



RELATÓRIOS CIENTÍFICOS E TÉCNICOS

SÉRIE DIGITAL

CICLO REPRODUTIVO E PRIMEIRA MATURAÇÃO DE
Solen marginatus E *Venerupis pullastra*
NA RIA DE AVEIRO

BASES CIENTÍFICAS PARA A GESTÃO DESTES RECURSOS

Francisco Maia, Maria Preciosa Sobral e Miguel Gaspar



2006

30



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

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

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

Edição

IPIMAR
Avenida de Brasília
1449-006 LISBOA
Portugal

Corpo Editorial

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

Edição Digital

Anabela Farinha/Irineu Batista/Luís Catalan

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

Capa

Luís Catalan

ISSN

1645-863X

Todos os direitos reservados.

CICLO REPRODUTIVO E PRIMEIRA MATURAÇÃO DE *Solen marginatus* E *Venerupis pullastra* NA RIA DE AVEIRO. BASES CIENTÍFICAS PARA A GESTÃO DESTES RECURSOS

Francisco Maia¹; Maria Preciosa Sobral¹; Miguel Gaspar²

¹CRIPC – Centro Regional de Investigação Pesqueira do Centro do INIAP/IPIMAR

²CRIPS – Centro Regional de Investigação Pesqueira do Sul do INIAP/IPIMAR

Recebido em 2005 - 06 - 02

Aceite em 2006 - 03 - 03

RESUMO

Com o objectivo de estudar o ciclo reprodutor e o comprimento da primeira maturação do longueirão (*Solen marginatus*) e da amêijoia-macha (*Venerupis pullastra*), iniciou-se em 2002 um programa de amostragens mensais na Ria de Aveiro (NW Portugal). Após o processamento dos espécimes segundo métodos histológicos clássicos, dividiu-se o ciclo gametogénico em seis estados de maturação: (0) repouso sexual, (I) gametogénese inicial, (II) gametogénese avançada, (III) maturação, (IV) postura, (V) pós-postura. A análise do ciclo reprodutivo de *S. marginatus* mostrou que em 2002 a desova ocorreu entre Maio e Setembro, enquanto que em 2003 o período de emissão foi mais curto, tendo terminado em Julho. *V. pullastra* apresentou um longo período de postura, Março a Novembro. As ogivas de maturação das duas espécies estudadas permitiram-nos estimar o comprimento da primeira maturação. O longueirão atinge a maturação sexual com o comprimento de 47,7 mm e a amêijoia-macha com o comprimento de 22,0 mm.

Palavras chave: *Solen marginatus*, *Venerupis pullastra*, ciclo reprodutor, postura, ogiva de maturação.

ABSTRACT

Title: Reproductive Cycle and First Maturity of *Solen marginatus* and *Venerupis pullastra* in Ria de Aveiro. Scientific Basis for Management Proposals. In order to study the reproductive cycle and the length of first maturity of the grooved razor shell (*Solen marginatus*) and the pullet carpet shell (*Venerupis pullastra*), it was started in 2002 a monthly sampling program in Ria de Aveiro (NW Portugal). After processing the specimens through classic histological methods, the gametogenic cycle was divided in six stages of maturation: (0) sexual rest, (I) start of gametogenesis, (II) advanced gametogenesis, (III) mature, (IV) spawn, (V) post-spawn. The analysis of the reproductive cycle of *S. marginatus* in 2002 showed a spawning period between May and September, whereas in 2003 the spawning period was shorter, finishing in July. *V. pullastra* showed a longer spawning period, March to November. The maturity ogives for the studied species allowed us to estimate the length at first maturity. The grooved razor shell reach first maturity at a total length of 47.7 mm and the pullet carpet shell at a total length of 22.0 mm.

Keywords: *Solen marginatus*, *Venerupis pullastra*, reproductive cycle, spawn, maturity ogive.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

MAIA, F.; SOBRAL, M.P.; GASPAR, M., 2006. Ciclo reprodutivo e primeira maturação de *Solen marginatus* e *Venerupis pullastra* na Ria de Aveiro. Bases científicas para a gestão destes recursos. *Relat. Cient. Téc. IPIMAR, Série digital* (<http://ipimar-iniap.ipimar.pt>) n° 30, 35p

INTRODUÇÃO

A exploração de moluscos bivalves na Ria de Aveiro constitui uma actividade de grande importância sócio-económica. Esta actividade tem vindo a crescer ao longo dos anos, sendo dirigida, entre outras, à captura de longueirão (*Solen marginatus*) e de amêijoa-macha (*Venerupis pullastra*).

A apanha de longueirão reveste-se de uma especial importância quer em termos de recurso quer em termos sócio-económicos. A relativa abundância em bancos intermareais, facilidade de captura e a crescente valorização comercial, fazem desta espécie um importante recurso económico para as populações ribeirinhas. Contudo, a sobrepesca tem contribuído para um empobrecimento destes “stocks”. De facto, a insuficiente fiscalização e a existência de um forte mercado paralelo aliciam vários apanhadores a desenvolver toda uma pesca ilegal. Esta situação é ainda agravada pela intensificação da apanha nos meses de Verão, quando centenas de veraneantes a exercem como actividade lúdica.

A amêijoa-macha tem sido alvo de uma intensa exploração devido ao seu elevado valor comercial. A sua captura, nos bancos permanentemente submersos, é feita com auxílio de um ancinho de cabo longo, também designado por “cabrita” ou “berbigoeira”. Nos últimos anos tem-se assistido a uma apanha ilegal por mergulhadores, o que aumentou significativamente o esforço de pesca exercido sobre a espécie. O poder de recuperação destes bancos tem permitido a sua exploração, mas evidenciam já claros indícios de exaustão. Estes sinais são preocupantes e revelam-se na quantidade e na qualidade dos recursos explorados.

A sobreexploração destes dois importantes recursos pode vir a colocá-los em risco de colapso, com graves consequências económicas, sociais e ambientais. Torna-se assim imperativo a implementação de medidas de gestão específicas, que ajustem a exploração destes moluscos bivalves ao estado e à condição dos recursos disponíveis. Estas medidas regulamentares, que passam, entre outras, pela criação de épocas de defeso e pelo estabelecimento de tamanhos mínimos de captura, são fundamentais para uma exploração racional destas espécies. Assim, os principais objectivos deste trabalho foram: i) determinar o ciclo reprodutivo; ii) estimar o comprimento da primeira maturação; iii) fundamentar cientificamente algumas medidas de gestão, de forma a garantir uma exploração sustentada destes recursos na Ria de Aveiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A escolha do Canal de Mira baseou-se principalmente na inviabilidade da execução de um estudo desta natureza em todo o sistema lagunar da Ria de Aveiro e porque é precisamente nos bancos naturais localizados neste canal que as espécies estão sujeitas a uma exploração comercial mais intensa.

O Canal de Mira é limitado a oeste pelo Oceano Atlântico e a leste por uma extensa faixa rural e urbana, que compreende as Gafanhas da Nazaré, Encarnação, Carmo, Vagueira, Boa-Hora e Areão. Este Canal é o segundo maior da Ria de Aveiro, com 14 Km de comprimento e uma largura máxima de 300 m. O Canal de Mira pode ser considerado como um pequeno estuário poiquilo-halino, onde os efeitos da maré e da precipitação desempenham um papel determinante.

Esta é uma zona de grande influência marinha, recebendo durante a enchente cerca de 20% do prisma de marés da Ria de Aveiro, e é caracterizada por uma elevada riqueza específica. Verifica-se que na zona compreendida entre a Barra e a Costa Nova ocorrem aproximadamente 90% das espécies de afinidade marinha e estuarinas encontradas no Canal de Mira, sendo cerca de 40% exclusivas desta zona (Moreira *et al.*, 1993).

Para a captura do longueirão foi seleccionado um banco de areia e lodo intermareal, frequentemente utilizado como local de recolha de bivalves durante os períodos de baixa-mar, situado na margem nascente do Canal de Mira, entre a Ponte da Barra e o Clube de Vela da Costa Nova. A amêijoia-macha foi capturada num banco natural permanentemente submerso, em frente à Lota de Aveiro (Fig. 1).



Figura 1. Localização da área de estudo e do local de recolha de *Venerupis pullastra* ① e de *Solen marginatus* ②.
 (A), Portugal; (B), Ria de Aveiro; (C), Canal de Mira.

Parâmetros ambientais

Para determinar uma possível influência dos factores ambientais no desenvolvimento do ciclo gametogénico, registaram-se durante o período de estudo e no início de cada operação de pesca os valores da salinidade e da temperatura da água.

Sex ratio

O longueirão é uma espécie gonocórica com dimorfismo sexual que se manifesta na diferente coloração das gónadas. Nas fêmeas, a gónada apresenta uma cor vermelho-arroxeadada e nos machos uma cor esbranquiçada. Na amêijoa-macha não foi possível distinguir macroscopicamente o sexo dos exemplares dado que não existe diferença cromática nas gónadas de indivíduos de sexos diferentes. Assim, o sexo foi determinado pela observação à lupa de esfregaços da gónada.

Foi calculada a percentagem entre o número de machos e fêmeas presentes na amostragem e utilizou-se o teste de χ^2 com a correcção de Yates para verificar se a proporção entre estes diferia significativamente da razão 1:1 (Spiegel, 1985).

Ciclo reprodutor de *Solen marginatus* e *Venerupis pullastra*

Com o objectivo de definir o ciclo reprodutor do longueirão na Ria de Aveiro, iniciou-se um programa de amostragens mensais entre Maio de 2002 e Agosto de 2003. Os exemplares foram colhidos em maré-baixa, tendo sido utilizada para o efeito, a técnica de captura com adriça (ver Fot.1 e descrição da arte em anexo). A amêijoa-macha foi capturada por arrasto com ganchorra (ver Fot. 2 em anexo) entre Abril de 2002 e Maio de 2003.

Foram recolhidas, para o exame macroscópico da gónada, amostras mensais com cerca de 150 exemplares de cada espécie. Destas, foram separadas sub-amostras de 50 indivíduos adultos para observação microscópica do estado de maturação da gónada.

O exame microscópico de cortes da gónada permite uma informação detalhada do seu desenvolvimento. A observação microscópica desta estrutura só é possível após a sua passagem por um conjunto sucessivo de etapas (ver protocolo em anexo) que se resumem de seguida.

Assim, para o estudo histológico da gónada removeu-se de cada exemplar uma porção anterior da massa visceral com cerca de 3 a 5 mm de espessura que se fixou com líquido de San Felice (em anexo). Após um período de lavagem em água corrente, as peças foram conservadas em álcool a 70 % (v/v). Posteriormente foram desidratadas, passaram pelo processo de impregnação em parafina e finalmente foram incluídas em blocos de parafina que, depois de refrigerados a uma temperatura de cerca de 5°C, foram cortados em secções de 5 a 6 µm de espessura.

Estas secções foram coradas com Azul de Toluidina e montadas em Entellan. Os cortes histológicos foram observados ao microscópio óptico e classificados segundo os diferentes estados de maturação.

Ogiva de maturação de *Solen marginatus* e *Venerupis pullastra*

Na determinação das ogivas de maturação das espécies em estudo foram usados os exemplares amostrados durante as épocas de postura de 2002 e 2003. Para além destes indivíduos, capturaram-se cerca de 300 exemplares de longueirão, durante os meses de Maio e Junho de 2004, com comprimentos que variaram entre os 26 e os 133 mm. Foi ainda recolhida em Junho do mesmo ano uma amostra suplementar de 100 exemplares de amêijoa-macha, cujos comprimentos variaram entre os 7 e os 40 mm.

A técnica de captura do longueirão teve que ser alterada de forma a permitir a recolha dos exemplares juvenis, tendo-se substituído a adriça por uma pá ou pachil (ver Fot. 3 em anexo).

O tamanho da primeira maturação pode ser definido como o comprimento a partir do qual 50% dos indivíduos estão sexualmente maduros. Foram classificados como sexualmente maduros todos os exemplares que, através de exame microscópico das gónadas, se encontravam nos seguintes estados de maturação: III - Maturação, IV - Postura e V - Pós-postura. Os dados obtidos foram ajustados à seguinte curva logística:

$$P = \frac{1}{1 + \exp^{-r(L - L_{50})}}$$

onde (P) é a proporção de exemplares maduros em cada classe de comprimento (L); r é o declive da curva e (L_{50}) é o comprimento da primeira maturação (King, 1996).

RESULTADOS

Parâmetros ambientais

A variação da salinidade e da temperatura da água no local de amostragem do longueirão e da amêijoia-macha pode ser seguida pelas Figuras 2 e 3, respectivamente.

Na zona de captura do longueirão registou-se a salinidade máxima em Julho de 2002 (33,7) e a mínima em Maio de 2003 (20,2). Nos meses de Outubro e Novembro de 2002 e em Abril e Maio de 2003, ocorreram diminuições acentuadas na salinidade da água. De acordo com Moreira *et al.* (1993), a salinidade neste canal é significativamente influenciada pela precipitação. Barroso (1995) observou o mesmo fenómeno, tendo relacionado os períodos de redução de salinidade com variações sazonais da pluviosidade.

No que diz respeito à temperatura da água, observaram-se os valores mais baixos no Inverno, tendo sido atingido o valor mínimo de 10,8 °C em Janeiro de 2003. Os valores mais altos da temperatura ocorreram no Verão, tendo-se registado um pico máximo de 19,6 °C em Julho de 2003. A temperatura diminuiu entre os meses de Outubro e Janeiro, e a partir de Fevereiro, aumentou gradualmente até alcançar valores máximos no Verão.

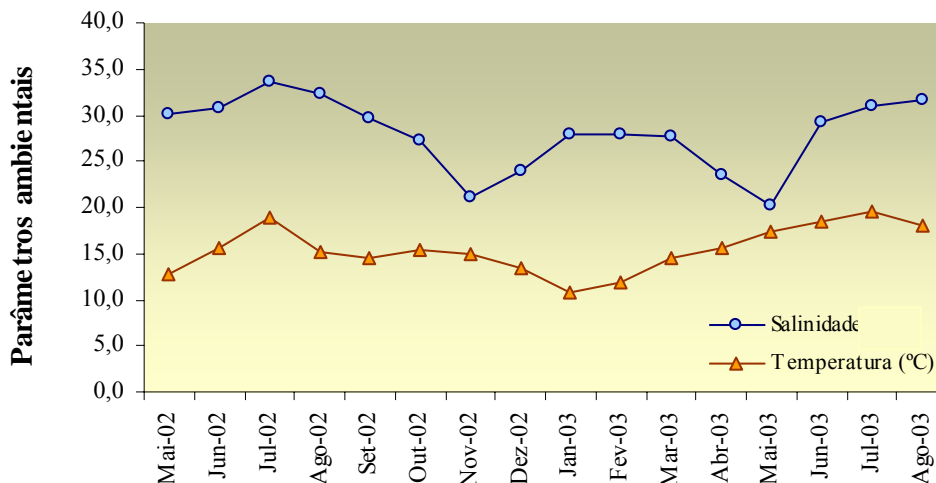


Figura 2. Evolução da salinidade e da temperatura da água no local de captura do longueirão, durante o período de estudo.

A salinidade no local de amostragem da amêijoia-macha apresenta valores mais elevados do que no local de captura do longueirão, tal facto poder-se-á justificar pela sua proximidade da barra e maior influência da água do mar neste local. O valor mínimo de salinidade (28,8) foi registado em Fevereiro de 2003 e o máximo (34,9) em Abril de 2002.

A temperatura da água medida neste local nas diversas campanhas de amostragem, variou entre 9,7 °C e 19,2 °C, registando-se a temperatura máxima em Maio de 2003 e a mínima em Janeiro do mesmo ano.

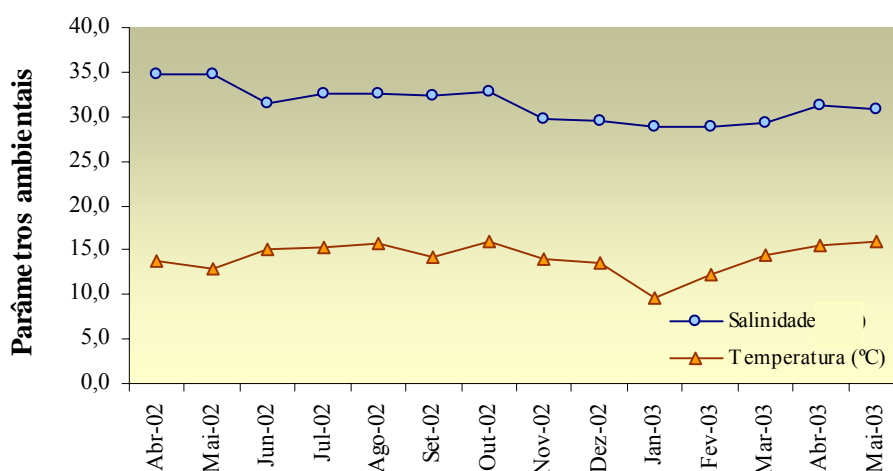


Figura 3. Evolução da salinidade e da temperatura da água no local de captura da amêijoia-macha, durante o período de estudo.

Sex ratio

O exame macroscópico permitiu, com base na diferença cromática das gónadas, a determinação do sexo de *S. marginatus*. Contudo, quando os exemplares se encontravam nas fases de repouso sexual, gametógenese inicial e pós-postura, a identificação do sexo não era suficientemente perceptível.

Na Tabela I, apresentam-se apenas os resultados referentes aos indivíduos para os quais foi possível identificar macroscopicamente o sexo. Observou-se uma percentagem ligeiramente inferior de machos relativamente às fêmeas (49,2% e 50,8% respectivamente). Verificou-se que o sex ratio não diferiu significativamente da razão 1:1 ($\chi^2 = 0,271$; g.l. = 1; $P > 0,05$).

Tabela I. *Solen marginatus*. “Sex ratio” dos exemplares colhidos entre Maio e Agosto de 2002 e entre Abril e Julho de 2003.

Mês \ Sexo	♂	♀	TOTAL	%♂	%♀
Maio 02	113	128	241	46,9	53,1
Junho 02	163	156	319	51,1	48,9
Julho 02	122	128	250	48,8	51,2
Agosto 02	69	63	132	52,3	47,7
Abril 03	29	52	81	35,8	64,2
Maio 03	21	25	46	45,7	54,3
Junho 03	29	28	57	50,9	49,1
Julho 03	43	28	71	60,6	39,4
TOTAL	589	608	1197	49,2	50,8

Na Tabela II, apresentam-se os resultados obtidos para a amêijoia-macha e referem-se exclusivamente aos exemplares para os quais foi possível determinar o sexo através da observação à lupa de esfregaços da gónada. Obtiveram-se resultados similares aos do longueirão, verificando-se que a proporção entre machos e fêmeas não diferiu significativamente da razão 1:1 ($\chi^2 = 0,012$; g.l. = 1; $P > 0,05$).

Tabela II. *Venerupis pullastra*. “Sex ratio” dos exemplares colhidos entre Abril de 2002 e Maio de 2003.

Mês \ Sexo	♂	♀	TOTAL	%♂	%♀
Abril 02	34	38	72	47,2	52,8
Maio 02	172	94	266	64,7	35,3
Junho 02	66	100	166	39,8	60,2
Julho 02	143	182	325	44,0	56,0
Agosto 02	70	84	154	45,5	54,5
Setembro 02	8	6	14	57,1	42,9
Outubro 02	8	9	17	47,1	52,9
Novembro 02	12	12	24	50,0	50,0
Dezembro 02	3	3	6	50,0	50,0
Janeiro 03	20	19	39	51,3	48,7
Fevereiro 03	37	36	73	50,7	49,3
Março 03	25	19	44	56,8	43,2
Abril 03	29	29	58	50,0	50,0
Maio 03	22	23	45	48,9	51,1
TOTAL	649	654	1303	49,8	50,2

Ciclo reprodutor de *Solen marginatus* e *Venerupis pullastra*

Ao longo do ciclo reprodutor as gónadas dos bivalves passam por uma série de alterações histológicas que reflectem o seu estado de maturação sexual. Neste trabalho, os diferentes estados do ciclo sexual foram classificados com base na escala de maturação proposta por Gaspar (1996), introduzindo-lhe apenas ligeiras modificações, de forma a adaptá-la às espécies em estudo.

Estado 0 - Repouso sexual

Nesta fase não se observa qualquer traço de sexualidade. Macroscopicamente a massa visceral apresenta-se plana, deixando transparecer os contornos do intestino. Microscopicamente este estado é caracterizado pela abundância de tecido conjuntivo, ausência de gâmetas residuais e escassas células germinais (Fig. 4).

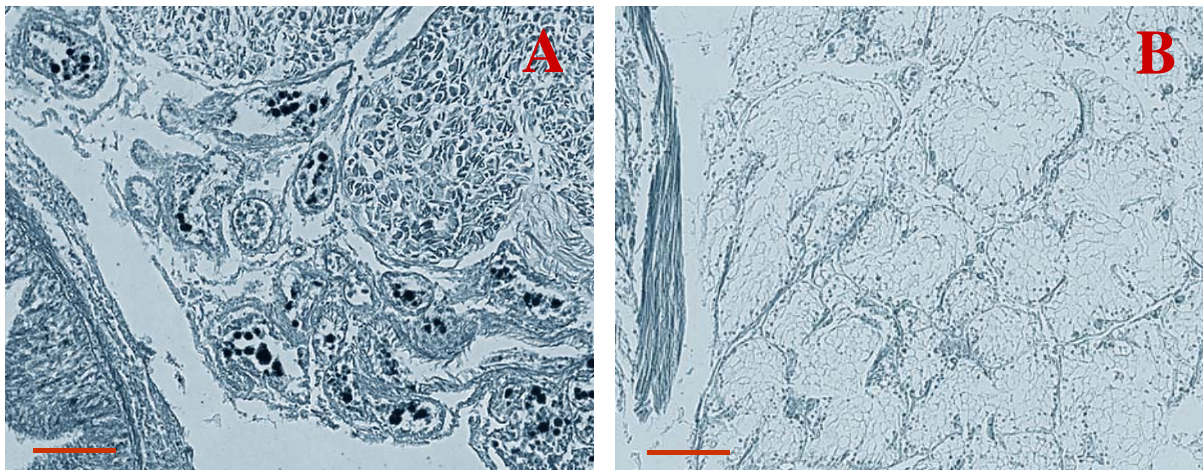


Figura 4. Estado 0. Microfotografias de cortes da gónada do longueirão (A) e da amêijoia-macha (B). Barras de escala: 100 μ m.

Estado I – Gametogénese inicial

Macroscopicamente ainda não se distingue o sexo dos animais. Histologicamente esta fase é caracterizada pelo início da gametogénese. Os folículos apresentam um maior diâmetro e paredes mais espessas. O tecido conjuntivo interfolicular é abundante. Os folículos estão ocupados pelos estados primários da gametogénese.

Nos exemplares do sexo masculino observam-se nas paredes dos folículos espermatogónias, que por divisão originam espermatócitos I, espermatócitos II, espermátides e espermatozóides, agrupados em colunas radiais. Neste estado de maturação a gónada feminina apresenta oócitos em fases iniciais de desenvolvimento que se encontram incrustados nas paredes dos folículos (Oi) ou ligados a estas por um pedúnculo citoplasmático (Op) (Fig. 5).

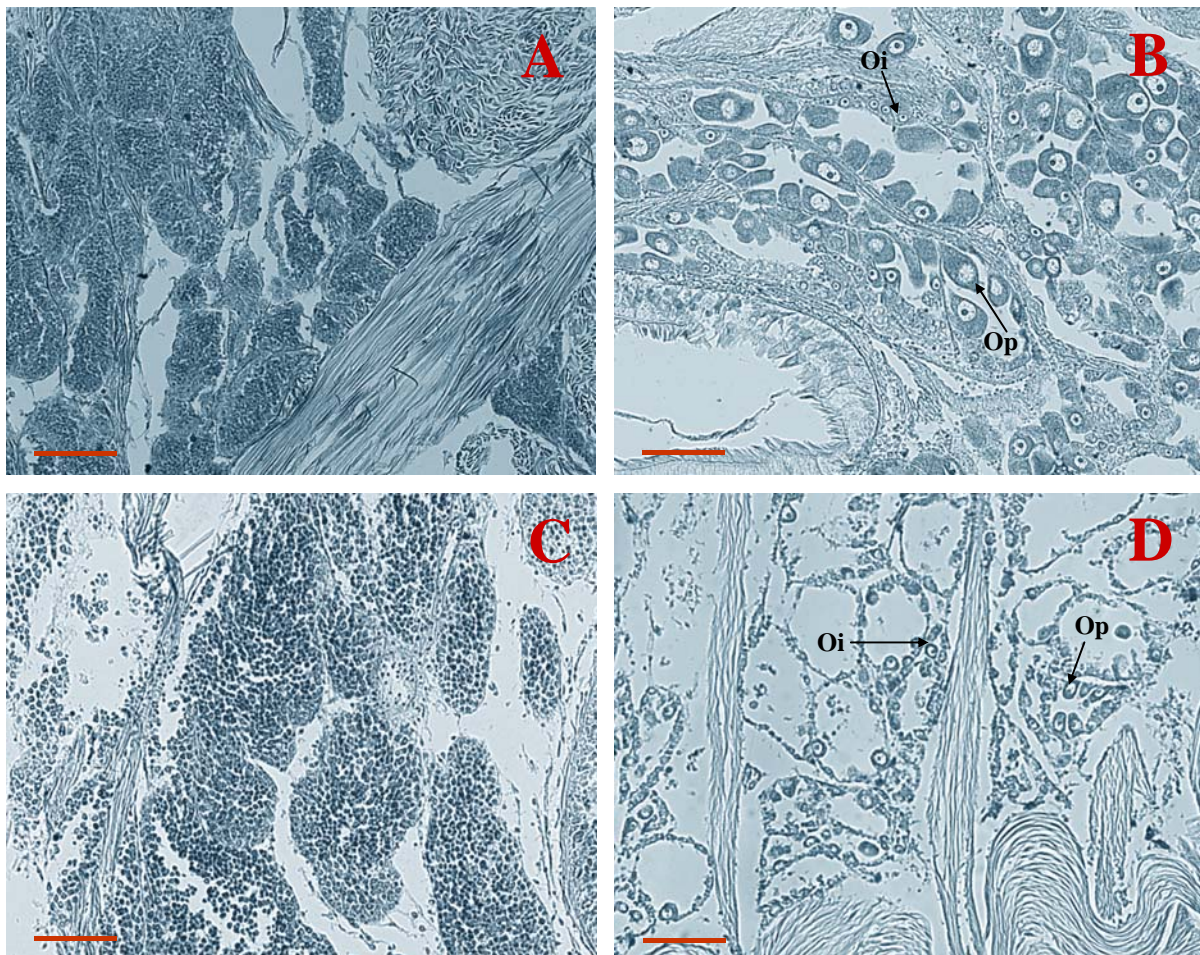


Figura 5. Estado I. Microfotografias de cortes da gónada masculina (A) e feminina (B) do longueirão e da gónada masculina (C) e feminina (D) da amêijoia-macha. Oi - oócito incrustado na parede do folículo; Op - oócito pedunculado. Barras de escala: 100 μ m.

Estado II – Gametogénese avançada

Neste estado ocorre um aumento nítido da gónada, que ocupa grande parte do manto e cobre parcialmente a massa visceral. No longueirão já se consegue determinar macroscopicamente o sexo dos exemplares. Histologicamente esta fase é caracterizada pelo aumento do diâmetro dos folículos e pela diminuição do tecido conjuntivo interfolicular. Dentro dos folículos observa-se uma coexistência de gâmetas em diferentes estados de maturação. Nos exemplares masculinos, o lúmen dos folículos apresenta-se preenchido por espermatozóides dispostos em trabéculas irradiantes (Es). Nas fêmeas, a maioria dos oócitos encontram-se ainda ligados à parede dos folículos por um pedúnculo (Op). Estes oócitos periformes partilham o interior dos folículos com outros em estado mais atrasado de desenvolvimento (Oi) e com alguns já maduros (Om) (Fig. 6).

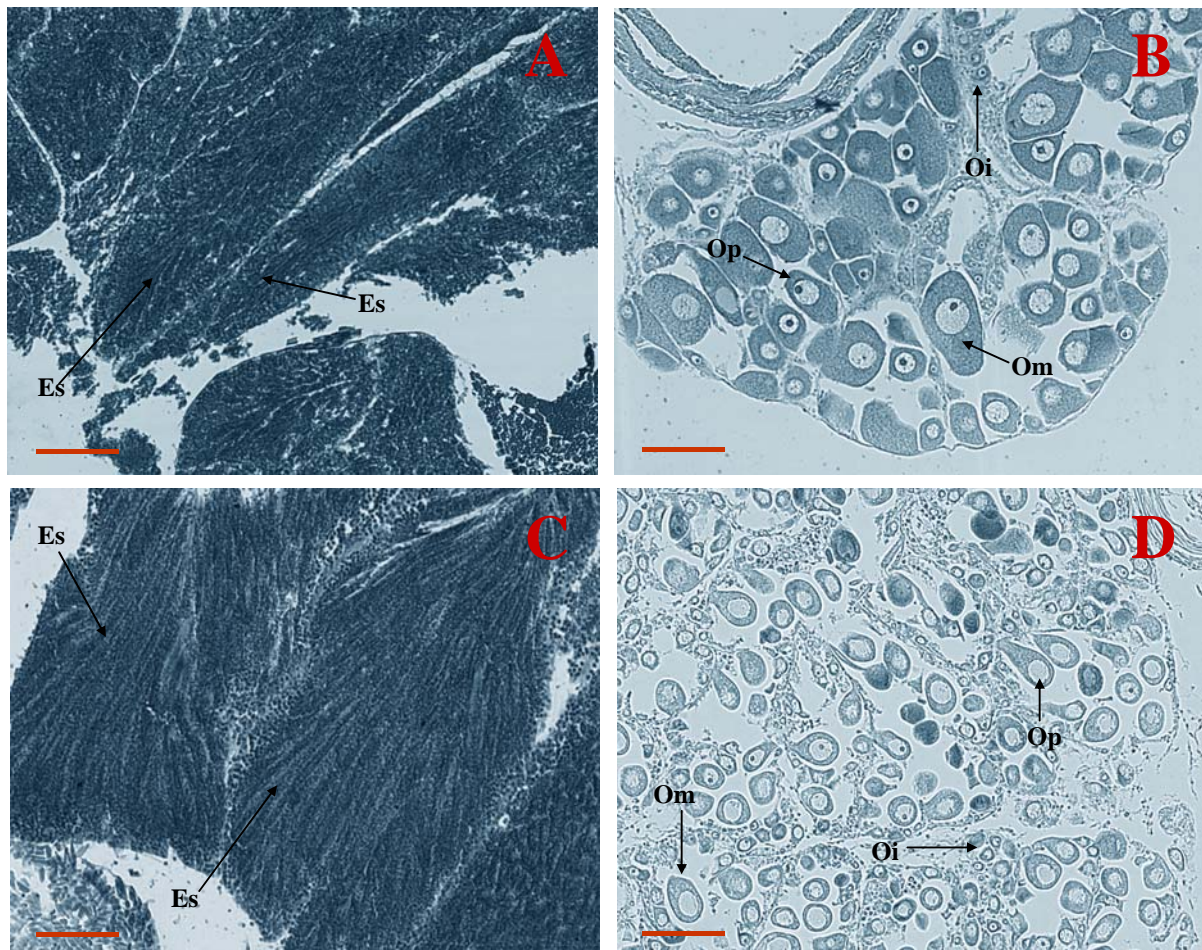


Figura 6. Estado II. Microfotografias de cortes da gónada masculina (A) e feminina (B) do longueirão e da gónada masculina (C) e feminina (D) da amêijoia-macha. Es – espermatozóides agrupados em trabéculas irradiantes ; Oi - oócito incrustado na parede do folículo; Op - oócito pedunculado; Om - oócito maduro. Barras de escala: 100 µm.

Estado III – Maturação

Neste estado é atingida a proliferação máxima da gónada. Esta cobre a totalidade da massa visceral e, no longueirão, chega mesmo a insinuar-se ao longo de quase todo o comprimento do pé do bivalve.

Microscopicamente pode observar-se o desaparecimento total do tecido conjuntivo interfolicular. Os folículos apresentam o seu diâmetro máximo, ocupando praticamente toda a gónada e encontram-se repletos de gâmetas maduros. Apesar desta fase caracterizar o fim da gametogénese ainda se observam, em ambos os sexos, células sexuais em diferentes estados de desenvolvimento. Nesta fase, os exemplares estão preparados para efectuar a emissão de gâmetas, no entanto ainda não a iniciaram. Nas fêmeas, os oócitos estão comprimidos no lúmen dos folículos, apresentando uma configuração poligonal e nos machos observa-se a desorganização das trabéculas irradiantes (Fig.7).

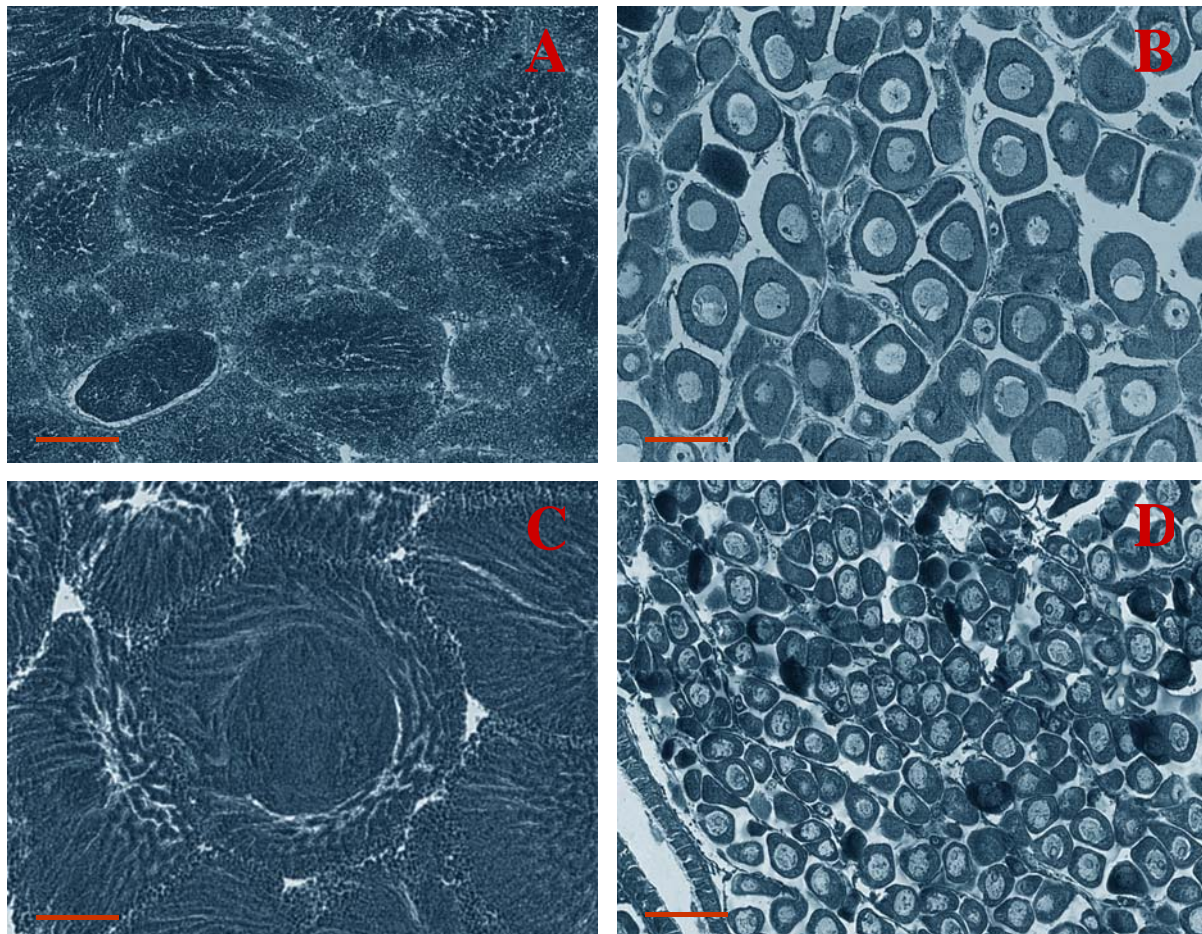


Figura 7. Estado III. Microfotografias de cortes da gónada masculina (A) e feminina (B) do longueirão e da gónada masculina (C) e feminina (D) da amêijoia-macha. Barras de escala: 100 μ m.

Estado IV – Postura

Macroscopicamente observa-se uma regressão da gónada. A massa visceral torna-se flácida e translúcida, voltando a deixar transparecer os contornos do intestino.

Histologicamente podem-se observar indícios de postura. Nesta fase verifica-se uma redução do diâmetro dos folículos acompanhada por um aumento do tecido conjuntivo interfolicular. À medida que a desova avança vai-se verificando a presença de folículos completamente vazios e o aparecimento de numerosos hemócitos.

A postura reflecte-se de forma análoga em ambos os sexos. Ocorrendo uma redução na densidade de gâmetas masculinos e femininos. Nas fêmeas, os oócitos assumem contornos mais arredondados como consequência da diminuição da pressão intrafolicular (Fig. 8).

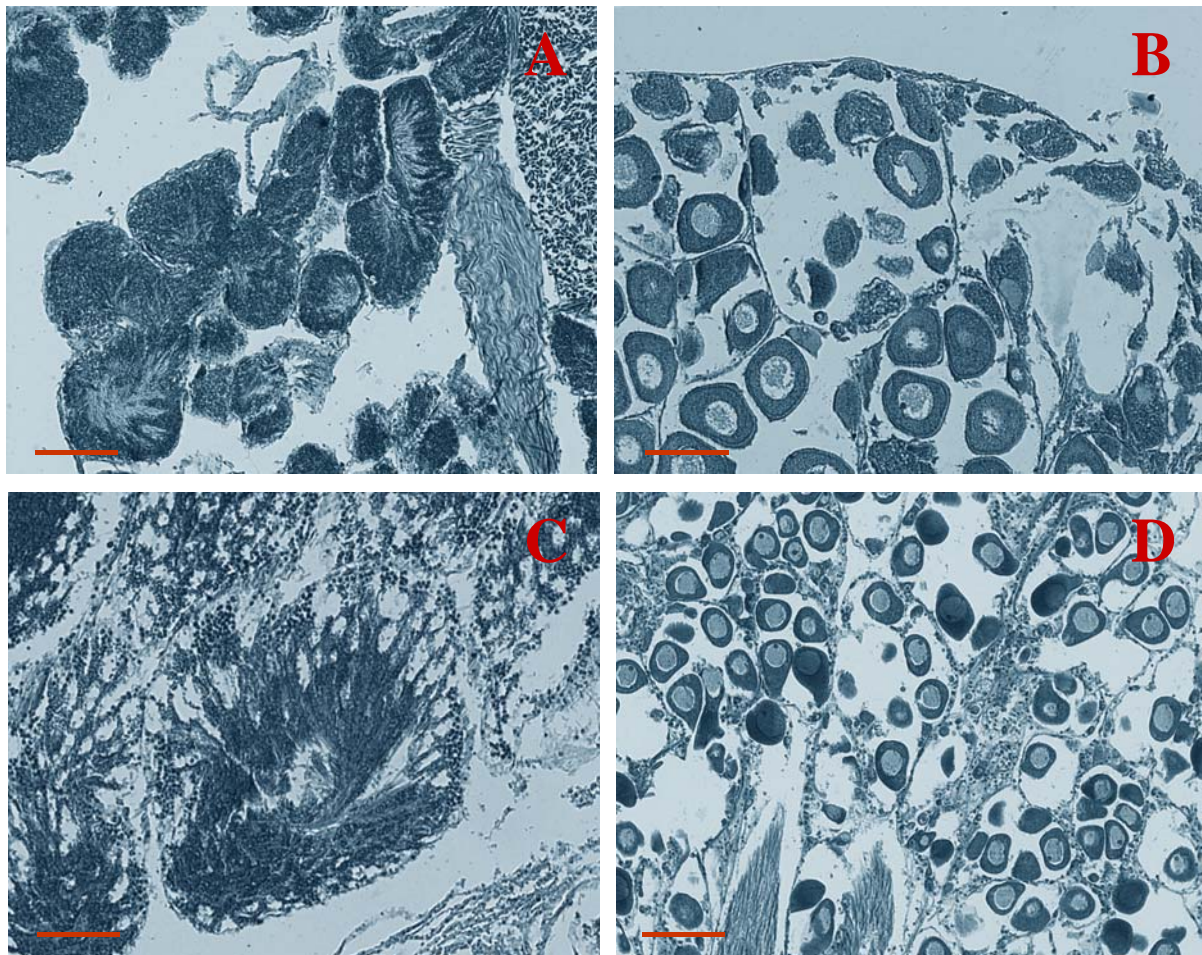


Figura 8. Estado IV. Microfotografias de cortes da gónada masculina (A) e feminina (B) do longueirão e da gónada masculina (C) e feminina (D) da amêijoa-macha. Barras de escala: 100 μ m.

Estado V – Pós-postura

No longueirão, a presença de alguns gâmetas residuais permite a distinção macroscópica do sexo de alguns exemplares. A parede da massa visceral encontra-se flácida e por transparência conseguem ver-se os contornos do intestino.

Histologicamente esta fase caracteriza-se por uma acentuada proliferação do tecido conjuntivo interfolicular e pela presença de numerosos hemócitos, que efectuam uma reabsorção dos oócitos e espermatozóides residuais (Or e Er) e de todo o material sexual não expelido (Fig. 9).

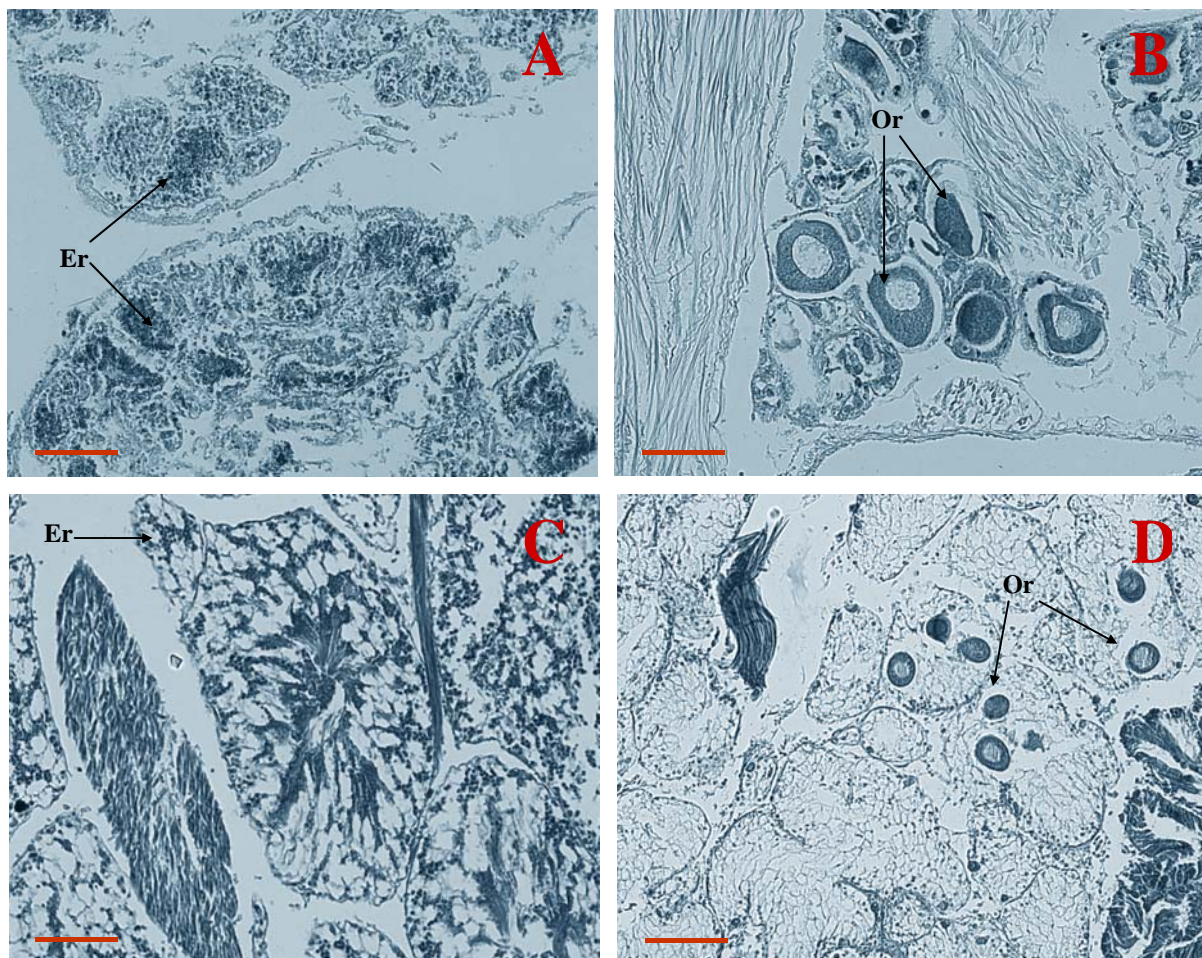


Figura 9. Estado V. Microfotografias de cortes da gónada masculina (A) e feminina (B) do longueirão e da gónada masculina (C) e feminina (D) da amêijoia-macha. Or - oócitos residuais; Er - espermatozóides residuais. Barras de escala: 100 μ m.

Na Figura 10 compara-se a percentagem mensal dos machos e das fêmeas do longueirão e da amêijoia-macha que se apresentam nos diferentes estados do ciclo reprodutor. Observou-se um sincronismo na maturação entre machos e fêmeas. Por esta razão, mostra-se também a variação sazonal da maturação das gónadas analisando conjuntamente os machos e as fêmeas (Figuras 11 e 13).

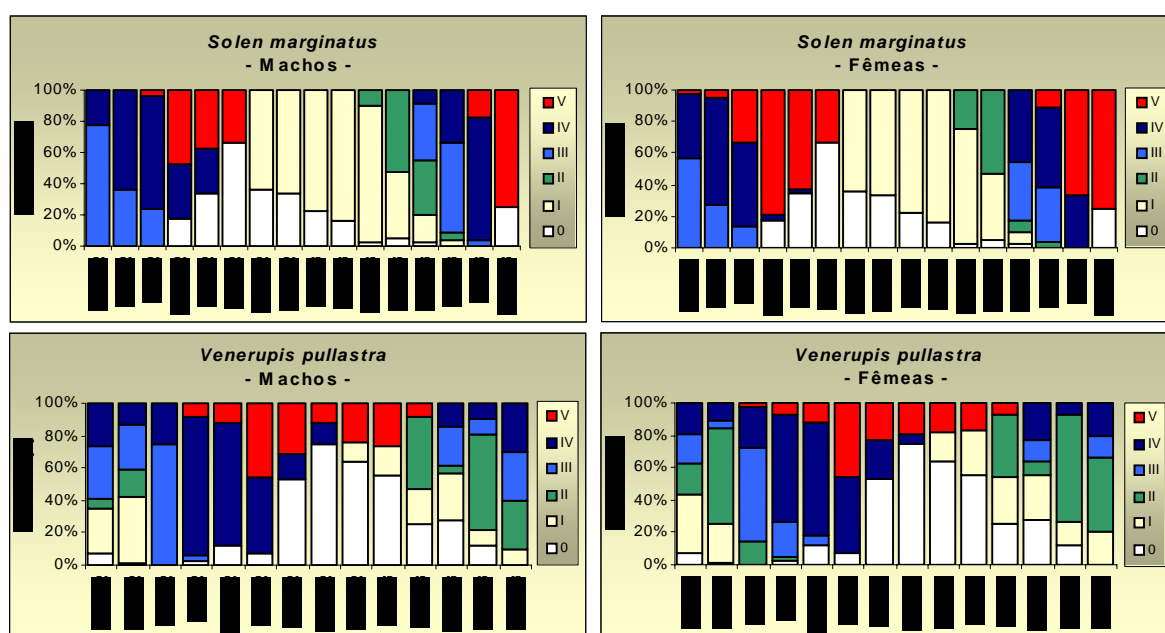


Figura 10. Variação mensal da percentagem dos machos e das fêmeas de longueirão e da amêijoia-macha em cada estado do ciclo reprodutor.

No que diz respeito ao ciclo reprodutor do longueirão (Fig. 11), verificou-se que os exemplares observados permaneceram em repouso sexual (estado 0) ou em fases iniciais de gametogénese (estado I) durante grande parte do Outono e no Inverno. A gametogénese evoluiu, e em Março surgiram os primeiros indivíduos no estado II (18%), esta percentagem aumentou para 53% durante o mês de Abril. Em Maio, a maior parte dos exemplares encontrava-se na fase de maturação (estado III), tendo uma pequena percentagem de indivíduos iniciado a postura (estado IV). Observou-se uma desova mais intensa nos meses de Junho e Julho. No final do Verão (Setembro) a maioria dos exemplares encontrava-se na fase de pós-postura (estado V). Enquanto que em 2002 a desova ocorreu entre Maio e Setembro, em 2003 o período de emissão foi mais curto, tendo decorrido entre Maio em Julho.

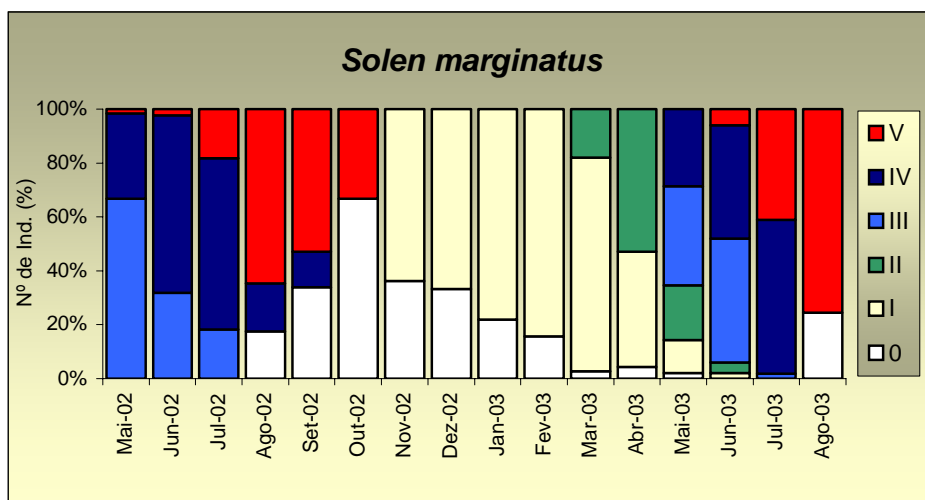
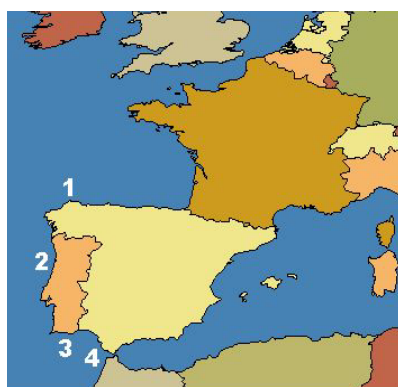


Figura 11. Variação da percentagem de machos e fêmeas do longueirão (analisados conjuntamente) nos diferentes estados de maturação. (0) repouso sexual; (I) gametogénese inicial; (II) gametogénese avançada; (III) maturação; (IV) postura; (V) pós-postura.

São poucos os estudos de teor reprodutivo dirigidos a esta espécie. Na Ria de Ortigueira (Espanha), o período de reprodução ocorre entre os meses de Março e Junho, apresentando picos máximos em Maio e Junho (Rodríguez-Moscoso *et al.*, 1996). No Canal de Tavira (Ria Formosa, Portugal) a emissão de gâmetas parece ocorrer entre os meses de Abril e Julho (Santos *et al.*, 1986). Bruzón *et al.* (2000) estudaram o ciclo reprodutivo desta espécie em Bajo de la Cabezuela (Baía de Cádiz, Espanha) e verificaram que a postura se processou entre Fevereiro e Setembro



Época de postura	Área geográfica	Referência
Março - Junho	1 - Ria de Ortigueira	Rodríguez-Moscoso <i>et al.</i> , 1996
Maio - Setembro	2 - Ria de Aveiro (2002)	Presente estudo
Maio - Julho	2 - Ria de Aveiro (2003)	Presente estudo
Abril - Julho	3 - Ria Formosa	Santos <i>et al.</i> , 1996
Fevereiro - Setembro	4 - Baía de Cádiz	Bruzón <i>et al.</i> , 2000

(Fig. 12).

Figura 12. Síntese de resultados obtidos por diferentes autores relativamente à época de postura do longueirão em diferentes áreas geográficas.

Relativamente ao ciclo reprodutivo da amêijoia-macha (Fig.13), verificou-se em Dezembro o início da gametogénese (estado I). O ciclo reprodutor evoluiu e em Fevereiro já se observaram cerca de 41% de indivíduos no fim da gametogénese (estado II). Alguns exemplares atingiram a maturação sexual (estado III) em Março, iniciando neste mês um período de pequenas emissões de gâmetas que se estendeu até Maio. Por extrapolação com os dados obtidos em 2002 a postura (estado IV) prolongou-se pelos seis meses subsequentes, apresentando contudo a sua expressão máxima nos meses de Verão, em particular em Julho e Agosto, onde se observou um pico máximo de desova que envolveu cerca de 76% da população. Entre Outubro e Novembro a população passou a ser dominada por indivíduos que se encontravam em fases de pós-postura (estado V) ou de repouso sexual (estado 0), situação que se prolongou até Janeiro.

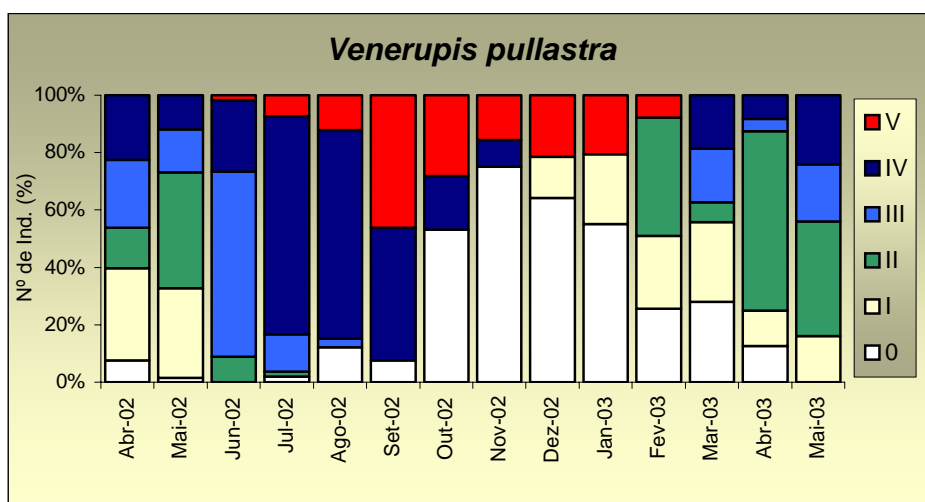


Figura 13. Variação da percentagem de machos e fêmeas de amêijoia-macha (analisados conjuntamente) nos diferentes estados de maturação. (0) repouso sexual; (I) gametogénese inicial; (II) gametogénese avançada; (III) maturação; (IV) postura; (V) pós-postura.

A comparação dos resultados por nós obtidos com os de Amaral (1995) na Ria de Aveiro, e com os de Villalba *et al.* (1993) na Ria de Vigo, mostra que, apesar de algumas diferenças no início e no final da época de postura, a espécie apresenta um extenso período de reprodução (da Primavera até ao Outono) ao longo do qual ocorre emissão parcial de gâmetas. Camacho (1980) verificou que a espécie apresenta uma estratégia de reprodução diferente, tendo observado uma

época de postura mais curta (entre Março e Maio) na Ria de Arosa, Espanha (Fig.14). Estas diferenças, poder-se-ão dever a factores ambientais específicos que influenciam a reprodução.



Figura 14. Síntese de resultados obtidos por diferentes autores relativamente à época de postura da amêijoia-macha em diferentes áreas geográficas.

Ogiva de maturação de *Solen marginatus* e *Venerupis pullastra*

Tal como foi referido anteriormente, o tamanho da primeira maturação (L_{50}) é geralmente definido como o comprimento a partir do qual 50% dos indivíduos estão sexualmente maduros. É com base no L_{50} que podem ser definidas estratégias de protecção dos recursos, nomeadamente a determinação dos tamanhos mínimos de captura.

As ogivas de maturação do longueirão (Fig.15), mostram que as fêmeas e os machos desta espécie atingem a maturação sexual com comprimentos totais de 47,7 mm e 44,7 mm, respectivamente.

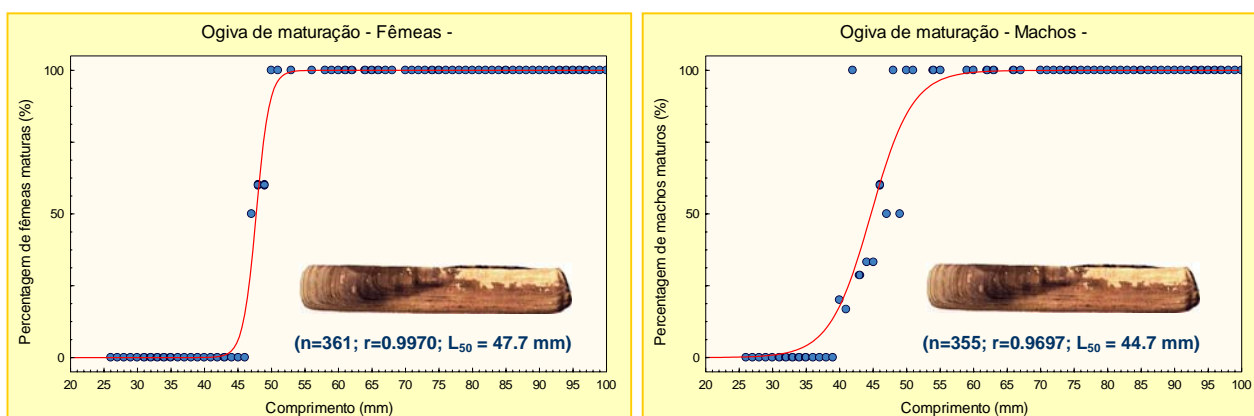


Figura 15. *Solen marginatus*. Ogivas de 1ª maturação estimadas para as fêmeas e para os machos desta espécie.

Na Figura 16 constata-se que tanto as fêmeas como os machos da amêijoia-macha atingem a maturação sexual com o comprimento total de 22.0 mm.

Não se encontrou qualquer referência sobre o comprimento da primeira maturação das duas espécies estudadas, pelo que não nos é possível comparar e discutir os resultados com os de outros autores.

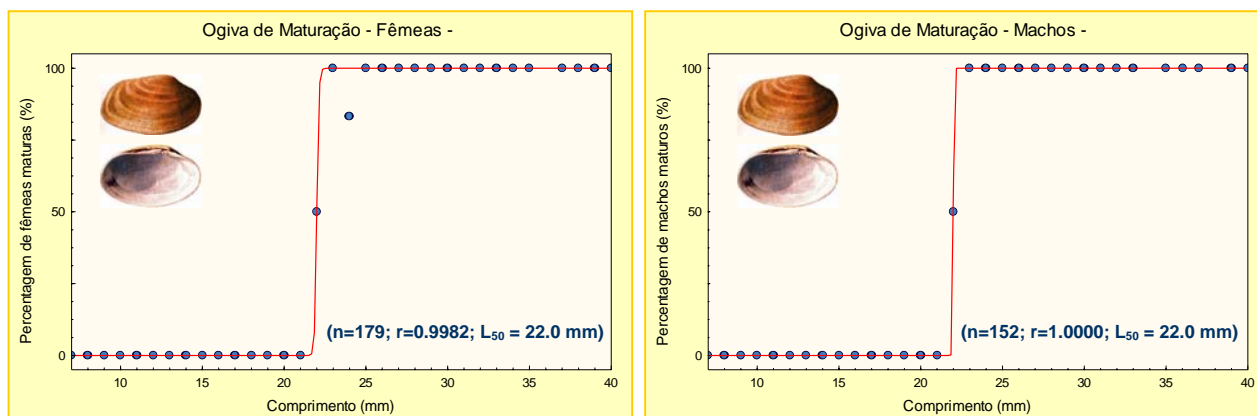


Figura 16. *Venerupis pullastra*. Ogivas de 1ª maturação estimadas para as fêmeas e para os machos desta espécie.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O ciclo reprodutor dos moluscos bivalves é o resultado de um complexo equilíbrio entre factores exógenos (e.g., salinidade, disponibilidade alimentar, temperatura, luz, fases lunares e marés) e factores endógenos (e.g., reservas alimentares, ciclo hormonal e genótipo). A interacção entre estes factores assegura um sincronismo no desenvolvimento gametogénico e na postura permitindo, assim, que a emissão de gâmetas ocorra em condições ambientais óptimas para o desenvolvimento larvar e embrionário.

Duinker *et al.* (2000) e Meneghetti *et al.* (2004) observaram uma relação entre o fotoperíodo e a gametogénese. Estes autores sugerem que o desenvolvimento das gónadas se inicia com o aumento do fotoperíodo.

O efeito da temperatura da água no desenvolvimento sexual dos moluscos bivalves tem sido estudado por diversos autores. Frías-Espéricueta *et al.* (1999) e Choi & Chang (2003) consideram que o aumento da temperatura da água induz os processos de gametogénese e que a postura é desencadeada quando se atinge uma temperatura crítica.

Bonardelli *et al.* (1996) estudaram a relação entre a temperatura da água e a postura e verificaram que a emissão de gâmetas coincidia com as altas temperaturas observadas no Verão. Segundo estes autores, os fenómenos de postura ocorriam devido a fortes aumentos ou variações da temperatura da água, mas não estavam associados a uma temperatura crítica para a desova.

Apesar da temperatura da água ter sido considerada por vários autores como o parâmetro prioritário no controlo dos ciclos reprodutivos, estudos recentes (e.g. Pazos *et al.*, 1996; Urrutia *et al.*, 1999; Urban, 2000; Rueda & Smaal, 2003; Rodriguez-Rúa *et al.*, 2003; Darriba *et al.*, 2004) apontam a relação entre a temperatura e a disponibilidade alimentar como um factor de elevada relevância. A temperatura para além de ter um efeito directo na gametogénese, pode indirectamente, afectar a disponibilidade de alimento (Ojea *et al.*, 2004).

Uma vez que não estudámos a relação entre os múltiplos factores exógenos e o padrão reprodutivo das espécies em estudo, não nos parece sensato referir a temperatura como factor de indução da postura. Pensamos, no entanto, que os ciclos gametogénicos do longueirão e da amêijoa-macha poderão apresentar padrões sazonais relacionados com a temperatura da água, tendo-se observado uma emissão de gâmetas mais intensa durante os meses mais quentes de Verão.

O estudo do ciclo reprodutor e da ogiva de maturação destas duas espécies permite fundamentar cientificamente algumas medidas de regulamentação do exercício da pesca, nomeadamente a criação de uma época de defeso e a definição de um tamanho mínimo de captura.

Os resultados obtidos sobre o ciclo reprodutor do longueirão revelaram que em 2002 a emissão de gâmetas ocorreu entre Maio e Setembro, enquanto que em 2003 o período de desova foi mais curto, entre Maio e Julho. Deste modo, poder-se-á implementar uma época de defeso entre Maio e Julho.

Tendo em conta o longo período de postura da amêijoa-macha na Ria de Aveiro, que decorre de Março a Novembro, propõe-se que a época de defeso, cuja duração deve ter em consideração, entre outros aspectos, o ciclo reprodutivo das outras espécies comerciais de bivalves, seja implementada no período de maior intensidade de emissão de gâmetas, ou seja, entre Junho e Setembro.

As ogivas de maturação das duas espécies estudadas permitiram-nos estimar os comprimentos da primeira maturação do longueirão e da amêijoa-macha.

No longueirão, os machos atingem o comprimento da primeira maturação (L_{50}) com 44,7 mm e as fêmeas com 47,7 mm. Dado que o tamanho mínimo de captura não está regulamentado propõe-se, de acordo com a biologia da espécie, a fixação de um valor nunca inferior ao maior L_{50} estimado (47,7 mm). Relativamente à amêijoa-macha, e dado que nas ogivas de maturação a transição de 0 a 100% de indivíduos maturos ocorre bruscamente a partir dos 21 mm, o tamanho mínimo de captura deverá ser superior ao estimado pelo L_{50} (22,0 mm). Assim, dever-se-á manter o actual tamanho mínimo de captura que se encontra legalmente fixado em 30 mm (Portaria n.º 1266/2004 de 1 de Outubro). A manutenção desta medida legislativa permite garantir uma boa capacidade de reprodução dos stocks, se os efectivos populacionais forem assegurados.

É importante lembrar que as épocas de defeso e o estabelecimento de tamanhos mínimos de captura são apenas alguns dos instrumentos para a normalização da pesca. Outros instrumentos envolvem as características da arte, restrição do número de licenças de pesca, quotas, etc.

Embora não tenha sido um dos objectivos iniciais do trabalho, verificámos que a captura do longueirão com adriça é um método eficiente, mas tem um impacte negativo sobre a espécie alvo. Muitos exemplares, especialmente os de menores dimensões, acabam por ficar feridos, estragados ou mortos, diminuindo ou anulando o seu valor comercial.

O Decreto Regulamentar n.º 43/87 de 17 de Julho, na redacção dada pelo Decreto Regulamentar n.º 7/2000 de 30 de Maio, que define as medidas nacionais de conservação e gestão dos recursos biológicos aplicáveis ao exercício da pesca em águas sob soberania e jurisdição nacionais, determina no seu artigo 53.º quais os métodos de pesca admitidos em águas interiores não marítimas, remetendo para portaria do membro do Governo responsável pelo sector das pescas o estabelecimento das disposições reguladoras das características das artes e condições de exercício da pesca por qualquer daqueles métodos.

Entre os vários métodos de pesca referidos no documento é indicada a “apanha”. Por apanha entende-se qualquer método de pesca que se caracteriza por ser uma actividade individual em que, de um modo geral não são utilizados utensílios especialmente fabricados para esse fim, mas apenas as mãos ou os pés, ou eventualmente um animal, sem provocar ferimentos graves nas capturas.

Sugerimos assim para a apanha deste bivalve, a utilização de sal comum ou de uma salmoura saturada. Este processo de captura, que consiste na introdução de sal nos orifícios produzidos pelos sífões do longueirão na superfície do sedimento, provoca a sua ascensão e subsequente captura.

Por dificultar o marisqueio em zonas submersas e por tornar o processo de captura mais lento, o sal comum não é normalmente utilizado pelos mariscadores na captura do longueirão, no entanto, demonstra ser um método mais “ecológico”, selectivo e sem impacte negativo na espécie alvo. Todos os exemplares são capturados vivos e sem danos, aumentando assim o seu tempo de conservação e o seu valor comercial. Além disso, este método permite que os exemplares de menores dimensões e sem valor comercial possam ser restituídos ilesos ao meio.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de expressar os seus sinceros agradecimentos aos técnicos do INIAP/IPIMAR – CRIPCentro, Raul Maia, Danny Bettencourt e Christian Simões que, de uma forma competente e empenhada, participaram na recolha das amostras.

BIBLIOGRAFIA

AMARAL, M.J.R.S.B., 1995. Variação sazonal da actividade reprodutiva e da condição de *Venerupis decussata* (L., 1803) e *Venerupis pullastra* (Montagu, 1767) na Ria de Aveiro. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências das Zonas Costeiras, apresentada à Universidade de Aveiro, Aveiro, 105 pp.

BARROSO, C.M.M., 1995. Metodologia do estudo do crescimento de moluscos bivalves e gastrópodes. Aplicação a duas populações de gastrópodes prosobrânquios da Ria de Aveiro: *Hinia reticulata* (Linnaeus, 1758) e *Littorina littorea* (Linnaeus, 1758). Trabalho de Síntese e Investigação Científica. Universidade de Aveiro, Aveiro, 80 pp.

BONARDELLI, J.C., HIMMELMAN, J.H., DRINKWATER, K., 1996. Relation of spawning of the great scallop, *Placopecten magellanicus*, to temperature fluctuations during downwelling events. *Marine Biology*, 124(4): 637-649.

- BRUZÓN, M., RODRÍGUEZ DE LA RÚA, A., ROMERO, Z., PRADO, M., 2000. Estudio de la población de muergos *Solen marginatus* (L., 1758) (Mollusca, Bivalvia) en el Bajo de la Cabezuela (Bahía de Cádiz, España). 3º Simpósio sobre a Margem Ibérica Atlântica, 25-27 de Setembro de 2000, Faro, Portugal.
- CAMACHO, A.P., 1980. Biología de *Venerupis pullastra* (Montagu, 1803) y *Venerupis decussata* (Linne, 1767), com especial referência a los factores determinantes de la produccion. *Bol. Inst. Espa. Oceano.*, 5: 43-76.
- CHOI, Y.H., CHANG, Y.J., 2003. Gametogenic cycle of the transplanted-cultured pearl oyster, *Pinctada fucata martensii* (Bivalvia : Ptepiidae) in Korea. *Aquaculture*, 220: 781-790.
- DARRIBA, S., JUAN, F.S., GUERRA, A., 2004. Reproductive cycle of the razor clam *Ensis arcuatus* (Jeffreys, 1865) in northwest Spain and its relation to environmental conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 311: 101-115.
- DUINKER, A., SAOUT, C., PAULET, Y.M., 2000. Effect of photoperiod on conditioning of the great scallop. *Aquaculture International*, 7 (6): 449-457.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M.G., OSUNA-LÓPEZ, J.I., PÁEZ-OSUNA, F., 1999. Gonadal maturation and trace metals in the mangrove oyster *Crassostrea corteziensis*: seasonal variation. *The Science of the Total Environment*, 231: 115-123.
- GASPAR, M.J.B., 1996. Bivalves do litoral oceânico algarvio. Aspectos da biologia, ecologia e da pescaria dos mananciais de interesse económico: Aplicação à gestão dos recursos. Dissertação para obtenção do grau de Doutor. Universidade do Algarve, Faro, 282 pp.
- KING, M., 1996. Fisheries Biology, Assessment and Management. Fishing News Books, Oxford, 341 pp.
- MENEGHETTI, F., MOSCHINO, V., DA ROS, L., 2004. Gametogenic cycle and variations in oocyte size of *Tapes philippinarum* from the Lagoon of Venice. *Aquaculture*, 240: 473-488.
- MOREIRA, M.H., QUEIROGA, H., MACHADO, M.M. & CUNHA, M.R., 1993. Environmental gradients in a southern europe estuaryne system: Ria de Aveiro, Portugal. Implications for soft bottom macrofauna colonization. *Netherlands journal of Aquatic Ecology*, 27 (2-4): 465-482.

- OJEA, J., PAZOS, A.J., MARTÍNEZ, D., NOVOA, S., SÁNCHEZ, J.L., ABAD, M., 2004. Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of *Ruditapes decussatus* in relation to the gametogenic cycle. *Aquaculture*, 238: 451-468.
- PAZOS, J.A., ROMÁN, G., ACOSTA, C.P., ABAD, M., SÁNCHEZ, J.L., 1996. Stereological studies on the gametogenic cycle of the scallop, *Pecten maximus*, in suspended culture in Ria de Arousa (Galicia, NW Spain). *Aquaculture*, 142: 119-135.
- RODRÍGUEZ-MOSCOSO, E., ARNAIZ, R., MOSQUERA, G., CERVIÑO, A., RUA, N., 1996. Gametogénesis, reservas energéticas y desarrollo larvario en el longueirón, *Solen marginatus* (Pennánt, 1777). IX S. Ibérico Est. Bentos Marino, 164-165.
- RODRÍGUEZ-RÚA, A., PRADO, M.A., ROMERO, Z., BRUZÓN, M., 2003. The gametogenic cycle of *Scrobicularia plana* (da Costa, 1778) (Mollusc: Bivalve) in Guadalquivir Estuary (Cádiz, SW Spain). *Aquaculture*, 217: 157-166.
- RUEDA, J.L., SMAAL, A.C., 2004. Variation of the physiological energetics of the bivalve *Spisula subtruncata* (da Costa, 1778) within an annual cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 301: 141-157.
- SANTOS, A., CASTRO, J., RAIMUNDO, L., 1986. O canal de Tavira (“Ria” formosa – Algarve): Caracterização geral do meio e análise da estrutura, dinâmica e produção das populações de *Cerastoderma edule* (L.), *Solen marginatus* MONTAGU e *Spisula solida* (L.). Relatório de estágio científico. Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Zoologia e Antropologia. Laboratório Marítimo da Guia.
- SPIEGEL, M.R., 1985. Estatística. Schaum Macgraw-Hill, São Paulo/Brasil, 454 pp.
- URBAN, H.-J., 2000. Culture potencial of the pearl oyster (*Pinctada imbricata*) from the Caribbean. I. Gametogenic activity, growth, mortality and production of a natural population. *Aquaculture*, 189: 361-373.
- URRUTIA, M.B., IBARROLA, I., IGLESIAS, J.I.P., NAVARRO, E., 1999. Energetics of growth and reproduction in a high-tidal population of the clam *Ruditapes decussatus* from Urdaibai Estuary (Basque country, N. Spain). *Journal of Sea Research*, 42: 35-48.

VILLALBA, A., CARBALLAL, M. J., LOPEZ, M.C., 1993. Estudio del ciclo gonadal de tres especies DE ALMEJA, *Ruditapes decussatus*, *Venerupis pullastra* y *Venerupis rhomboides* de las rias Gallegas. Actas IV Congreso Nac. Acuicult., 341-346.

ANEXOS

Técnica Histológica

Colheita

Para o estudo histológico da gónada removeu-se de cada exemplar, uma porção anterior da massa visceral com cerca de 3 a 5 mm de espessura. Esta porção foi colocada num frasco, devidamente rotulado, onde foi fixada com líquido de San Felice .

Preparação do fixador Líquido de San Felice:

Solução aquosa de óxido de crómio a 1%.....	16 partes
Formol a 4%.....	8 partes
Ácido acético glacial.....	1 parte

Fixação

Um bom fixador deve preservar as características morfológicas das estruturas celulares que se pretendem examinar, e conferir à peça uma determinada rigidez. A fixação actua na conservação das estruturas celulares interrompendo os processos de autólise e confere aos tecidos a rigidez necessária para que estes possam suportar as restantes etapas histológicas. As peças foram fixadas com líquido de San Felice durante 48 horas. Após um período de lavagem de cerca de três dias em água corrente, as peças foram conservadas em álcool a 70 % (v/v).

Desidratação

A desidratação elimina a água dos tecidos e prepara-os para a impregnação. A passagem pelos álcoois deve ser gradual para preservar as estruturas celulares. Nesta operação, a água foi extraída dos tecidos fazendo mergulhar sucessivamente as peças, durante uma hora, numa série ascendente de álcoois (90 %, 95 %, 100 % I e 100 % II).

Impregnação

Nesta etapa promove-se a penetração da parafina nos tecidos, tornando-os mais rígidos e preparando-os para o corte.

As peças desidratadas foram imersas em butanol durante três horas e de seguida foram colocadas numa mistura em partes iguais de butanol e parafina com ponto de fusão de 43°C. Durante uma hora, as peças permaneceram na estufa a uma temperatura de aproximadamente 47°C, o que permitiu a evaporação do butanol e a sua substituição gradual nos tecidos pela parafina.

A penetração prosseguiu na estufa durante a noite, com a introdução das peças em parafina com ponto de fusão de 43°C. No dia seguinte, as peças passaram para uma parafina com ponto de fusão de 47°C, permanecendo aí uma hora. Após este período, as peças foram mudadas para uma parafina com elevado ponto de fusão (54°C) onde voltaram a aguardar uma hora antes de se prepararem os blocos.

Inclusão

A inclusão das peças num bloco permite a execução das restantes etapas histológicas. Nesta operação as peças foram colocadas, segundo uma orientação predefinida, em moldes próprios para a formação de blocos.

A inclusão fez-se em parafina com alto ponto de fusão (54-56°C), administrada por um dispensador de parafina (Electrothermal paraffin wax dispenser). Enquanto a parafina ainda estava líquida foram introduzidas etiquetas em cada um dos moldes de modo a identificar os exemplares. Deixaram-se os moldes à temperatura ambiente e logo após a solidificação da parafina desenformaram-se os blocos. Estes, foram submetidos durante algum tempo, a uma temperatura de cerca de 5°C antes de serem seccionados.

Corte ou seccionamento

Os blocos, após refrigeração, foram cortados em secções de 5 a 6 µm de espessura. A execução dos cortes nos blocos fez-se com auxílio de um micrótomo manual (Reichert-Jung mod. 1130 / Biocut).

O corte seriado de finas secções do bloco forma uma fita vulgarmente conhecida por “ténia”. Durante o corte, as ténias foram mantidas esticadas com o auxílio de pincéis de cerdas finas. As ténias obtidas foram depois colocadas, suavemente, sobre uma placa de cartão.

Montagem, distensão e colagem dos cortes

As secções da ténia consideradas necessárias foram retiradas com o auxílio de um bisturi e depois foram montadas, com a face mais brilhante voltada para baixo, em lâminas de vidro sobre uma solução de água albuminada.

Para permitir a distensão dos cortes, as lâminas foram colocadas sobre uma placa de aquecimento (Electrothermal MH 6616) mantida a uma temperatura moderada. O excesso de água albuminada foi retirado com papel de filtro.

Preparação da solução de água albuminada:

Colocar uma clara de ovo num copo e agitar vigorosamente, de seguida filtrar o preparado e adicionar uma pequena pedra de timol. Dissolver 14 gotas do preparado em 50 ml de água destilada.

Secagem

Para garantir a completa adesão da peça à lâmina, retirou-se o excesso da solução colante (água albuminada) com papel de filtro. De seguida, colocaram-se as lâminas numa estufa a 40°C, durante 24 horas.

Desparafinação

A parafina foi retirada das peças através da imersão das lâminas em xilol durante cerca de 30 minutos. Durante esta operação foram usadas duas tinas de imersão e o xilol foi mudado regularmente.

Re-hidratação

Para permitir que os cortes possam ser corados, é necessário proceder à sua re-hidratação. A re-hidratação é conseguida através da passagem das peças por banhos com concentrações decrescentes de álcoois. As lâminas foram mergulhadas durante 5 minutos em cada uma das tinas, contendo uma série descendente de álcoois (100 %, 95 % e 75 %) e no final foram imersas em água corrente durante cerca de 15 minutos.

Coloração

A coloração permite evidenciar as estruturas que se pretendem estudar. Neste trabalho usou-se como corante o Azul de Toluidina.

Preparação do Azul de Toluidina:

Diluir 1g de bórax em 100 ml de água destilada (agitar no vórtex). Adicionar posteriormente 1g de azul de toluidina e homogeneizar a solução.

Os cortes foram corados lâmina a lâmina, com a colocação de uma gota deste corante sobre cada corte. Após a aplicação do corante, as lâminas foram passadas imediatamente por água. O processo foi repetido quando se verificou uma fraca coloração. Enquanto se processava uma lâmina as outras ficavam imersas em água.

Desidratação

Nesta etapa as peças foram desidratadas através da sua passagem por uma série ascendente de álcoois (75 %, 95 % e 100 %). Esta passagem foi relativamente rápida, não demorando mais de um minuto em cada tina.

Clareamento ou diafanização

Este processo tem como objectivo tornar a peça mais transparente e possibilitar a mistura com o meio de montagem. Depois da passagem das lâminas pela série ascendente de álcoois, foram mergulhadas, sucessivamente, em duas tinas com xilol. Na primeira tina as lâminas foram enxaguadas e na segunda sofreram uma paragem durante cerca de 10 minutos.

Montagem

Nesta operação, as peças são colocadas num meio de montagem cujo índice de refacção é semelhante ao do vidro. O meio de montagem utilizado foi o Entellan.

Com o auxílio de uma vareta de vidro foi colocada uma gota de Entellan em cima do corte. Sobre o meio de montagem foi colocada, cuidadosamente, uma lamela. Para eliminar as bolhas de ar que, por vezes, se formavam entre a lâmina e a lamela, exerceu-se uma ligeira pressão do centro para a periferia da lâmina.

Observação microscópica

Após a montagem das preparações, os cortes histológicos foram observados ao microscópio óptico (ZEISS Axioskop 2 plus), e classificados segundo os diferentes estados de maturação.



Fotografia 1. Adriça. A adriça é um utensílio de mão utilizado na captura do longueirão. É constituída por uma haste em aço inox com cerca de 80 cm de comprimento que termina numa ponta alargada, normalmente em forma de cone ou seta. O longueirão quando enterrado forma dois pequenos orifícios adjacentes (em forma de oito) na superfície do sedimento, produzidos pelos sífões exalante e inalante. A adriça é introduzida nestes orifícios facilmente identificáveis pelos mariscadores, e é retirada após ter trespassado o bivalve no sentido ântero-posterior, aproveitando a abertura entre as valvas.



Fotografia 2. Ganchorra. Arte de pesca utilizada na captura de amêijoa-macha.



Fotografia 3. Pá ou Pachil. Utensílio de apanha de isco (casulo) na Ria de Aveiro. Arte de pesca utilizada neste trabalho na captura de exemplares juvenis de longueirão.