



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



## Estudo da relação entre o peso dos otólitos, a idade e comprimento dos juvenis de sardinha (*Sardina pilchardus*, Walb.)

Bolseiro: Andreia Silva

Tutor da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa: Prof. Pedro Ré

Orientador do Instituto de Investigação das Pescas e do Mar, IPIMAR: Isabel Meneses e Alexandra Silva

### Resumo

Para determinar quais os factores que melhor podem ser utilizados na determinação da idade de *Sardina pilchardus*, com menos de um ano, realizou-se um estudo a uma amostra de 897 otólitos de sardinhas capturadas entre os meses de Maio de 2004 a Janeiro de 2005 ao largo da costa de Portugal. Foi usado a relação entre, peso e diâmetro dos otólitos e o comprimento e peso das sardinhas, sendo sugerido que a melhor variável para estimar a idade é o peso dos otólitos, tal como havia sido previsto em alguns estudos com adultos de sardinha e de outras espécies. Apesar do peso dos otólitos, por si só, prever a idade, é necessário o uso de outros preditores para validar a precisão e o rigor da estimativa.

**Palavras-chave:** *Sardina pilchardus*; incrementos diários; pesos dos otólitos; diâmetro dos otólitos; comprimento individual

### 1. Introdução

A sardinha é um dos recursos pesqueiros mais importantes em Portugal, representando 40% em peso (17% em valor) do pescado desembarcado (DGPA 2005 citado por Silva, 2007). Para compreender a dinâmica da sardinha é necessário estudar a biologia e ecologia das primeiras fases de desenvolvimento. Os estudos de idade e de crescimento de juvenis são úteis para avaliar respostas somáticas às variações ambientais, compreender causas de mortalidade e causas de variabilidade de recrutamento (Jones, 1992; Meneses, 2003; Alemany, 2006).

Estes estudos são geralmente baseados na interpretação da microestrutura dos otólitos, geralmente os *sagittae*. A sua formação envolve variações rítmicas na deposição e tamanho das matrizes orgânicas e dos cristais de carbonato de cálcio (Morales-Nin, 2000). Em muitas espécies, estas estruturas mostram uma sequência de zonas concêntricas, opacas e translúcidas (hialinas), constituindo os anéis diários que permitem fazer a estimativa da idade dos peixes em dias (Pannella, 1974; Wootton; 1998; Morales-Nin, 2000).

No caso da sardinha, o método de determinação da idade está bem validado nas larvas e o crescimento larvar é bem conhecido (Ré, 1986b; Silva e Miranda, 1992). Por outro lado, a determinação da idade e do crescimento dos juvenis tem sido limitada pela complexidade e morosidade do trabalho prático da leitura dos otólitos (Meneses, 2003; Alemany, 2006).

A exploração de métodos complementares ou alternativos à leitura dos anéis diários poderá vir a diminuir algumas destas dificuldades.

Tem sido sugerida, embora seja pouco usada, uma relação directa entre a massa dos otólitos e a idade do peixe adulto verificando-se que esta relação do peso com outras características morfológicas poderá ser utilizada para estimar a idade dos indivíduos (Pawson, 1990; Fletcher, 1991 e 1995; Labropoulou e Papaconstantinou, 2000; Araya *et al.*, 2001). Este método, mais expedito e menos dispendioso, tem sido aplicado a adultos de vários peixes, inclusivé a outras espécies de sardinha (Pawson, 1990; Fletcher, 1991 e 1995). Os bons resultados obtidos em adultos levaram alguns investigadores a recomendarem a sua exploração em juvenis tendo em vista as dificuldades de leitura directa das idades (Pawson, 1990; Alemany, 2006).

Este trabalho teve como objectivo principal descrever a relação entre a idade dos juvenis de sardinha e o peso dos respectivos otólitos, utilizando amostras recolhidas mensalmente entre 2004 e 2005, na costa norte Portuguesa. Exploraram-se ainda outras características dos otólitos (diâmetro) e dos indivíduos (comprimento total e peso total), potencialmente relacionadas com a idade e que poderiam auxiliar na explicação da idade.

## 2. Metodologia

As sardinhas foram capturadas na costa de Portugal entre os meses de Maio de 2004 a Janeiro de 2005 ao largo da costa de Portugal (Tabela 1). Foram amostrados 1795 indivíduos aos quais se extraíram 897 otólitos *sagittae*, e foram registados os seus dados biológicos, tais como comprimento e peso total individual. Distribuíram-se os indivíduos por classes de comprimento ao 0,5 cm. Estratificou-se cada amostra com base nesta distribuição de comprimentos, seleccionando-se as classes extremas e a classe modal (exceptuou-se a amostra de 4 de Junho de 2004 em que apenas se extraíram otólitos até à classe dos 13,5 cm).

Preservaram-se, em tubos ependorff, 5 otólitos *sagittae* de cada uma das classes referidas, totalizando assim 306 otólitos que foram depois pesados.

Destes 306 otólitos, seleccionaram-se 5 otólitos de cada mês, com um intervalo de pelo menos 30 dias

entre eles, representativos da moda das distribuições de comprimentos para medição de diâmetro dos otólitos e leitura de anéis diários, totalizando 50 otólitos. Destes 50 otólitos escolhidos, 18 foram excluídos devido a problemas de mal formações (fig. 2) ou terem sido sobrepolidos, não sendo possível contabilizar os anéis diários.

Os meses escolhidos foram: 20 de Maio de 2004, 28 de Junho de 2004, 20 de Junho de 2004, 24 de Agosto de 2004, 23 de Setembro de 2004, 11 de Novembro de 2004 e 10 de Janeiro de 2005 (Tabela 1).

Foram usados os pesos dos otólitos dos restantes meses para estimar a idade a partir do modelo de regressão linear.

### 2.1. Pesagem dos otólitos

As membranas ou os seus resíduos aderem à superfície dos otólitos pelo que se procedeu à remoção mecânica com pinças de relojoeiro e um pincel numa solução de hipoclorito de sódio (duas a três gotas em cerca de 5 ml de água) (Secor *et al.*, 1992). Lavaram-se 306 *sagittae* esquerdos.

Posteriormente, foram colocados a secar na estufa a uma temperatura de 60 °C (Fletcher, 1991) durante 14 horas, seguido de uma hora num exsiccador.

Depois de lavados, os otólitos foram transferidos para placas com alvéolos escavados forrados com papel

**Tabela 1** – Dados relativos às amostras estudadas de Maio de 2004 a Janeiro de 2005. POV refere-se ao porto da Póvoa do Varzim; MAT refere-se ao porto de Matosinhos; NOE- número de otólitos extraídos; NOP – número de otólitos pesados; NOL- número de otólitos com leituras de incrementos diários.

Data	Porto	Embarcação	NOE	NOP	NOL
20-05-2004	POV	ZÉ CALAIS	98	56	12
27-05-2004	POV	ARMADORES	50	38	0
04-06-2004	POV	VIRGÍLIO MIGUEL	135	55	0
28-06-2004	POV	ZÉ CALAIS	52	14	5
01-07-2004	MAT	DEUS DO SOL	49	15	0
20-07-2004	POV	ZÉ CALAIS	71	14	3
26-07-2004	MAT	DEUS DO SOL	61	15	0
24-08-2004	MAT	FÁTIMA TORRÃO	65	15	2
06-09-2004	MAT	ZÉ CALAIS	62	15	0
23-09-2004	MAT	MESTRE DA GALILEIA	60	22	4
16-11-2004	POV	FÁTIMA TORRÃO	71	15	0
19-11-2004	MAT	HENRIQUE CAMBOLA	55	17	2
10-01-2005	MAT	ABRAÃO MIGUEL	68	15	4
		<b>Total</b>	897	306	32

de alumínio.

Posteriormente, foram colocados a secar na estufa a uma temperatura de 60 °C (Fletcher, 1991) durante 14 horas, seguido de uma hora num exsiccador. Foram depois pesados numa micro-balança Mettler UMT2 (Max=2,1g; d=0,0001 mg).

De forma a verificar se existem diferenças entre os pesos dos otólitos direitos e esquerdos, escolheu-se uma das subamostras e pesaram-se ambos os *sagittae*. A partir de análise estatística verificou-se que não existem diferenças significativas entre o otólito direito e esquerdo (teste – t emparelhado; n=41; p> 0,05). Desta forma escolheu-se aleatoriamente o otólito esquerdo para a pesagem e leitura de anéis diários.

## 2.2. Montagem dos otólitos

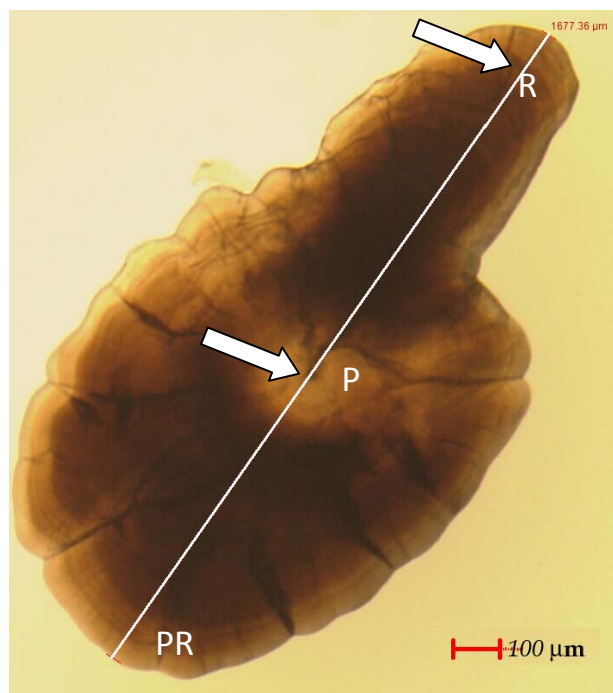
Os otólitos foram montados à lupa com o sulco (face mediana do otólito) voltado para baixo numa lâmina de vidro, devidamente identificada, com uma gota de resina de secagem rápida e dureza média (Entellan®). De seguida, foram colocados na estufa a 37-40°C, durante pelo menos 12 horas, deixando-se posteriormente arrefecer num local livre de poeiras.

## 2.3. Medição do diâmetro

O diâmetro do sagitta foi medido com um sistema de imagem devidamente calibrado, composto por uma lupa binocular Olympus SZX 1, uma câmara digital Sony DFW-SX 910 ligada a um computador com um programa (Visilog 6.3) de digitalização e tratamento de imagem.

As ampliações escolhidas foram aquelas que permitiam observar o otólito em todo o seu comprimento.

Para se obter o diâmetro do otólito, mediu-se o segmento de recta traçado desde o ponto médio do rostro até ao postrostro. Os pontos de referência para o traçado foram o *primordium* (núcleo) e o centro do arco do rostro do otólito (Fig. 1).



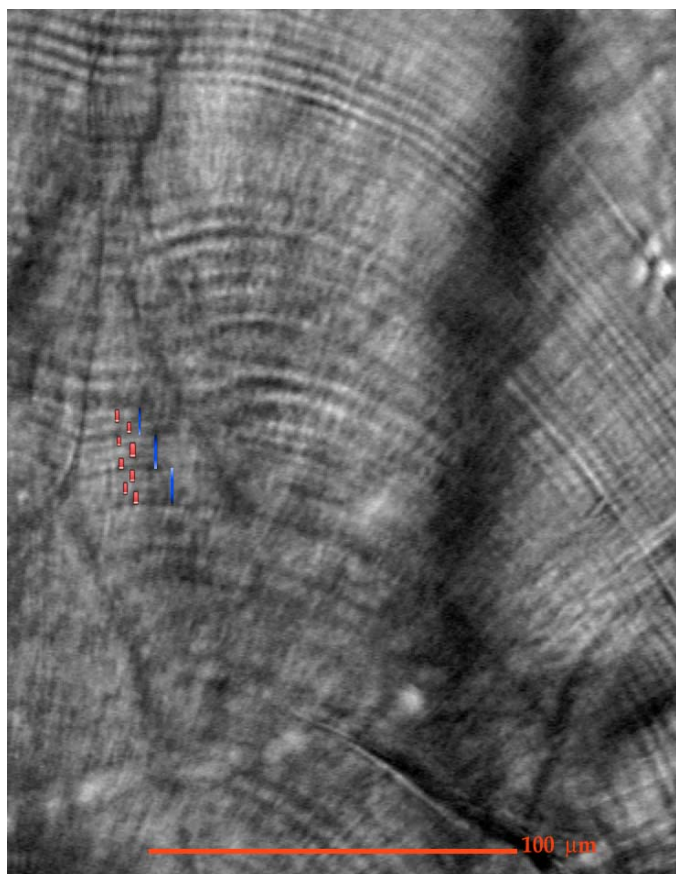
**Figura 1** – Sagitta de juvenil sardinha. Orientação do eixo usado para as medições e os pontos de referência (setas). R rostro; P *primordium*; PR postrostro. Diâmetro do otólito 28\_06\_04\_27\_0107\_250\_0u a 250X, usando luz transmitida.



**Figura 2** – *Sagitta* de juvenil com mal formação. Otólito 20\_07\_04\_31\_0119\_250\_t0 a 250X usando luz reflectida.

**Tabela 2** – Sumário da análise das amostras de otólitos de *S. pilchardus* para n= 32 otólitos. C\_ind – comprimento individual da sardinha; P\_ind – Peso individual da sardinha; D\_otól – Diâmetro dos otólitos; P\_otól – peso dos otólitos;

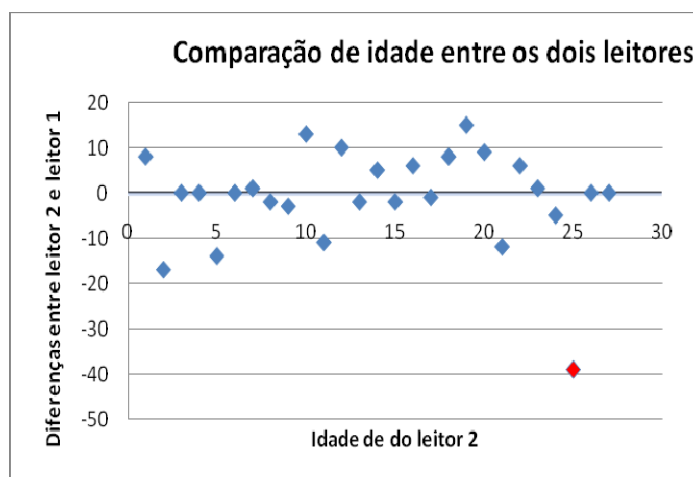
	Média	Mínimo	Máximo	Desvio padrão
<b>C_indv (cm)</b>	10,2	6,70	12,90	1,93
<b>P_ind (µm)</b>	8,2	1,79	15,70	4,13
<b>D_otól (µm)</b>	1757,3	976,31	3447,49	592,10
<b>P_otól (mg)</b>	0,42	0,12	0,73	0,21
<b>Idade (dias)</b>	165,6	103	293	49,47



**Figura 4** – Otólito de juvenil \_04\_200x a 200X. Barras azuis são anéis diários. Barras vermelhas são anéis subdiários.

#### 2.4. Determinação de Idades

Após estas medições, os otólitos foram polidos com lixas microabrasivas com grão de 30 µm e 9 µm humedecidas com água destilada, pressionando e movendo circularmente a lâmina sobre a lixa. A preparação foi verificada frequentemente ao microscópio, terminando a operação ao atingir o plano



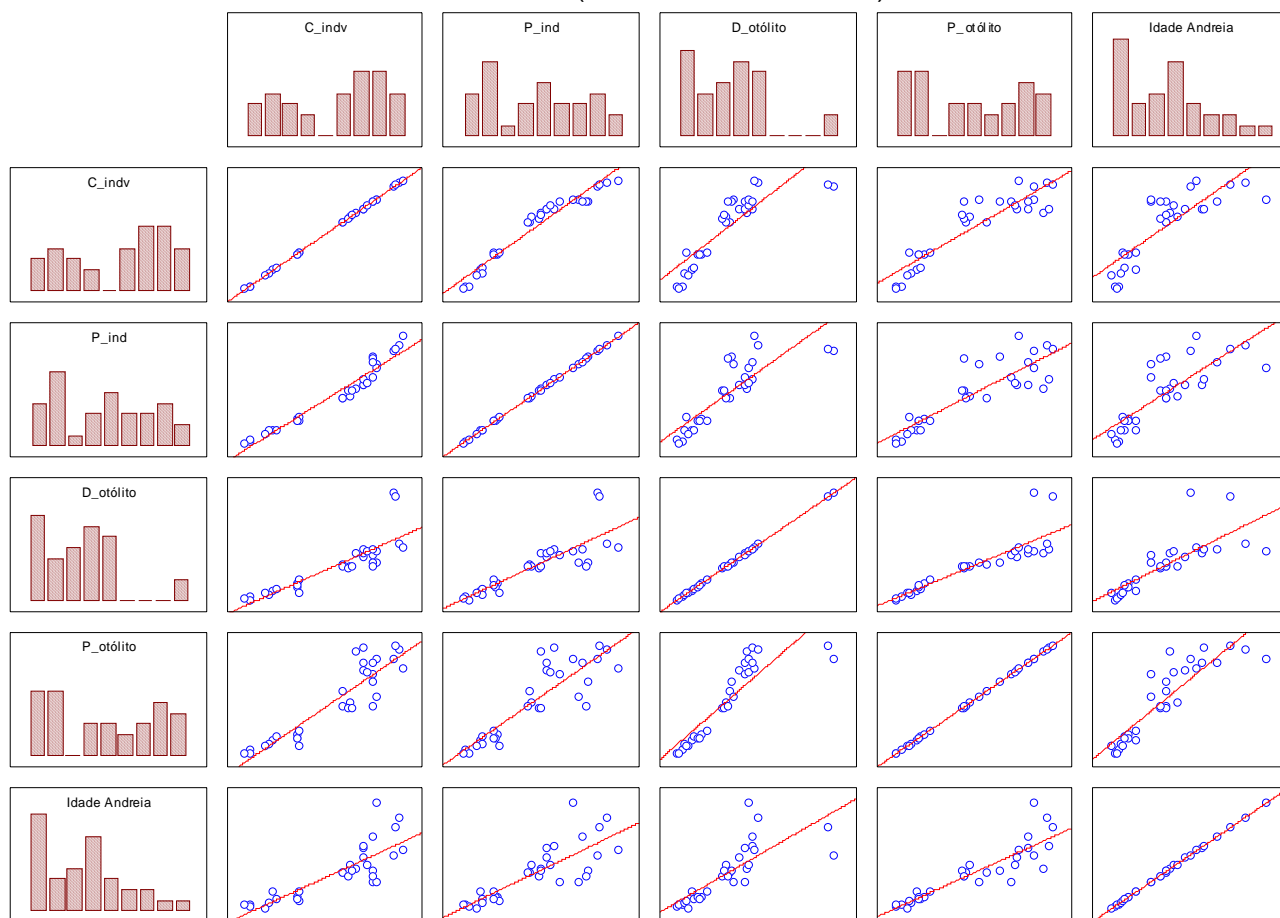
**Figura 3** - Comparação de leitura de idades entre o leitor 1 e o leitor 2. Pontos azuis – Co-variância <10%; ponto vermelho – co-variância > 10 %

em que os anéis diários estavam já bem visíveis (plano do núcleo). Esta difícil operação exigiu algum treino prévio para que não se ultrapassasse o plano referido e para não sobre-lixar o núcleo ou qualquer outra zona do otólito. Utilizou-se então uma lixa de grão 0.3 µm para espelhar a superfície do otólito de forma a obter uma resolução suficiente para a observação da microestrutura (Secor *et al.*, 1992).

Depois do polimento completo procedeu-se à aquisição de imagens de cada otólito com o auxílio do microscópio um microscópio. Usou-se um sistema de aquisição e processamento digital de imagem, composto por um microscópio universal Olympus GX 51 com luz transmitida e com a câmara de vídeo anteriormente descrita, acoplada, e ligada a um computador com o programa Visilog. A ampliação necessária no microscópio, para adquirir imagens dos otólitos com a resolução suficiente para a posterior observação e interpretação da microestrutura foi de 200x. Dado que com esta ampliação não era possível visualizar os otólitos inteiros, fizeram-se séries de imagens sucessivas (mosaicos) de cada otólito de forma a obter-se uma cobertura completa da sua microestrutura. Realizaram-se 60 imagens em média para cada otólito.

As imagens sucessivas foram montadas numa única formando o otólito completo. Esta montagem foi feita manualmente usando o Adobe® Photoshop® CS2 e a imagem final foi convertida para uma escala de cinzentos. Para a contagem dos microincrementos utilizou-se o programa TNPC 4. Para determinar a idade, adicionaram-se mais 4 dias aos incrementos contados, correspondendo ao período médio decorrido desde a eclosão (dependo da temperatura da água do mar) até

## Correlations (amostras\_aneis 5v\*32c)



**Figura 5** – Correlações entre comprimento individual da sardinha (c\_ind), peso individual da sardinha (P\_ind), diâmetro do otólito D\_otólito, peso do otólito (p\_otólito); e a idade estimada pelo leitor 2 a partir da leitura de anéis diários (Idade L-2).

**Tabela 3** – Coeficientes de correlação (r) das amostras para  $p < 0,05$ ;  $N=32$ . C\_ind – comprimento individual de cada sardinha; P\_ind – peso individual de cada sardinha; D\_otólito – diâmetro individual de cada sardinha; P\_otólito – peso do otólito; Idade – número de dias dos juvenis de sardinha.

	C_ind	P_ind	D_otólito	P_otólito	Idade
C_indv	<b>1,00</b>				
P_ind	0,97	<b>1,00</b>			
D_otólito	0,85	0,84	<b>1,00</b>		
P_otólito	0,91	0,87	0,88	<b>1,00</b>	
Idade	0,83	0,81	0,79	0,89	<b>1,00</b>

à fase de primeira alimentação (Blaxter, 1969; Silva e Miranda, 1992), fase esta em que passam a ser marcados os incrementos diários (Ré, 1986b; Jones, 1992). Os incrementos foram enumerados por dois leitores (bolseiro e tutor do IPIMAR, I. Meneses) em separado e compararam-se os resultados obtidos por cada um.

### 2.5. Análise estatística

Os dados foram analisados com o programa Statistica 7.

As análises realizadas foram:

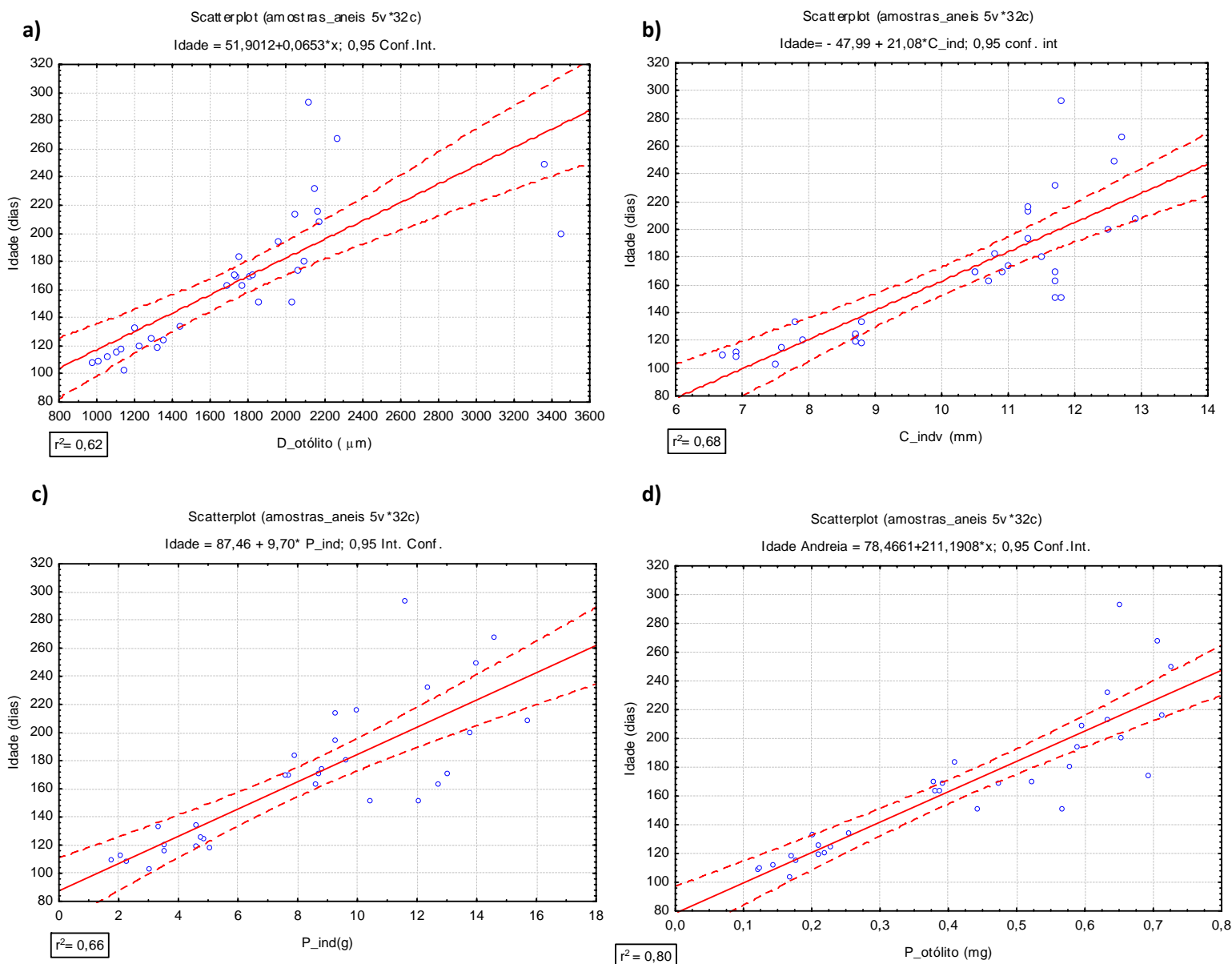
- Aplicação do teste-t emparelhado,

- Análise gráfica das relações entre as diferentes variáveis,
- Cálculo de coeficientes de correlação e determinação.

A relação entre a idade e as restantes variáveis foi analisada pela correlação entre os dados e pela análise de regressão simples, tendo como variável dependente a idade registada pela leitura do *sagitta*.

### 2.6. Estimativa das idades nas amostras com base nos pesos dos otólitos

As distribuições das idades dos indivíduos nas amostras na sua totalidade, foi obtida com base na



**Figura 6** – Representação gráfica da recta padronizada para cada variável analisada com intervalos de confiança a 95%. **a)** Relação entre idade e o diâmetro do otólito (D\_otólito);  $Y = 51,90 + 0,06x$ ;  $n=32$ ;  $p < 0,05$ ;  $r^2 = 0,62$ . **b)** Relação entre idade e o comprimento individual da sardinha (C\_ind);  $Y = - 47,99 + 21,06x$ ;  $n=32$ ;  $p < 0,05$ ;  $r^2 = 0,68$ . **c)** Relação entre idade e o peso individual da sardinha (P\_ind);  $Y = 87,46 + 9,70x$ ;  $n=32$ ;  $p < 0,05$ ;  $r^2 = 0,66$ . **d)** Representação da recta de regressão padronizada Idade/ peso dos otólitos;  $Idade = 78,47 + 211,19 * p_{otólito}$  para  $N=32$ ;  $p < 0,05$ ;  $R = 0,89$ ;  $R^2 = 0,80$ ;  $R^2$  ajustado = 0,79;  $F(1,30) = 117,87$ ;  $p$ -value = 0,00; erro standart da estimativa = 0,095. Estimativa de erro:  $y = \pm 16$  dias.

equação obtida da relação entre as idades lidas pela observação da microestrutura e dos pesos dos restantes 306 otólitos.

Estabeleceram-se classes etárias com intervalos de 10 dias. Por fim, utilizou-se uma folha de cálculo do Excel 2007 para fazer a distribuição da classe de comprimentos e o histograma das idades estimadas, baseado na recta padronizada.

### 3. Resultados

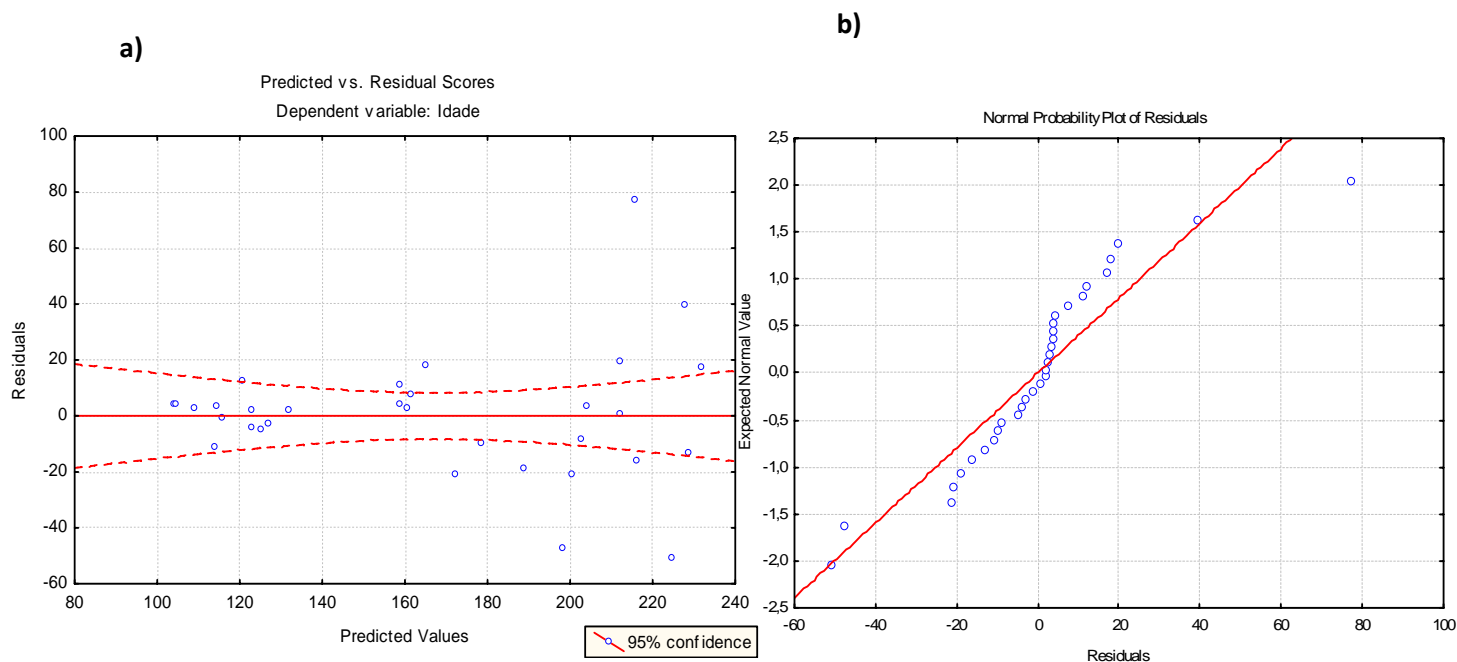
Os dados utilizados na realização deste estudo estão sumarizados na tabela 1, onde estão indicadas a data, a embarcação a região onde foram recolhidas as sardinhas, o número de otólitos extraídos (NOE),

pesados (NOP) e por último, o número de otólitos cujos incrementos foram contados (NOC).

A idade estimada, pela leitura dos incrementos diários nos otólitos, variou entre 103 dias e 293 dias correspondendo a indivíduos de comprimento total entre 6.7 e 12.9. O peso dos otólitos máximo e mínimo foi 0,12 mg e 0,73 mg respectivamente. Os diâmetros dos otólitos variaram entre 976.31  $\mu\text{m}$  e 3447.49  $\mu\text{m}$  (Tab.2).

#### 3.1. Comparação entre leitores

A diferença de idades entre os dois leitores, não revelou grandes discrepâncias, sendo que as diferenças entre leituras foram de - 17 dias a + 15 dias. A partir da análise da figura as diferenças parecem ser aleatórias,



**Figura 7 –a)** Padrão de variação dos resíduos em função dos valores previstos da Idade. **b)** Scatterplot de relação entre os resíduos e os valores esperados.

não havendo portanto uma diferença sistemática de um leitor em relação a outro. Ocorreu no entanto, numa das amostras uma diferença de 39 dias, assinalado a vermelho na figura 3.

### 3.2. Análise de correlações

Os resultados da análise de correlação entre as variáveis consideradas encontram-se representados graficamente na figura 5, sendo depois representadas numa matriz de correlação (tab.3). Para todas as variáveis, os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) encontrados são significativos variando entre 0,79 e 0,97 para  $p < 0,05$  (tab. 3). No entanto, no conjunto de dados existem outliers (pontos afastados da recta ajustada) que podem comprometer a estimativa dos parâmetros, facto que é referido na discussão.

### 3.3. Regressões simples

Inicialmente, tinha-se pensado realizar uma stepwise regression com todas as variáveis em causa, para determinar, qual ou quais poderiam ser mais significativas no ajuste da recta de regressão. No entanto, tendo em conta os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ), realizaram-se regressões simples porque as variáveis apresentam colinearidade moderada a extrema. Nestas condições é impossível determinar correctamente a contribuição individual de cada uma das variáveis (Faraway 2002).

Na figura 6 estão representadas graficamente as rectas de regressão e os intervalos de confiança a 95% para as relações: idade/ diâmetro do otólito, com  $r^2 = 0,62$  (fig. 6.a) idade/comprimento individual, com  $r^2 = 0,68$  (fig. 6-b) e idade/peso individual, com  $r^2 = 0,66$  (fig. 6-c). Verifica-se em todas as relações que à medida que os indivíduos são mais velhos o desvio dos dados em relação á recta vai aumentando, portanto a variância aumenta. Isto pode ocorrer devido ao facto de o número de amostras ser pequeno ( $n=32$ ).

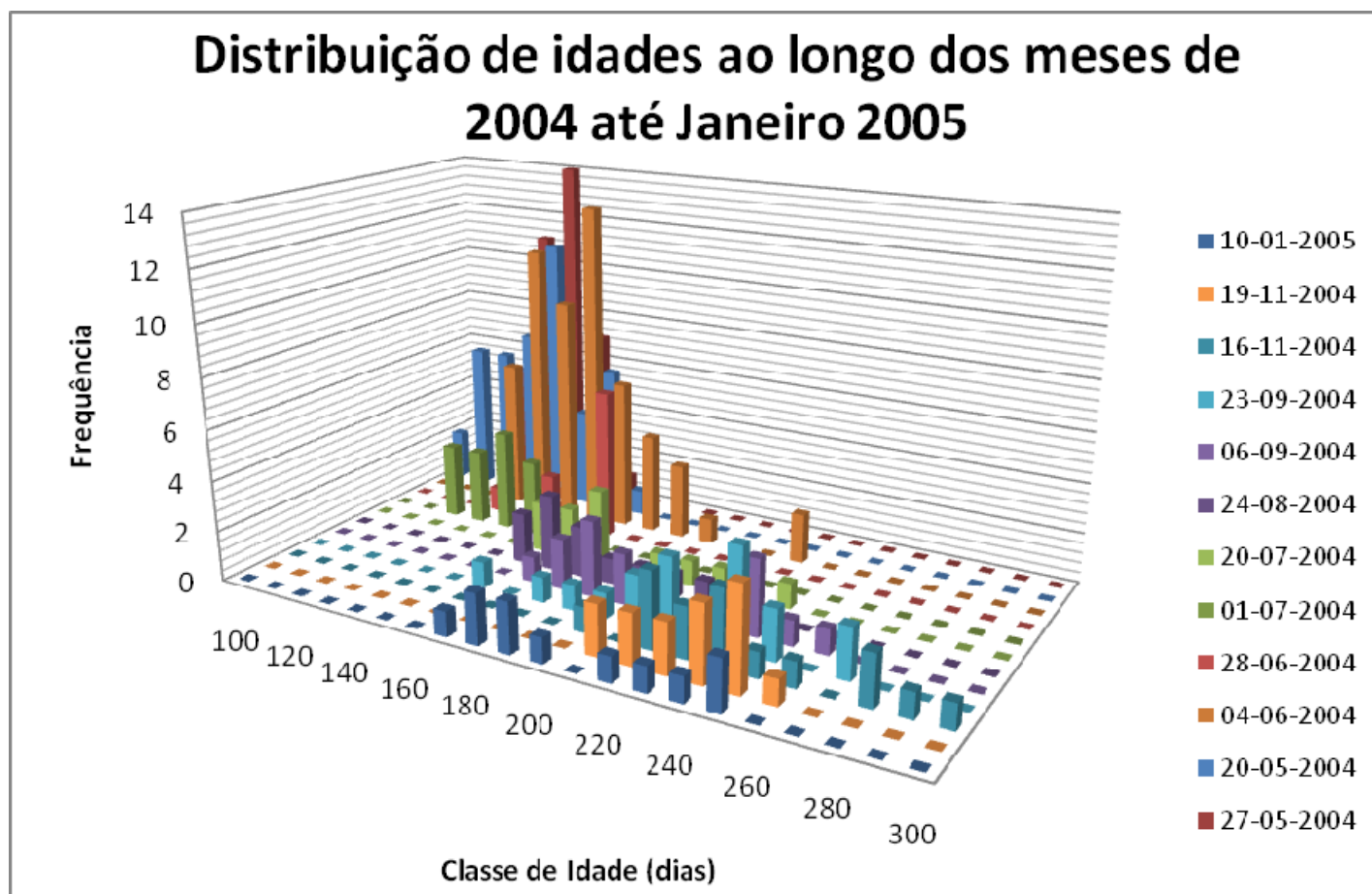
Os resultados indicam que existe uma relação aproximadamente linear para todas as variáveis, no entanto, os coeficientes de determinação ( $r^2$ ) estimados mostraram que o melhor modelo para estimar a idade é a relação Idade/ peso dos otólitos, com  $r^2 = 0,80$  (fig. 6 e fig. 7-a).

Para esta relação, parametrizou-se a recta de regressão linear, ( $F(1,30) = 117,87$ ;  $p < 0,05$ ):

$$\text{Idade} = 78,47 + 211,19 * \text{Peso Otólitos} \\ (n = 32; p < 0,05;)$$

Na verificação da normalidade desta regressão, verifica-se que existem pelo menos 2 outliers (Figura 7-b) que poderão compromete-la como já referido.

A figura 7-a) refere-se à análise de homocedasticidade. O padrão de variação dos resíduos em função dos valores previstos de idade, parecem ser aleatórios até cerca dos 170 dias de idade estando os maiores resíduos concentrados na parte direita do gráfico ou seja, são observados para os maiores valores



**Figura 8** – Distribuição das idades ao longo dos meses de 2004 até Janeiro de 2005 para 338 indivíduos.

de Y (idade). Este problema pode estar relacionado, uma vez mais, com o facto da amostra analisada ser pequena ( $n=32$ ). Para contornar esta situação e se poderem solidificar estas conclusões, devem realizar – se mais leituras ou fazer uma transformação dos dados.

#### 3.4. Aplicação do modelo de regressão idade/ peso dos otólitos à amostra

Na figura 8 podemos ver que a sub-amostra de 20 de Maio de 2005 é a que apresenta as sardinhas mais jovens (100 dias), sendo a sua classe etária modal de 140 dias.

Na amostra recolhida a 6 de Junho de 2004, verifica-se que a classe etária modal é 160 dias, passando depois para 180 dias no dia 28 do mesmo mês. À medida que o tempo avança, verifica-se que a classe de idade modal dos indivíduos vai aumentando, atingindo o máximo a 6 de Novembro de 2004 e Janeiro de 2005, com 250 dias (fig. 8).

A partir da análise dos comprimentos das sardinhas ao longo dos diversos meses, também se verifica um

aumento do seu tamanho ao longo do tempo. A 20 de Maio 2004 a classe modal de comprimento foi 8,5 cm, no mês de Junho aumentou para 10,5 cm. Em Julho do mesmo ano a classe modal de comprimento foi 11,5 cm sendo 12,5 cm em Novembro. No mês de Janeiro de 2005, a classe modal de comprimento foi 11 cm (fig.9).



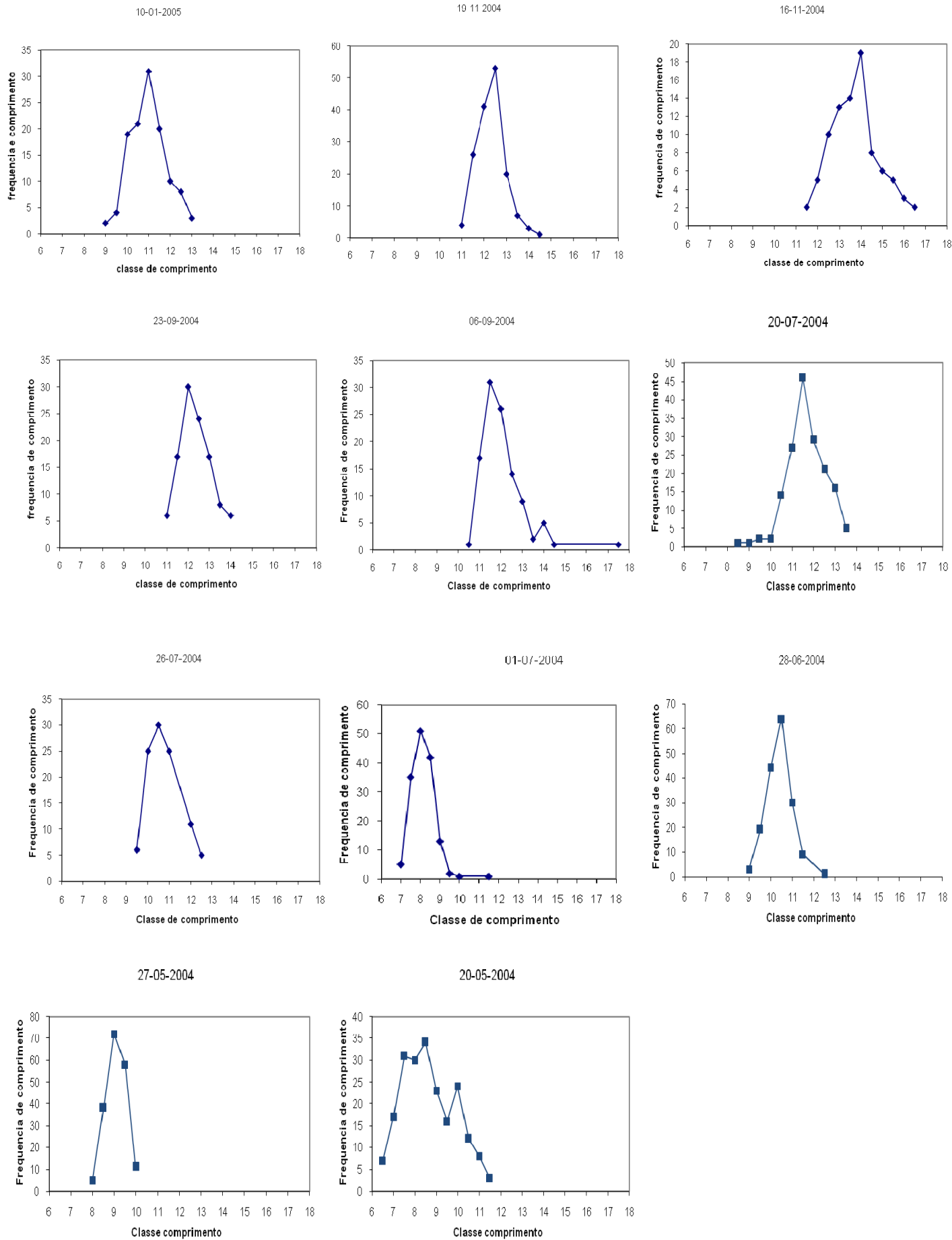


Figura 9 – Frequências de comprimentos das subamostras de 897 sardinhas de Maio de 2004 a Janeiro de 2005.

#### 4. Discussão

A necessidade de se obterem factores fáceis e rápidos para determinar a idade nas populações de peixes adultos resultou numa tentativa de estabelecer a relação entre o tamanho e o peso dos otólitos com a idade (Labropoulou e Papaconstantinou, 2000). No entanto, estes estudos fazem estimativas da idade para anéis anuais, sendo que a leitura de anéis diários é um processo ainda mais moroso e como tal, mais dispendioso.

Neste trabalho, analisou-se a discrepância entre as leituras de anéis diárias idades; não se verificou uma variação superior a 10% excepto num indivíduo, em que a diferença foi de cerca de 15% (39 dias). Apesar disto, não se considerou existirem diferenças sistemáticas entre leituras pois esta diferença pode estar relacionada com o facto de o otólito estar sobrepolido, existindo portanto alguns anéis subdiários que poderão ter dificultado a leitura (fig. 3).

É conveniente, tal como é sugerido por Flecher (1991), que existam vários leitores independentes e que apenas sejam seleccionados as idades que tenham uma co-variância menor que 10%.

Neste estudo, tendo em conta os objectivos do projecto e da bolsa UL/ FAD optou-se por apenas se incluir na análise estatística as leituras do bolseiro.

Relativamente à análise de correlação cruzada, esta demonstrou que todas as variáveis estavam bem correlacionadas entre si, visto que os coeficientes de correlação ( $r$ ) variaram entre 0,79 e 0,97, com  $p < 0,05$ .

Para reduzir os problemas causados pela colinearidade entre várias variáveis e tendo em conta os coeficientes de determinação ( $r^2$ ) encontrados, utilizou-se o peso dos otólitos como a variável mais significativa para estimar a relação com a idade.

As regressões lineares entre o peso dos otólitos e a idade já haviam sido demonstradas anteriormente (Flecher, 1991; Araya, 2001; Labropoulou e Papaconstantinou, 2000).

Igualmente Fletcher, (1991) testou a relação entre os diversos factores e a idade em adultos de *Sardinops neopilchardus*, e sugeriu que para esta espécie, o peso do otólito é suficiente para determinar a idade do peixe.

Tal como verificado pelos autores referidos acima, também os resultados para os juvenis de sardinha, suportam a hipótese que o peso dos otólitos, pode estimar a idade em dias, uma vez que a técnica de regressão usada nas variáveis analisadas não mostrou existirem discordâncias entre as leituras de idade pelos incrementos diários e o peso do otólito.

No entanto a verificação dos pressupostos desta análise revelou a existência de alguns pontos outliers

que comprometem a normalidade e a homocedasticidade. Admitiu-se que este aspecto não induzia grandes constrangimentos à análise e portanto estas conclusões devem ser fortalecidas com o estudo de mais otólitos.

A relação entre a idade e o comprimento individual ( $r^2 = 0,68$ ), não revelou ser mais significativa que a relação entre idade/ peso dos otólitos ( $r^2 = 0,80$ ). O que está de acordo com o sugerido por Pawson (1990).

Segundo Pawson, (1990) nos estudos com adultos de *Sardinella aurita*, em peixes com idade e comprimentos iguais, os otólitos mais pesados foram observados em indivíduos mais velhos. Isto acontece porque a deposição de carbonato de cálcio e proteína, ocorre continuamente ao longo do tempo, podendo no entanto haver desacelerações no crescimento somático.

Seria de esperar que o diâmetro do otólito tivesse uma relação com a idade mais significativa uma vez que se trata de uma medição numa estrutura directamente relacionada com o crescimento e com a idade e segundo Francis & Campana (2004), as melhores estimativas são aquelas que utilizam medições em otólitos.

A aplicação do modelo de regressão mostrou que para os indivíduos colhidos de Maio de 2004 a Janeiro de 2005 vão sendo mais velhos à medida que o tempo avança (fig. 8). As sardinhas de 20 de Maio de 2004 apresentaram uma classe etária modal de 140 dias, desta forma a postura ocorreu entre 12 de Janeiro de 2004 e 4 de Fevereiro de 2004.

Em conclusão o peso do otólito sugere ser a melhor característica para determinar a idade de *Sardina pilchardus*. Esta técnica é relativamente fácil de conseguir em comparação com o método de contagem dos incrementos diários.

Para além disto, a determinação do peso do otólito é vantajosa porque se baseia em parâmetros medíveis, evitando a análise subjectiva da leitura de idades.

Para melhor solidificação das conclusões encontradas neste trabalho será necessário continuar com estes estudos de forma a validar as relações estabelecidas.

#### 5. Agradecimentos

À Fundação Amadeu Dias e à Universidade de Lisboa pela aceitação do projecto e atribuição da bolsa de integração à investigação; ao IPIMAR, principalmente à Isabel e à Xana pela disponibilidade, pelo ensino, ajuda e enorme simpatia que sempre demonstraram; ao Prof. Pedro Ré pela disponibilidade demonstrada.

## 6. Referências

- Alemanya, F., Álvarez, I., García, A., Cortés, D., Ramizes, T., Quintanilla, J., Álvarez, F., Rodríguez, M. – 2006. Post larvae and juvenile daily growth patterns of the Alboran Sea sardine (*Sardina pilchardus* Wald.): influence of wind; *Scientia Marina*, 93-104 (2006)
- Araya, M., Cubillos, L.A., Guzmán, M., Peñailillo e Sepúlveda, A. (2001) Evidence of a relationship between age and otolith weight in the Chilean jack mackerel *Trachurus symmetricus murphy* (Nichols). *Fish Res.* 51: 17-26
- Faraway J. J. (2002) Practical Regression and Anova using R. 213p.
- Fletcher, W.J. (1991) A test of the relationship between otolith weight and age for the pilchard *Sardinops neopilchardus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 35-38
- Fletcher, W.J. (1995) Application of the otolith weight-age relationship for the pilchard, *Sardinops sagax neopilchardus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 657-664
- Jones, C.M. (1992) Development and application of the otolith increment technique, p.1-11 In D.K. Stevenson e S.E. Campana (eds.) Otolith Microstructure Examination and Analysis. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 117.
- Labropoulou, M. e Papaconstantinou, C. (2000) Comparison of otolith growth and somatic growth in two macrourid fishes. *Fish. Res.* 46: 177-188
- Meneses, I. (2003) Estimacão de factores que Condicionam a Variabilidade do Recrutamento de Peixes na Costa Atlântica da Península Ibérica. Dissertação para acesso á categoria de Investigador Auxiliar, INIAP/IPIMAR, págs 205-260.
- Morales-Nin, B. (2000) Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fish. Res.* 46: 53-67
- Pawson, M.G. (1990) Using otholith weight to age fish. *J.Fish.Biol.* 36: 521-531.
- Ré, P. (1986b) Otolith microstructure and detection of life history events in sardine and anchovy larvae. *Ciênc. Biol. Ecol. Syst.* 6(1/2): 9-17
- Secor, D.H., Dean, J.M. e Laban; E.H. (1992) Otolith removal and preparation for microstructure examination p.19-57 In D.K. Stevenson e S.E. Campana (eds.) Otolith Microstructure Examination and Analysis. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.* 117.
- Silva, A. (2007) Geographic variation in sardine population traits: implications for stock assessment. Tese para a obtenção do grau de doutor no ramo de Ciências e Tecnologias das Pescas, especialidade Avaliação de Recursos, Universidade do Algarve, Portugal 235 p.
- Silva, A. e Miranda, A. (1992) Laboratory rearing of sardine larvae, *Sardina pilchardus* (Walb.), and early effects of starvation: a preliminary experiment. *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 8 (1): 163-174.
- Wootton, R. J., 1998. Ecology of teleost fishes. Kluwer Academic Publishers. Fish and Fisheries Series 24. London, 386 pp.
- Zar, J.H. (1984) Biostatistical analysis. 2<sup>nd</sup> ed. Prentice-Hall, (eds), Englewood Cliffs, New Jersey, 718p.

## 7. Execução financeira

O presente trabalho desenvolvido no âmbito das bolsas de cooperação entre a Universidade de Lisboa (UL) e a Fundação Amadeu Dias (FAD) decorreu cumprindo as estimativas de custos apresentadas no projecto de candidatura.

O material utilizado foi o previsto (ver Tabela) sendo que neste relatório se exclui o valor do programa, da câmara de vídeo de alta resolução e do computador. Este material é propriedade da entidade acolhedora que foi o IPIMAR. É material de longa duração tendo sido também utilizada uma balança de precisão, tal como descrito no relatório. São materiais de valores muito elevados mas que, não sendo consumíveis se achou por bem, excluir agora deste relatório.

**Tabela** – Custos estimados aproximados do material utilizado

Material	Valor
Hipoclorito de sódio	0.89 €
Pincel de cerda	2.99 €
Eppendorfs	35.10 €
Lâminas de vidro	2.25 €
Entellan	30 €
Papel abrasivo (grãos 30, 3 e 0,3 µm)	35 €
Material de escritório	60 €
<b>Total</b>	<b>166.23 €</b>

**Tutor FCUL**

---

**Orientador IPIMAR**

---

**Orientador IPIMAR**

---

**Bolseiro**

---