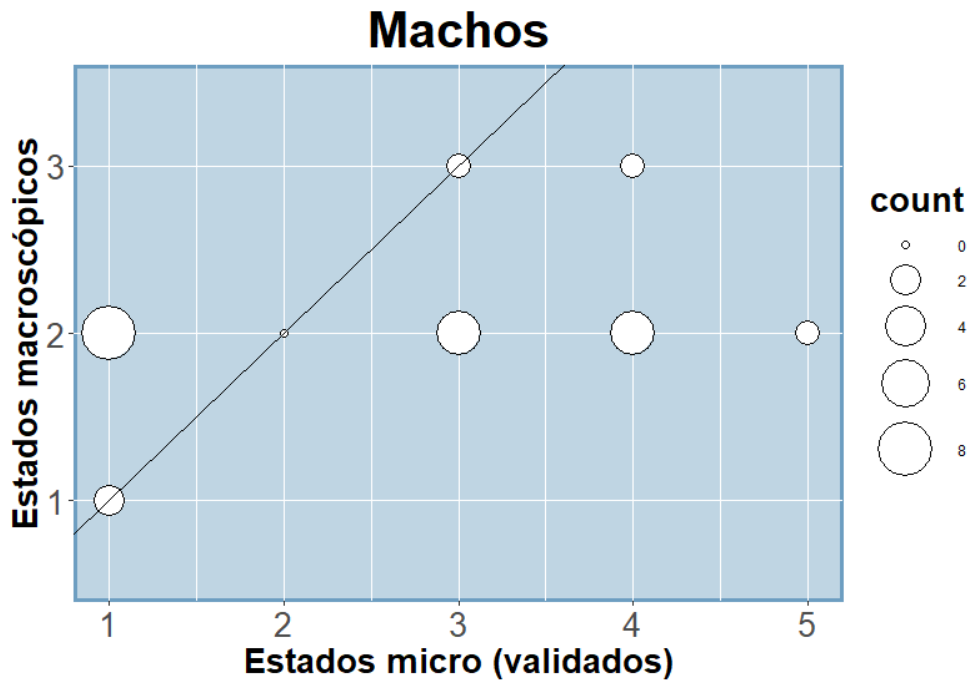


Figura 16. Relação entre as classificações macroscópicas e as correspondentes e validadas a nível microscópico para os machos.

Figure 16. Relationship between the macroscopic classifications and the corresponding and validated at the microscopic level for males.

As figuras 15 e 16 evidenciam que o estado de maturação macroscópico 2 corresponde a vários estados de maturação microscópicos, tanto nas fêmeas (estados macro 1, 2, 3, 5 e 6) como nos machos (estados macro 1, 3, 4 e 5). No caso das fêmeas, algumas das gónadas classificadas em estado 1 e 2 correspondem a fêmeas em repouso. Também nas fêmeas as gónadas em estado 3 macroscópico corresponderam a gónadas em diferentes estados de maturação (2, 3 e 5) com base na validação histológica. As diferenças entre as classificações dos estados de maturação macro e micro foram de 56% nas fêmeas e de 87% nos machos.

4. Discussão e Conclusões

Neste trabalho verificou-se a existência de erros sistemáticos nas comparações entre os estados de maturação macroscópicos e microscópicos. A existência de diferenças entre as classificações macroscópicas e microscópicas pode ser devida a vários motivos. Neste caso em concreto, um dos motivos principais são as descrições dos vários estados e as diferenças entre estes serem ambíguas na escala de Godinho et al. (2001), dado não descreverem o que se observa concretamente em cada estado de desenvolvimento sexual tanto em machos como em fêmeas. Nomeadamente, no caso do estado de maturação 2 denominado de recuperação ou 1^o maturação sexual aparece descrito para as fêmeas como: “Ovários translúcidos, laranja/avermelhados, bastante flácidos, ocupando 1/3 da cavidade abdominal”. No entanto, uma gónada em estado de desenvolvimento nunca poderá ter aspeto flácido ou avermelhado, sendo estas duas características principais de um estado de pós-desova e repouso. Nas gónadas em pós-desova a flacidez é devida aos espaços vazios que ficam na gónada após a ovulação, e o aspeto avermelhado indica rebentamento e/ou vasos sanguíneos visíveis devido à pressão exercida na gónada durante a ovulação. No estado de desenvolvimento a gónada deverá apresentar uma estrutura firme, uma cor rosada e devem ser visíveis oócitos, visto que o processo de vitelogénese já se iniciou. O estado 3 da escala de Godinho et al. (2001) apresenta como descrição: “Ovários opacos, laranja/rosados, com ovos visíveis, ocupando 1/2 a 2/3 da cavidade abdominal”. Neste caso em concreto os oócitos visíveis é que deveriam ser indicados como opacos, uma vez que o ovo só é formado após a fecundação que no caso dos teleósteos é externa. Nos estados 4 e 5, faz-se novamente referência a ovos em vez de oócitos. Ao compararmos a descrição dos estados 2, 3 e 5, verificamos que estes são todos muito idênticos e pouco objetivos em termos de características distintas entre si. Esta evidência teve como consequência a classificação em estado 2 de uma grande percentagem dos indivíduos amostrados, cuja percentagem de erro foi de: 77% nas fêmeas analisadas e de 100% nos machos.

O estudo do processo/ciclo de desenvolvimento sexual com base na histologia permite sempre um conhecimento mais aprofundado das várias fases, assim como ajuda na interpretação do aspeto

macroscópico esperado em cada um dos estados, através da intercalibração entre o aspeto macroscópico e microscópico da gónada. No entanto, alguns pormenores do desenvolvimento sexual são subtis e apenas podem ser verificados através da observação das preparações microscópicas, como é caso da presença de POFs na gónada. As fêmeas classificadas em estado 4 macroscopicamente, apresentavam ambas a presença de POFs em simultâneo com a presença de oócitos hidratados, indicando que a desova estaria a decorrer ou ainda podendo indicar que a libertação dos oócitos pode ter sido devida à pressão exercida no peixe durante a captura pela rede. Neste caso, a classificação microscópica, permite identificar os POFs e o mesmo não é visível na observação direta das gónadas durante a amostragem. Este tipo de erros, no entanto, é bastante comum e não tem grandes implicações na interpretação da fase do ciclo de maturação, porque de facto aquele peixe está em processo de desova (desova ou desova recente indicada pela ainda presença de oócitos hidratados em simultâneo com os POFs).

Outro dos motivos que condiciona a correta interpretação e a classificação dos estados de maturação macroscópicos encontra-se relacionada com o modo de preservação das amostras, em concreto a refrigeração ou congelação/descongelação podem provocar o aspeto flácido da gónada, o que não se verificaria se as gónadas tivessem sido classificadas após a captura do peixe e ainda em fresco. Neste estudo, tivemos o cuidado de usar verдинhos frescos para salvaguardar possíveis erros de classificação devido ao modo de preservação e por as gónadas terem sido processadas para histologia. Na maioria das vezes, o aspeto flácido é devido à libertação dos gâmetas e como tal, indicador de um estado de pós-desova ou repouso, sendo identificado por espaços vazios. Nestes casos, um amostrador experiente saberá distinguir a flacidez devida ao modo de preservação da amostra, dos casos em que a mesma é indicadora de pós-desova devido à presença de outras características (presença ou ausência de oócitos visíveis, tipo de oócitos visíveis, etc) que ajudam a confirmar o estado de maturação.

O estado 6 de repouso com base nas classificações microscópicas foi identificado em gónadas classificadas em estados macro 1 e 2 nas amostras da campanha (Outono – fora da época principal de desova) e nas amostras de Peniche (março – época de desova) que tinham todas sido classificadas em estado 5. Dado que para a ogiva os dados devem ser recolhidos na época de desova principal, o facto de as gónadas em repouso terem sido identificadas como estado 5 (pós-desova) que corresponde a um estado maturo não tem implicação para a ogiva. No entanto, a classificação de fêmeas 1 no estado 2 já terá como implicação diferenças na ogiva de maturação e consequentemente no tamanho de primeira maturação.

Para além de validar as classificações macroscópicas existentes para o verдинho, a histologia permitiu aprofundar o conhecimento do ciclo reprodutivo existente para esta espécie e rever a escala de maturação macroscópica. Na revisão da escala de maturação macroscópica, o estado imaturo e o do repouso (maturo)

foram separados, sendo esta separação fundamental para a construção da ogiva de maturação e o conhecimento da idade/tamanho de 1ª maturação.

Com base nos critérios descritos e apresentados, é proposta a alteração da escala de maturação macroscópica para o verdinho (Godinho et al. 2001) atualmente em uso no IPMA, para uma nova escala de maturação, cujas principais características se encontram descritas no Anexo V.

Na comunidade ICES, está definida uma escala de maturação internacional proposta no âmbito do WKASMF (ICES, 2018) e cuja aplicação é mandatória para o reporte de dados das diferentes espécies, para todos os grupos de trabalho e nas bases de dados internacionais. Como tal, foi incluída a correspondência entre a escala de maturação internacional WKASMF (ICES, 2018) e esta nova escala de maturação proposta neste trabalho, cuja correspondência se encontra descrita no Anexo VI.

Como conclusão, propõe-se a implementação desta nova escala de maturação macroscópica na amostragem regular do verdinho (nas amostras de desembarques, rejeições e nas campanhas de investigação científica) e a realização de um exercício de intercalibração entre as responsáveis pela amostragem desta espécie. Pretende-se ainda validar as classificações macroscópicas dos indivíduos imaturos e a posterior revisão do tamanho/idade de 1ª maturação para ambos os sexos no verdinho.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado no âmbito do Plano Nacional de Amostragem Biológica (PNAB/DCF). Os autores agradecem a todos os colegas que têm participado na amostragem de verdinho a bordo, na lota e nas campanhas de investigação científica. Gostaríamos também de agradecer aos revisores que com os seus contributos e comentários ajudaram a melhorar este trabalho.

Contribuições dos autores

PG coordenou o trabalho e a recolha de amostras. ALF e AR realizaram a amostragem biológica e a classificação macroscópica das gónadas. CS e PP realizaram a histologia. AMC e PA realizaram a classificação microscópica das gónadas. PG colaborou na leitura das lâminas e classificação das gónadas a nível microscópico para esclarecimento de dúvidas. PG coordenou a escrita do relatório, elaborou a introdução. PG, AMC, CS, PP elaboraram a parte do material e métodos. PG realizou a análise estatística dos resultados. PG e AMC elaboraram a parte do texto relativo às conclusões e discussão. PG, ALF e AR reviram a escala antiga de maturação macroscópica. PG elaborou a descrição final da nova escala de maturação macroscópica. PG e AMC elaboraram a descrição da escala de maturação microscópica. Todos os autores reviram o texto e o documento antes de este ser submetido.

Referências

- Bailey, R. S., 1982. The population biology of blue whiting in the North Atlantic. *Advances in Marine Biology*, 19, pp. 257–355.
- Domínguez-Petit, R., Anastasopoulou, A., Cubillos, L., Gerritsen, H.D., Gonçalves, P., Hidalgo, M., Kennedy, J., Korta, M., Marteinsdottir, G., Morgado, C., Muñoz, M., Quincoces, I., Saínza, M., Thorsen, A., Vitale, F. 2017. Chapter 3: Maturity. In: “Handbook of applied fisheries reproductive biology for stock assessment and management”, ed. R. Domínguez-Petit, H. Murua, F. Saborido-Rey and E. Trippel. Vigo, Spain. Digital CSIC.
- Giæver, M., Stein, J., 1998). Population genetic substructure in blue whiting based on allozyme data. *Journal of Fish Biology*, 52, pp. 782–795. doi: 10.1111/j.1095-8649.1998.tb00820.x.
- 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*, nº 66, 66p.
- Gonçalves, P., Cunha, M.E., Costa, A.M. 2004. Escala de maturação microscópica e macroscópica das gónadas femininas de pescada (*Merluccius merluccius*). *Relat. Cient. Téc. IPIMAR, Série digital nº 21*.
- Gonçalves, P., Ávila de Melo, A., Murta, A.G., Cabral, H. N. 2017. Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) sex ratio, size distribution and condition patterns off Portugal. *Aquatic Living Resources*, 30, 24.
- Hunter, J. R. 1985. Preservation of northern anchovy in formaldehyde solution. In: An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, *Engraulis mordax* (Lasker, R., ed.). NOAA Technical Report NMFS 36, 63–66.
- Hunter, J. R., Macewicz, B. J. 1985. Measurement of spawning frequency of multiple spawning fishes. In: An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, *Engraulis mordax* (Lasker, R., ed.). NOAA Technical Report NMFS 36: 79-94.
- ICES. 2018. Report of the Workshop for Advancing Sexual Maturity Staging in Fish (WKASMSF), 30 April - 4 May 2018, ICES Headquarters, Copenhagen, Denmark. ICES CM/EOSG: 38. 75 pp.
- ICES. 2021. Working Group on Widely Distributed Stocks (WGWIDE). ICES Scientific Reports. 3:95. 874 pp. <http://doi.org/10.17895/ices.pub.8298>
- Keating, J. P., Brophy, D., Officer, R. A., Mullins, E., 2014. Otolith shape analysis of blue whiting suggests a complex stock structure at their spawning grounds in the Northeast Atlantic. *Fisheries Research* 157, pp. 1–6. doi:10.1016/j.fishres.2014.03.009.
- Mahe, K., Oudard, C., Mille, T., Keating, J., Gonçalves, P., Clausen, L. W., Petursdottir, G., Rasmussen, H., Meland, E., Mullins, E., Pinnegar, J. K., Hoines, Å. And Trenkel, V. M., 2016. Identifying blue whiting (*Micromesistius poutassou*) stock structure in the Northeast Atlantic by otolith shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 73(9), pp. 1363–1371. doi: 10.1139/cjfas-2015-0332
- Monstad, T., 1990. Distribution and growth of blue whiting in the Northeast Atlantic. International Council for the Exploration of the Sea, C.M. 1990 (Pelagic Fish Committee).

Mork, J., Giæver, M., 1995. Genetic variation at isozyme loci in blue whiting from the north-east Atlantic. *Journal of Fish Biology*, 46(3), pp. 462–468. doi: 10.1111/j.1095 8649.1995.tb05987.x

Pointin, F., Payne, M. R., 2014. A resolution to the blue whiting (*Micromesistius poutassou*) population paradox? *PLoS ONE*, 9(9). doi:10.1371/journal.pone.0106237




R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.







Ryan, A., Mattiangeli, V., Mork, J., 2005. Genetic differentiation of blue whiting (Risso) populations at the extremes of the species range and at the Hebrides - Porcupine Bank spawning grounds. *ICES Journal of Marine Science*, 62(5), pp. 948–955. doi: 10.1016/j.icesjms.2005.03.006

Anexo I

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

Maturity stage key for blue whiting, *Micromesistius poutassou* (WHB) (Godinho et al. 2001)

ESTADO DE MATURAÇÃO		APARÊNCIA EXTERNA	Fotografia Fêmea	Fotografia Macho
1	Repouso sexual	Ovários branco translúcido, sem ovos visíveis, ocupando 1/4 da cavidade abdominal		
	Juvenil	Testículos em fitas translúcidas, quase indistintos, ocupando 1/4 da cavidade abdominal		
2	1ª maturação sexual	Ovários translúcidos, laranja/avermelhados, bastante flácidos, ocupando 1/3 da cavidade abdominal		
	Recuperação	Testículos translúcidos, branco/rosados, ocupando 1/2 da cavidade abdominal		

3	Em maturação	Ovários opacos, laranja/rosados, com ovos visíveis, ocupando 1/2 a 2/3 da cavidade abdominal Testículos opacos, branco/rosados, lobados em espiral, com alguns vasos sanguíneos, ocupando 3/4 da cavidade abdominal		
4	Desova	Ovários laranja/rosados, túrgidos, com ovos hialinos, ocupando 3/4 a toda a cavidade abdominal Testículos branco cremoso, opacos, túrgidos com dobras apertadas ocupando toda a cavidade abdominal		
5	Pós-desova	Ovários flácidos, rosa/avermelhados, com restos de ovos, ocupando 1/2 da cavidade abdominal Testículos amarelo/esbranquiçados, avermelhados, numa estreita banda rugosa, ocupando 1/2 da cavidade abdominal.		

Anexo II

Protocolo de processamento dos tecidos para histologia

Tissue processing protocol for histology

Reagente	Duração	Fase de processamento
Álcool a 70%	30 min	Desidratação
Álcool a 80%	30 min	Desidratação
Álcool a 90%	30 min	Desidratação
Álcool a 90%	30 min	Desidratação
Álcool absoluto	1 hora	Desidratação
Álcool absoluto	1 hora	Desidratação
Álcool absoluto/Xilol	1 hora	Desidratação
Xilol	1 hora	Diafanização
Xilol	1 hora	Diafanização
Parafina (p.f.* 56-58°C)	1 hora	Inclusão dos tecidos
Parafina (p.f.* 56-58°C)	1 hora	Inclusão dos tecidos

* ponto de fusão

Anexo III

Protocolo de coloração dos cortes histológicos de verdinho (*Micromesistius poutassou*)

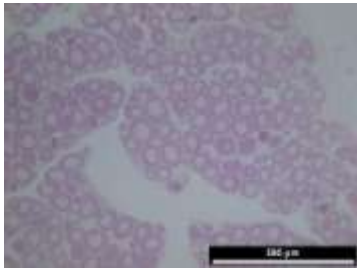
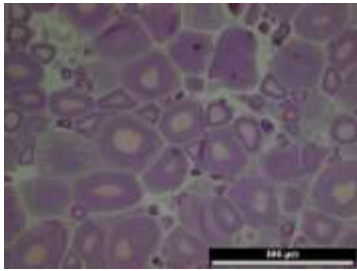
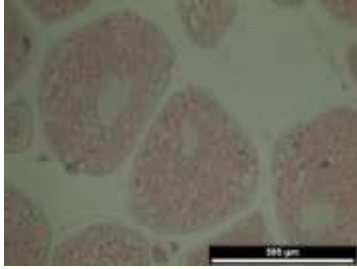
Histological sections staining protocol for blue whiting (*Micromesistius poutassou*)

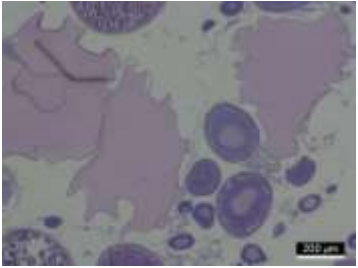
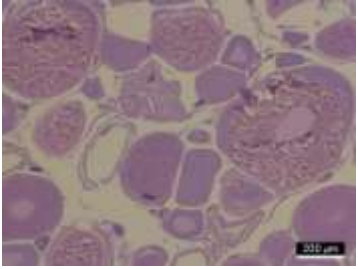
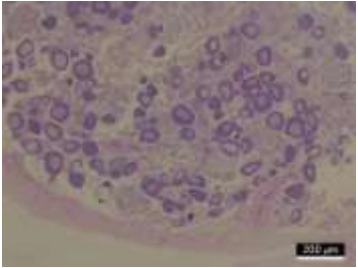
Reagente	Duração	Observações
Xilol	15 min	
Xilol	15 min	
Álcool absoluto	5 min	
Álcool a 90%	5 min	
Álcool a 70%	5 min	
Água destilada	1 min	
Água destilada	1 min	
Hematoxilina de Harris	14 min	Este tempo depende da intensidade do corante.
Água da torneira corrente	2 min	Colocar os cestos junto à torneira com um fio de água a correr, tendo o cuidado deste não cair diretamente sobre os cortes.
Álcool clorídrico (0,3ml de HCl + 250ml de Álcool a 70%)	10 seg	
Água da torneira corrente	2 min	
Carbonato de lítio (solução saturada: 1,54g + 100ml água destilada)	20 seg	
Água destilada	1 min	
Eosina Y 1%	6 min	Este tempo depende da intensidade do corante,
Água destilada	5 seg	
Álcool a 95%	30 seg	
Álcool a 95%	1 min	
Álcool absoluto	1 min	Escorrer muito bem o cesto para evitar que ao mergulhar em xilol este fique saturado.
Xilol	10 min	
Xilol	5 min	

Anexo IV

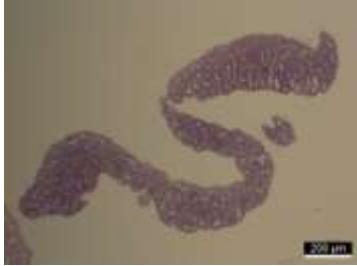

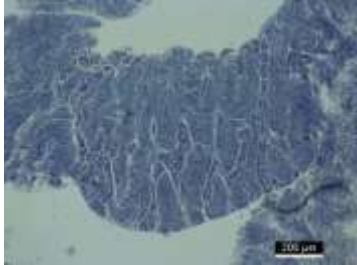
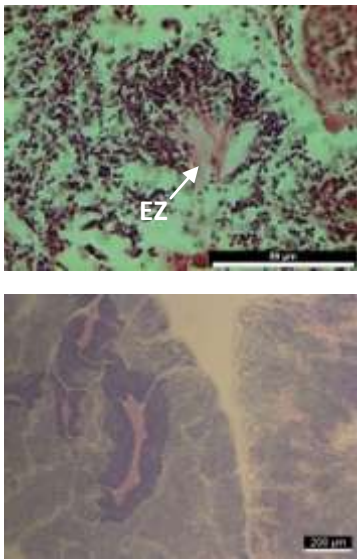
Escala de maturação microscópica do verdinho (*Micromesistius poutassou*)
Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) microscopic maturity scale

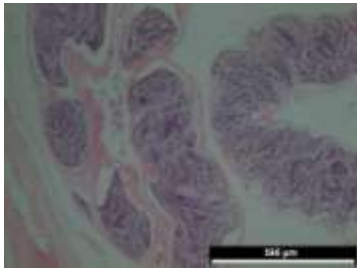
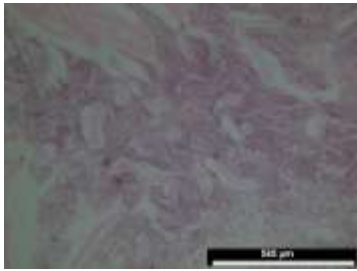
Fêmeas/Females

Estado de maturação Maturity stage		Descrição microscópica Microscopic description	Imagem Picture
1	Imaturo Immature	<p><u>Ovários pequenos, com paredes finas, bem organizados</u> e os septos ováricos formados na direção do lúmen. Presença de <u>oogônias e oócitos primários</u>.</p> <p><u>Small and well-organized ovaries with a thin wall</u> and the ovarian septa formed towards the lumen. Presence of <u>oogonia and primary oocytes</u>.</p>	
2	Desenvolvimento Developing	<p><u>Ovários maiores do que no estado de imaturo, presença oócitos vitelados e oócitos com alvéolos corticais</u>.</p> <p><u>Ovaries larger than in the immature stage</u>, presence of <u>vitellogenic oocytes and oocytes with cortical alveoli</u>.</p>	
3	Pré-desova Pre-spawning	<p>Ovário apresenta maioritariamente <u>oócitos em fase de núcleos migrados</u>.</p> <p>Ovary present mostly <u>oocytes in migrated nucleus phase</u>.</p>	

4	Desova Spawning	Ovário apresenta maioritariamente oócitos hidratados. Ovary present mostly <u>hydrated oocytes</u> .	
	Pós-desova Post-spawning	<u>Ovário com espaços</u> entre os oócitos e a presença de <u>folículos pós-ovulatórios (POFs)</u> . <u>Ovary with spaces</u> between oocytes and the presence of <u>post-ovulatory follicles (POFs)</u> .	
6	Repouso Resting	<u>Ovário com espaços</u> entre os oócitos. O estado de <u>repouso</u> caracteriza-se pela presença de <u>oócitos primários, atréticos e residuais</u> . <u>Ovary with spaces</u> between oocytes. The <u>resting</u> state is characterized by the presence of <u>primary, atretic and residual oocytes</u> .	

Machos/Males

Estado de maturação Maturity stage		Descrição microscópica Microscopic description	Imagem Picture
1	Imaturo Immature	Gónada pequena com a presença de <u>espermatogónias</u> . <u>Small gonads with spermatogonias.</u>	
2	Desenvolvimento Developing	Túbos seminíferos já <u>individualizados</u> com a presença de <u>espermatogónias e espermatócitos</u> . <u>Seminiferous tubules already Individualized</u> with the presence of <u>spermatogonias and spermatocytes.</u>	
3	Pré-desova Pre-spawning	Presença de <u>espermatócitos e de espermatídeos</u> . <u>Presence of spermatocytes and spermatids.</u>	
4	Desova Spawning	Gónadas grandes cheias de <u>espermatozoides (EZ)</u> . <u>Large gonads full of spermatozoa (EZ).</u>	

5	<p>Pós-desova</p> <p>Post-spawning</p>	<p><u>Gónada em pós-desova com espaços vazios, presença de alguns espermatozoides.</u></p> <p><u>Post-spawning gonads with empty spaces, presence of some spermatozoa.</u></p>	
6	<p>Repouso</p> <p>Resting</p>	<p><u>Gónadas em repouso com aparência desorganizada e espaços vazios, e com algumas células residuais e em reabsorção.</u></p> <p><u>Resting gonads with disorganized appearance and empty spaces, and with some residual and reabsorbing cells.</u></p>	

Nota: no caso das classificações microscópicas nos machos as células devem ser observadas a maiores ampliações, visto que as estruturas nos vários tipos de células sexuais masculinas são mais pequenas que no caso das fêmeas.





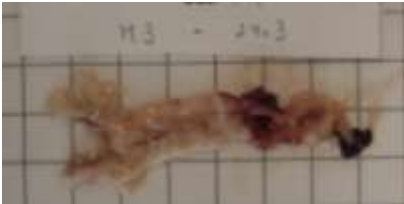
Note: in the case of microscopic classifications in males the cells must be observed at higher magnifications, as the structures in the various types of male sex cells are smaller than in the case of females.



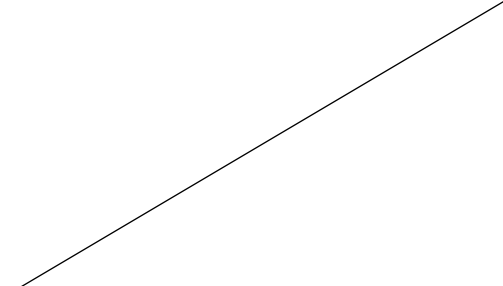
Anexo V

Nova escala de maturação macroscópica do verdinho (*Micromesistius poutassou*)





Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) new macroscopic maturity scale






Machos/Males


Estado de maturação <i>Maturity stage</i>		Descrição macroscópica <i>Macroscopic description</i>	Imagem Picture
1	Imaturo <i>Immature</i>	<u>Testículos translúcidos com estrutura em forma de fita.</u> Testicles translucent with a ribbon-like structure.	 © Patrícia Gonçalves
2	Desenvolvimento <i>Development</i>	<u>Testículos translúcidos com folhos</u> , brancos, ocupam até 1/2 da cavidade abdominal. White, translucent frilled testicles, occupying up to 1/2 of the abdominal cavity.	 © Patrícia Gonçalves  © Patrícia Gonçalves
3	Pré-desova <i>Pre-spawning</i>	<u>Testículos opacos, brancos, com presença de espermia nos folhos</u> , podem ser visíveis alguns vasos sanguíneos, ocupam mais de 3/4 da cavidade abdominal. Opaque, white testicles, with presence of sperm in the frills, some blood vessels may be visible, occupy more than 3/4 of the abdominal cavity.	 © Patrícia Gonçalves  © Patrícia Gonçalves

4	Desova Spawning	<p>Testículos branco cremoso, opacos, túrgidos e ocupam toda a cavidade abdominal. Esperma sai livremente sob pressão na gónada.</p> <p>Creamy white testicles, opaque, turgid and occupy the entire abdominal cavity. Sperm comes out freely under pressure in the gonads.</p>	 <p>© Godinho et al. 2001</p>
5	Pós-desova <i>Post-spawning</i>	<p>Testículos avermelhados, em forma de folha, ocupando até 1/2 da cavidade abdominal. São visíveis espaços vazios, principalmente junto ao hilo.</p> <p>Reddish testicles, shaped like a small frill, occupying up to 1/2 of the abdominal cavity. Empty spaces are visible, mainly near the hilum.</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>
6	Repouso <i>Resting</i>	<p>Testículos avermelhados, são visíveis espaços vazios.</p> <p>Reddish testicles, empty spaces are visible.</p>	

Fêmeas/Females

Estado de maturação <i>Maturity stage</i>		Descrição macroscópica <i>Macroscopic description</i>	Imagem <i>Picture</i>
1	Imaturo <i>Immature</i>	<p>Ovários transparentes, <u>sem oócitos opacos visíveis</u>, ocupam até 1/4 da cavidade abdominal.</p> <p>Transparent ovaries, with no visible opaque oocytes, occupying up to 1/4 of the abdominal cavity.</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>
2	Desenvolvimento <i>Development</i>	<p>Ovários cor de rosa ou laranja, <u>são visíveis oócitos opacos</u>, ocupam até 1/3 da cavidade abdominal. A membrana da gónada é espessa.</p> <p>Pink or orange ovaries <u>with visible opaque oocytes</u>, occupying up to 1/3 of the abdominal cavity. The gonad membrane is thick.</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>  <p>© Patrícia Gonçalves</p>
3	Pré-desova <i>Pre-spawning</i>	<p>Ovários opacos, laranja/rosados, <u>com oócitos opacos visíveis</u>, ocupam mais de 1/2 da cavidade abdominal. Podem ser visíveis alguns vasos sanguíneos.</p> <p>Opaque, orange/pink ovaries</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>

		<p>with visible opaque oocytes, <u>occupy more than 1/2 of the abdominal cavity.</u> Some blood vessels may be visible.</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>
4	Desova Spawning	<p>Ovários laranja/rosados, <u>com oócitos hialinos visíveis,</u> ocupam 3/4 da cavidade abdominal. A membrana da gónada é fina.</p> <p>Orange/pink ovaries, <u>with visible hyaline oocytes,</u> occupying 3/4 of the entire abdominal cavity. The gonad membrane is thin.</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>  <p>© Patrícia Gonçalves</p>
5	Pós-desova Post-spawning	<p>Ovários flácidos <u>com espaços vazios,</u> avermelhados, <u>ocupam até 1/3 da cavidade abdominal</u> e oócitos opacos <u>visíveis.</u></p> <p><u>Ovaries flaccid and with empty spaces, reddish, occupying up to 1/3 of the abdominal cavity</u> with visible opaque oocytes.</p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>  <p>© Ana Luísa Ferreira</p>

6	<p>Repouso</p> <p><i>Resting</i></p>	<p><u>Ovários flácidos com espaços vazios, avermelhados. Ovários ocupam até 1/3 da cavidade abdominal, com poucos oócitos opacos visíveis (oócitos residuais) e podem apresentar a membrana escurecida.</u></p> <p><u>Ovaries flaccid and with empty spaces, reddish. Ovaries occupying up to 1/3 of the abdominal cavity, with few visible opaque oocytes (residual oocytes) and may have a darkened membrane.</u></p>	 <p>© Patrícia Gonçalves</p>
---	--------------------------------------	---	--

Anexo VI

Tabela 2 – Correspondência entre os estados de maturação da nova escala apresentada neste trabalho (Gonçalves et al. 2022) para o verdinho, *Micromesistius poutassou*, e os estados da escala internacional de maturação (WKASMSF, 2018).

Table 2 – Correspondence between the maturity stages of the new scale presented in this work (Gonçalves et al. 2022) for blue whiting, *Micromesistius poutassou*, and the stages from the international maturity stage key (WKASMSF, 2018).

Escala internacional (WKASMSF, 2018)		Nova escala de maturação para o verdinho (Gonçalves et al. 2022)
Estado	Nome	
A	Imaturo	1
B	Desenvolvimento	2,3
C	Desova	4,5
D	Esgotado/Recuperação*	6/6,5*
E	Omissão de desova	
F	Anormal	

*o estado de recuperação (Estado D), pode ser interpretado como uma recuperação para um novo ciclo de desova dentro da mesma época. Nesse sentido o estado de pós-desova, apesar de ser indicador de desova recente, foi incluído como correspondendo também ao Estado D.

* the recovery stage (Stage D), can be interpreted as a recovery for a new spawning cycle within the same spawning season. In this sense, the post-spawning stage, despite being an indicator of a recent spawning, was included also as corresponding to the Stage D.

