

# **Qualidade de posturas naturais de reprodutores F1 de corvina (*Argyrosomus regius*): efeito da densidade de cultivo no desenvolvimento larvar**

**Sílvia Ribeiro Duarte**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Zootécnica – Produção Animal**

Orientador: Doutor Fernando R. Alves Afonso

Coorientador: Doutora Florbela Maria B. Soares

Coorientador: Doutor Pedro Pousão Ferreira

## **Júri:**

Presidente: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha, Professora Associada com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutor Paulo José de Lemos Branco, Bolseiro de Pós-Doutoramento do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Licenciado Carlos Augusto de Sousa Reis, Professor Auxiliar Convidado Aposentado da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Doutor Fernando Ribeiro Alves Afonso, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Fernando Afonso, da Faculdade de Medicina Veterinária, por ter aceite a orientação deste trabalho, pela constante disponibilidade e pelo apoio demonstrado durante o decorrer deste estudo.

À Doutora Florbela Soares, da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO), por ter aceite a co-orientação deste trabalho. Quero agradecer as suas palavras de motivação, a sua infinita paciência e disponibilidade que sempre demonstrou ao longo deste percurso.

Ao Doutor Pedro Pousão-Ferreira, responsável pela Estação de Piscicultura de Olhão (EPPO), pela oportunidade que me deu para a realização deste trabalho, pela sua experiência e orientação durante o decorrer dos ensaios.

À Margarida Gamboa da Estação de Piscicultura de Olhão (EPPO), pelos ensinamentos e pela ajuda constante que me forneceu durante todo o ensaio. O seu conhecimento e experiência foram essenciais no desenvolvimento deste trabalho.

A toda a equipa do IPIMAR pela forma como me receberam e integraram, pela cumplicidade, simpatia, ajuda e apoio. O vosso espírito de equipa, sentido de humor e confraternização foram essenciais para a realização deste ensaio. Um especial agradecimento à Tânia Lourenço e ao Márcio Moreira, pela amizade e por tudo o que me ensinaram. À Ana Candeia Mendes, Sara Castanho, Marisa Barata e Hugo Coutinho por se mostrarem sempre disponíveis para ajudar, ensinar e aconselhar. À Doutora Laura Ribeiro pela boa disposição e à Doutora Maria Cunha pela simpatia. Obrigada pelo bom ambiente.

À restante equipa, que garante o bom funcionamento da Estação de Piscicultura de Olhão, agradeço pela forma como me receberam e por me fazerem sentir em casa.

A todos os professores do Instituto Superior de Agronomia e da Faculdade de Medicina Veterinária que contribuíram para a minha formação académica e pessoal, ao longo de todos estes anos.

Às minhas colegas e amigas Tânia Ferreira e Rita Cruz, pela ajuda na realização deste trabalho, pela paciência e motivação e por sempre acreditarem em mim. Ao Bruno Correia, à Mónica Ferreira, Helena Valdevino, Jessica Lopes, Maaïke Smits, Isaura Cardoso, Filipa Duarte, Marta Silva, Ana Ribeiro, Susana Andrade, Susana Ferreira e Lúcia Carreira pelos bons tempos passados e pelo contributo para o crescimento pessoal.

À Joana Silva, por me acompanhar desde sempre e pelo apoio incondicional. À Joana Lima, pelo exemplo que é e por me fazer sempre querer ser uma pessoa melhor. À Susana Olivera e Vera Coutinho por estarem sempre disponíveis para me ouvir e apoiar nos bons e maus momentos.

À Patrícia Pinto um especial agradecimento, pelo incentivo e amizade ao longo destes anos. Às restantes colegas de trabalho, obrigada por todo o apoio.

Ao meu pai Paulo, à minha mãe Berta e ao meu irmão Bruno, por estarem sempre presentes. Sem vocês a concretização desta etapa não teria sido possível. À restante família, obrigada pela presença constante na minha vida.

Aos meus sogros José e Adelina e aos meus cunhados Rui e Helena, obrigada pela paciência e apoio ao longo deste percurso.

Ao meu sobrinho David, para que saiba que a persistência é essencial e que não devemos desistir dos nossos objetivos.

Por fim, quero agradecer ao Ângelo, por ser a pessoa mais importante na minha vida, por estar sempre comigo e por me fazer lutar pelos meus objetivos.

## Resumo

A corvina (*Argyrosomus regius*) é uma espécie promissora para a aquacultura, e de forma a aumentar o conhecimento, foi realizado um estudo sobre a qualidade das posturas de reprodutores F1 de corvina e o efeito da densidade no desenvolvimento larvar.

Os reprodutores F1 com três anos de idade foram recolhidos dos tanques de terra para o tanque de reprodução. Na primeira amostragem apresentaram um peso vivo médio de  $1850 \pm 265$  g (média  $\pm$  desvio padrão) ( $n=10$ ) e na 2ª amostragem um peso vivo médio de  $2188 \pm 180$  g e um comprimento médio de  $62 \pm 3$  cm ( $n=7$ ). De Maio a Junho obtiveram-se 6 posturas naturais, onde quatro das posturas apresentaram uma taxa de eclosão acima de 70%. Nas seis posturas, o diâmetro médio dos ovos foi de 1mm e 71,4% dos ovos amostrados tinham apenas uma gota lipídica.

A partir da primeira postura realizou-se o ensaio larvar. Este consistiu em dois tratamentos (LD=19 e CTRL=39 larvas.L<sup>-1</sup>), em triplicado. No ensaio larvar, foi visível a abertura de boca ao 2º dia após a eclosão e a formação da bexiga-natatória ao 3º dia após a eclosão. Quanto ao comprimento das larvas nos tratamentos LD e CTRL, os valores estatísticos não apresentaram diferenças significativas, o que sugere que é mais eficiente fazer um cultivo larvar com maior densidade (39 larvas.L<sup>-1</sup>). No entanto, os dados obtidos no ensaio são ainda insuficientes para otimizar de forma eficaz a produção larvar, pelo que é necessária mais investigação nesta área.

Palavras-Chave: corvina, posturas naturais, reprodutores F1, cultivo larvar, densidade

## Abstract

Meagre (*Argyrosomus regius*) is a promising species for aquaculture. However, more information is needed to produce this species. Like that, work was developed to study the spawning quality of meager breeders F1 and the density effect on larval development.

Meagre breeders F1, three years old, were collected from an outdoor tank to a breeding tank. The first sampling exhibited an average live weight of  $1850 \pm 265$  g (n=10) and the second sampling exhibited an average live weight of  $2188 \pm 180$  g and an average length of  $62 \pm 3$  cm (n=7). From May to June, six natural spawning occurred, and four of them presented a hatching rate of more of 70%. In the six spawning, the egg diameter average was 1mm and 71,4 % of the sampled eggs had only one lipid droplet.

After the first spawning, the larval study was performed. Two treatments (LD=19 e CTRL=39 larvae / L<sup>-1</sup>) were made in triplicate.

In the larval rearing, it was visible the mouth opening in the 2<sup>ND</sup> days after hatching and the formation of swim bladder on the 3<sup>TH</sup> day after hatching. The statistical analysis didn't show significant differences of the larvae length average in the treatments. It suggests that a higher density (CTRL = 39 larvae / L<sup>-1</sup>) is more efficient. However, more studies are needed to optimize efficiently larval rearing.

Keywords: meagre, natural spawning, breeders F1, larval rearing, density.

# Índice

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Aquacultura em Portugal	2
1.2 A importância da corvina na Aquacultura	3
1.3 Corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> )	4
1.3.1 Reprodução	5
1.3.1.1 Sistema reprodutor dos peixes: macho e fêmea	6
1.3.2 Ciclo produtivo	8
1.3.2.1 Obtenção de ovos e incubação	9
1.3.2.2 Larvas	11
1.3.2.3 Fatores que influenciam a qualidade dos ovos e larvas	12
1.3.2.4 Engorda	15
1.4 Objetivos	17
2. MATERIAL E MÉTODOS	18
2.1 Reprodutores	18
2.2 Cultivo Larvar	23
2.3 Amostragens	25
2.3.1 Corvinas dos tanques de terra e dos tanques de reprodução	25
2.3.2 Ovos	28
2.3.3 Larvas	29
2.4 Análise estatística	31
3. RESULTADOS	32
3.1 Avaliação dos estados de maturação sexual em corvinas dos tanques de terra	32
3.2 Qualidade das posturas dos reprodutores F1	40
3.3 Ensaio larvar	45
4. DISCUSSÃO	49
4.1 Avaliação dos estados de maturação sexual em corvinas dos tanques de terra	49
4.2 Qualidade das posturas dos reprodutores F1	51
4.3 Ensaio larvar	52
5. CONCLUSÃO	55
6. BIBLIOGRAFIA	56
7. ANEXOS	61

## Lista de quadros

Quadro 1 - Representação dos três maiores países produtores de aquacultura, de pesca marinha, importadores e exportadores de peixe e produtos de pesca (FAO, 2014).....	1
Quadro 2 - Classificação taxonómica (Whitehead <i>et al.</i> , 1984/1986; Cárdenas, 2010).....	4
Quadro 3 - Diferentes caracterizações da fase reprodutiva de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ).....	8
Quadro 4 - Quantidade de animais pescados para as amostragens realizadas aos tanques de terra de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) (idade a 01/05/12).....	19
Quadro 5 - Regime alimentar das larvas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) no circuito experimental...24	
Quadro 6 - Escala de maturação microscópica e respetiva descrição dos estádios das gónadas femininas e masculinas das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ). ....	27
Quadro 7 - Escala de caracterização do fígado (% esteatose hepática) de corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ). ....	28
Quadro 8 - Número de larvas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) retiradas em cada amostragem durante o ensaio experimental. ....	29
Quadro 9 - Caracterização do desenvolvimento larvar da corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ). ....	30
Quadro 10 - Apresentação do peso e comprimento (média $\pm \sigma$ ) das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) amostradas de cada tanque em cada mês. ....	32
Quadro 11 - Caracterização dos estádios das gónadas masculinas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) (com imagens dos cortes histológicos - ampliação 10x) e número de animais presente em cada estágio de desenvolvimento (n = 25 animais). Nos anexos 4 e 5 podem-se visualizar as imagens e as características identificadas. ....	34
Quadro 12 - Caracterização dos estádios das gónadas femininas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) (cortes histológicos - ampliação 10x) e número de animais presente em cada estágio de desenvolvimento (n = 18 animais). Nos anexos 6 e 7 podem-se visualizar as imagens e as características identificadas. ....	35
Quadro 13 - Caracterização dos estádios do fígado de corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) (com imagens dos cortes histológicos) e número de animais presentes em cada estágio de desenvolvimento (n = 55 animais).....	37
Quadro 14 - Valores correspondentes à média, desvio padrão e teste estatístico relativamente ao comprimento (cm), peso (g), IHP e IG das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) provenientes do TT1 e TT9. ....	38
Quadro 15 - Valores correspondentes à média, desvio padrão e teste estatístico relativamente ao comprimento (cm), peso (g), IHP e IG das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) provenientes do TT4 e TT6. ....	39
Quadro 16 - Datas das posturas das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) e respetiva caracterização do estágio dos ovos.....	40
Quadro 17 - Proporção do número de gotas lipídicas nos ovos de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) em cada postura obtida nos reprodutores F1. ....	42

Quadro 18 - Valor do diâmetro do ovo de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) em mm (média e desvio padrão) para cada postura obtida nos reprodutores F1. ....	43
Quadro 19 - Média do comprimento (mm) das larvas de cada tanque do tratamento LD.....	47
Quadro 20 - Média do comprimento (mm) das larvas de cada tanque do tratamento CTRL.....	48
Quadro 21 - Comprimento médio (mm) das larvas de cada tratamento.....	48

## Lista de Figuras

Figura 1 - Consumo de peixe <i>per capita</i> entre 2008-2010 (adaptado: FAO, 2014) .....	2
Figura 2 - <i>Argyrosomus regius</i> . .....	4
Figura 3 - Ciclo produtivo da corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) (adaptado: FAO, 2005).....	9
Figura 4 - Estádios de desenvolvimento embrionários de robalo ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) (adaptado: Maneewongsa and Tattanon, 1982). .....	10
Figura 5 - Ovos de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ). .....	11
Figura 6 - TT9 antes da amostragem (esquerda) e TT9 durante a realização da captura dos peixes para posterior amostragem (direita).....	18
Figura 7 - Camaroeiro utilizado na captura das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) do TT9. ....	19
Figura 8 - Corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) no tanque de reprodução.....	20
Figura 9 - Coletor dos ovos na saída de água dos tanques dos reprodutores de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ). .....	20
Figura 10 - Filtro para efetuar a pesagem dos ovos (viáveis e inviáveis) de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ). .....	21
Figura 11 - Lupa <i>stemi</i> usada para observar o estado dos ovos e larvas. ....	21
Figura 12 - Tubos utilizados para efetuar a taxa de eclosão para os ovos de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ), nos tanques de incubação. ....	22
Figura 13 - Tanques de incubação, situados na maternidade, usados no circuito experimental. ....	24
Figura 14 - Observação das gónadas da corvina 3 ( <i>Argyrosomus regius</i> ) na amostragem feita ao TT9. ....	25
Figura 15 - a) Gónada de uma fêmea de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ); b) fígado de uma corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ); c) Balança Kern EG620-3NM, usada para pesar as gónadas e os fígados das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ). .....	26
Figura 16 - Tubos normax com amostras de gónadas e fígados das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) para posterior estudo histológico.....	26
Figura 17 - Máquina onde se procedeu à desidratação das amostras (esquerda) e máquina onde se colocou as amostras de gónadas e fígados de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) em parafina e molde de leuckart (direita). .....	27
Figura 18 - Larva de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ), ampliação (4x - 5x), 9h41 no 0 dae e correspondente legenda – CT: comprimento total; CSV: comprimento do saco vitelino e DGL: diâmetro da gota lipídica. ....	30
Figura 19 - a) Distribuição do diâmetro dos oócitos das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) provenientes do TT9, medido a 12-4-12; b) Distribuição do diâmetro dos oócitos das corvinas ( <i>Argyrosomus regius</i> ) provenientes do TT9, medido a 4-5-12.....	36
Figura 20 - Gráfico representativo da quantidade de ovos (g) e respetivas taxas (eclosão e sobrevivência) de ovos e larvas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ). .....	40

Figura 21 - Número de gotas lipídicas contabilizadas, por ovo de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) em cada postura obtida nos reprodutores F1. ....	41
Figura 22 - Percentagem da distribuição do diâmetro médio dos ovos de corvina (mm) ( <i>Argyrosomus regius</i> ) em cada postura obtida nos reprodutores F1. ....	43
Figura 23 - Comprimento médio (mm) do saco vitelino das larvas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) em cada postura. ....	44
Figura 24 - Fotos (com respectiva ampliação) do desenvolvimento da corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ) no circuito larvar. ....	46
Figura 25 - Curva de crescimento das larvas de corvina ( <i>Argyrosomus regius</i> ).....	47

## Abreviaturas

aa – aminoácidos  
AB – abertura de boca  
AGE – ácidos gordos essenciais  
CTRL – tratamento de densidade de controlo  
dae – dias após a eclosão  
ep - espermatócitos primários  
es - espermatócitos secundários  
ez - espermatozóides  
FAO – Organização Alimentar e Agrícola das Nações Unidas  
Fig.- figura  
FSH – hormona folículo estimulante  
gl -gotas lipídicas  
IG - índice gonadossomático  
IHP – índice Hepatossomático  
LD – tratamento de baixa densidade  
LH – hormona luteinizante  
NO - microalga *Nannochloropsis oculata*  
oh - oócitos hidratados  
op - oócitos primários  
os - oócitos secundários  
PVC – policloreto de vinil  
p. ex. – por exemplo  
RNA – ácido ribonucleico  
Tiso - microalga *Isochrysis galbana*  
tq – tanque  
TT – tanques de terra  
TR – tanque de reprodução  
vs. - versus

## Símbolos e Unidades

° C – graus celsius

$\sigma$  – desvio padrão

% - percentagem

€ - euro

$\mu\text{m}$  – micrómetros

cm – centímetros

g – gramas

h - horas

kg – quilogramas

L – Litros

lux – intensidade de luz

m – metros

min - minutos

ml – mililitros

Mton – milhões de toneladas

seg – segundos

## 1. Introdução

A aquicultura tem vindo a ganhar um vasto destaque no nosso dia-a-dia, seja pela falta de recursos nos oceanos, cujo decréscimo de animais se acentua cada vez mais rapidamente, seja pela qualidade e quantidade do peixe pescado vs. de aquicultura, passando pelas políticas de cada país e até mesmo como meio de subsistência para uma família. Pode observar-se a sua importância, quando em 2011 gerou um volume de produção de 62 milhões de toneladas (Mton), num total de 155,7 Mton de produção pesqueira mundial, onde 84,3% dessa produção pesqueira é para alimentação e o restante é para a indústria de transformação. Em 2012, a previsão da produção mundial pesqueira foi de 158 Mton (anexo 1), onde a aquicultura teve uma representação de 42,2 % (66,6 Mton). O quadro 1 mostra, por ordem decrescente, os três maiores países no que diz respeito a capturas, produtores de aquicultura, importadores e exportadores, em 2012 (FAO, 2014).

**Quadro 1** - Representação dos três maiores países produtores de aquicultura, de pesca marinha, importadores e exportadores de peixe e produtos de pesca (FAO, 2014).

Pesca	Produtores de aquicultura	Importadores	Exportadores
China	China	Japão	China
Indonésia	Índia	Estados Unidos da América	Noruega
Estados Unidos da América	Vietname	China	Tailândia

Mundialmente, a população continua a aumentar, sendo inevitável uma maior procura pelos produtos de pesca e de aquicultura, para fazer face às suas necessidades. O equilíbrio entre a procura e a produção depende das práticas de aquicultura futuras (Naylor *et al.*, 2000). Atualmente existe uma tendência social para famílias mais pequenas, originando uma procura específica de produtos, como por exemplo de pequenas porções (postas e filetes). Também o fato da crise ter levado ao decréscimo de rendimentos nas famílias, conduziu à criação de produtos mais baratos (Monfort, 2010). No entanto, existe também uma preocupação crescente com o conteúdo nutricional dos alimentos de que dispomos, ou seja, há uma procura pelo melhor equilíbrio nutricional numa dieta que melhore a saúde e o bem-estar (FAO, 2012). O peixe é extremamente saudável, sendo uma importante fonte de proteína – 150 gramas (g) de peixe fornece 56-60% da proteína que um adulto precisa diariamente (FAO, 2014).

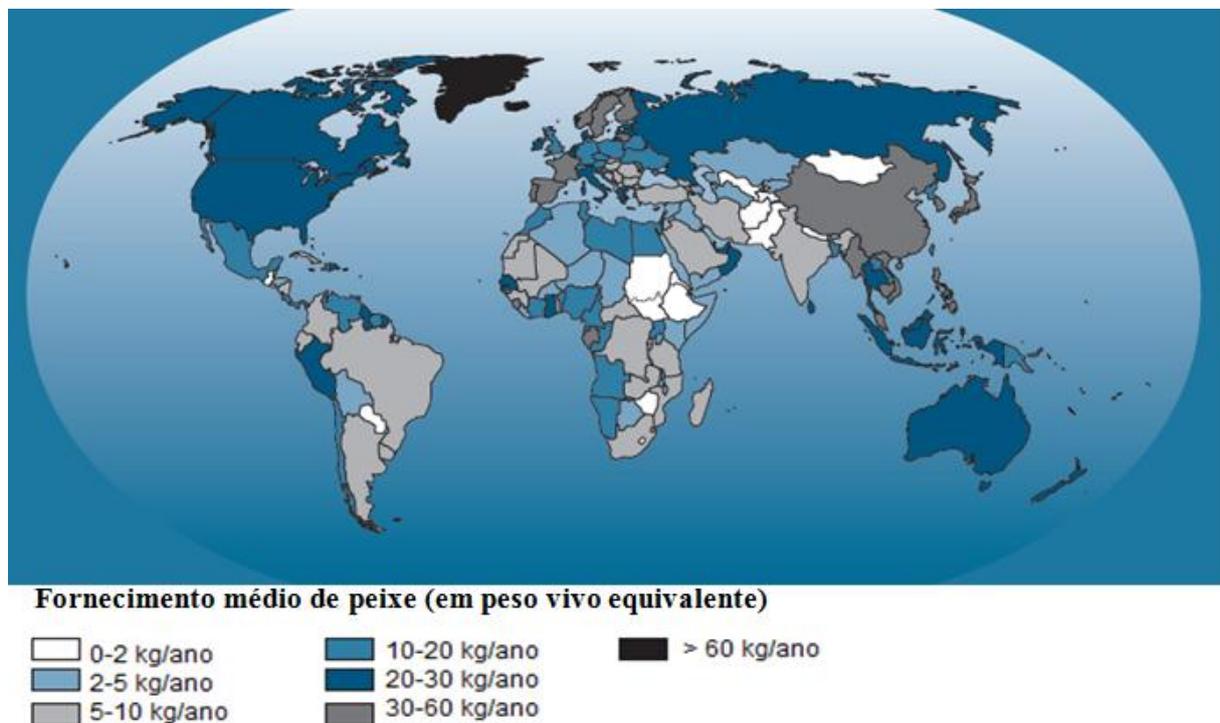
No entanto, a aquicultura tem implicações no meio ambiente, ao nível da poluição gerada com a produção. Deste modo, o principal objetivo é tornar as produções sustentáveis a longo prazo. Com a sobre-exploração dos recursos marinhos, torna-se difícil encontrar animais selvagens. Assim uma das

soluções poderia passar pelo aumento de produção da aquacultura, através da evolução tecnológica e da fácil expansão de produção de peixes, tentando ser o mais eficiente possível (FAO,2014).

## 1.1 Aquacultura em Portugal

Geograficamente, Portugal tem uma extensa costa envolvida pelo oceano atlântico, com ótimas condições para a atividade pesqueira e também propícia para a atividade aquícola. Esta proximidade com o mar leva a um costume de consumo de pescado elevado e ajuda a criar muitos postos de trabalho.

Na Fig. 1 observa-se que em Portugal o consumo de peixe *per capita* está entre os 30 - 60 quilogramas (kg) / ano, exibindo-se como um dos maiores consumidores de pescado.



**Figura 1** - Consumo de peixe *per capita* entre 2008-2010 (adaptado: FAO, 2014)

Com estas evidências de mercado, seria de esperar que a aquacultura no país crescesse e houvesse um maior investimento na área. Mas, na última década, esse número tem vindo a ser reduzido e a aposta que deveria ser feita neste sector não é consumada, quer pela diminuição de recursos marinhos, quer pela crise financeira. Assim, é de prever que, com este potencial aquícola, se tentem desenvolver novas espécies com interesse comercial e melhorar as mais rentáveis para uma maior

eficiência de produção e aumento de qualidade, criando maior competitividade neste sector dentro do país e fora dele. Algumas dessas espécies são o pregado (*Scophthalmus maximus*), salmão do atlântico (*Salmo salar*), truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), robalo (*Dicentrarchus labrax*), dourada (*Sparus aurata*) e a corvina (*Argyrosomus regius*) (FAO, 2012).

## **1.2 A importância da corvina na Aquacultura**

A aquacultura tem-se baseado muito na produção de determinadas espécies, tais como a dourada e o robalo. Com a necessidade de diversificar a produção, a corvina aparece como um bom candidato à aquacultura na região do Mediterrâneo, tendo ficado classificada em 8º num total de 27 espécies, quando avaliadas sob os critérios de produção, transformação, distribuição e consumo (Chatzifotis *et al.*, 2010; Quéméner *et al.*, 2002).

A produção de corvina ainda é recente, não estando ao mesmo nível de conhecimentos sobre a criação, como ocorre noutras espécies (exemplo: dourada, robalo). Isto leva a um maior interesse sobre a sua produção, pois ainda está longe de ter atingido todo o seu potencial (Suquet *et al.*, 2009; Martínez-Llorens *et al.*, 2011). No entanto, como a corvina demonstra adaptar-se aos métodos de produção de outras espécies, pode considerar-se possível um aumento de produção (Suquet *et al.*, 2009).

A corvina é eleita pelos produtores devido à textura e sabor da carne e ao rápido crescimento (Suquet *et al.*, 2009; Schiavone, 2012). Também apresenta altos teores proteicos e baixos teores lipídicos e a quantidade de lípidos que existem são de ótima qualidade, devido ao elevado teor em ácidos gordos polinsaturados (Monfort, 2010). Devido a uma baixa adiposidade, evidencia um bom potencial nutritivo e um favorável valor de mercado (Suquet *et al.*, 2009; Chatzifotis *et al.*, 2010). A sua forma atrativa e facilidade de processamento, com vista a diferentes produtos finais (filetes, posta, fumado), permite retirar maior proveito da sua produção (Monfort, 2010). Seguidamente, no mercado, desfruta de uma longa vida de prateleira (Monfort, 2010; Schiavone, 2012), mais especificamente, o fiambre de corvina dura até 13 dias em refrigeração (Patriarca *et al.*, 2015).

### 1.3 Corvina (*Argyrosomus regius*)

A espécie *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) (Fig. 2), de nome vulgar corvina, tem a seguinte classificação (Quadro 2).



**Figura 2** - *Argyrosomus regius*.

**Quadro 2** - Classificação taxonómica (Whitehead *et al.*, 1984/1986; Cárdenas, 2010).

Classificação	
<b>Reino</b>	<i>Animalia</i>
<b>Filo</b>	<i>Cordata</i>
<b>Ordem</b>	<i>Perciformes</i>
<b>Família</b>	<i>Sciaenidae</i>
<b>Género</b>	<i>Argyrosomus</i>
<b>Espécie</b>	<i>A. regius</i>

A corvina pertence à família *Sciaenidae*, que é composta por peixes sonoros / roncadores (Lagardère e Mariani, 2006). A emissão de sons, semelhante a um “grunhido”, é realizada através da vibração dos músculos abdominais sobre a parede da bexiga-natatória (Quéméner, 2002; Monfort, 2010). É um peixe teleóstéo (González-Quirós *et al.*, 2011) que pode atingir até 2 metros (m) de comprimento e entre 50 – 100 kg de peso (Quéméner, 2002; Monfort, 2010; Castaldo, 2012) e chegar a uma idade máxima de 42 anos (Morales-Nin *et al.*, 2012). Caracteriza-se pela sua grande cabeça e corpo alongado e por ter uma coloração cinzenta escura, com tons bronze lateralmente e sombras prateadas na zona ventral (Castaldo, 2012; Quéméner, 2002). A cor da cavidade bucal é um parâmetro da frescura da corvina, que após a captura passa de alaranjada para acastanhada e mais tarde para cinzenta (Ribeiro, 2011).

A corvina é uma espécie euritérmica (Cárdenas, 2010) que resiste bem a variações de temperatura, de salinidade, entre outros, tanto que quando os seus reprodutores selvagens são capturados

adaptam-se bem ao cativeiro (Suquet *et al.*, 2009; Chatzifotis *et al.*, 2010) continuando o seu desenvolvimento até completar o estado de maturação, sendo posteriormente aplicados protocolos de indução, que irão permitir a desova (Duncan *et al.*, 2008; Cárdenas, 2010). Ainda que mostre boa adaptabilidade, o manejo continua a carecer de cuidados, pois as escamas, os olhos e a cauda podem ficar danificados. Mostra também ser resistente a doenças bacterianas, apesar de terem existido casos de parasitismo (com *Amylodonium sp.*) – através do controlo de densidade e da qualidade da água consegue-se fazer uma boa prevenção de doenças (Monfort, 2010).

A distribuição geográfica da corvina estende-se pelo mar mediterrâneo (Chatzifotis *et al.*, 2010; Morales-Nin *et al.*, 2012) e pela Mauritânia até à Noruega. A corvina selvagem é muito comum em Portugal, Espanha e França (Monfort, 2010). A época de reprodução dá-se desde Abril até Junho, altura em que os reprodutores que estão no mar mediterrâneo ou oceano atlântico começam a dirigir-se para estuários e lagoas costeiras, para que ocorra a reprodução e posterior desova (FAO, 2005).

### 1.3.1 Reprodução

O sucesso da reprodução é um dos aspetos mais importantes na aquacultura. Um dos fatores limitantes desse sucesso é a qualidade dos gâmetas dos reprodutores (Bobe e Labbé, 2010). Através de estudos de fertilidade (quer em humanos quer em animais domésticos) sabe-se que os traços genéticos dos pais influenciam a fecundidade e a qualidade embrionária (Kjørsvik *et al.*, 2003). Em cativeiro, na formação do grupo de reprodutores, é necessário garantir a variabilidade genética (Duncan *et al.*, 2013) por forma a conseguir boas características de crescimento, qualidade da carne e resistência a doenças. Deve evitar-se a consanguinidade, devido ao risco de aumento de defeitos genéticos (Andrades *et al.*, 1996).

A maturação sexual varia com a espécie, com a presença do sexo oposto, a idade, o tamanho do peixe, a alimentação, a temperatura e o fotoperíodo (Moreira *et al.*, 2001). Na corvina, a maturidade sexual inicia-se quando atinge um tamanho entre 70 a 110 centímetros (cm) (de comprimento total) (González-Quirós *et al.*, 2011), um peso superior a 8 kg de peso vivo (Duncan *et al.*, 2008) e a idade de 2 a 3 anos (Castaldo, 2012).

O ciclo reprodutivo é influenciado pelos estímulos ambientais. Estes são captados por recetores sensoriais, que enviam sinais ao cérebro – hipotálamo – havendo assim a libertação de hormonas que vão atuar nas gónadas, a hormona folículo estimulante (FSH) e a hormona luteinizante (LH). Por sua vez, as gónadas começam a produzir hormonas sexuais, responsáveis pela produção dos gâmetas. Assim, quando os gâmetas são viáveis, pode dizer-se que o peixe está maduro (Moreira *et al.*, 2001). Este desenvolvimento das gónadas, durante o ciclo reprodutivo, não acontece sempre ao mesmo tempo para todos os animais, pois existe muita variabilidade quer entre indivíduos quer no próprio animal, dando origem a diferentes estádios em alturas distintas (Gil *et al.*, 2013). Mesmo recorrendo à indução hormonal, podem verificar-se variações na taxa de eclosão, pois quando aplicados os mesmos protocolos a várias fêmeas, estas podem estar em diferentes estados da oogénese, dificultando assim o efeito da estimulação hormonal a que são sujeitas (Bobe e Labbé, 2010).

### 1.3.1.1 Sistema reprodutor dos peixes: macho e fêmea

O desenvolvimento das gónadas, tal como o comportamento de acasalamento dos peixes, é influenciado pelas hormonas estradiol e testosterona. Nas fêmeas o estradiol é produzido através da estimulação dos oócitos, pelas hormonas FSH e a LH enquanto nos machos a testosterona é secretada pelas células de *leydig* (Moreira *et al.*, 2001). Nos peixes teleósteos, a puberdade inicia-se após a diferenciação sexual, nomeadamente após a espermatogénese nos machos e a oogénese nas fêmeas (Okuzawa, 2002). A identificação do género dos animais realiza-se através da execução de pressão ventral no sentido da cauda. Quando são machos, o esperma (de cor leitosa) flui, se for fêmea pode haver ou não libertação de oócitos (Mylonas *et al.*, 2013b).

No sistema reprodutor masculino, os testículos encontram-se sob a bexiga gasosa, havendo variações no peso e tamanho consoante o estado de maturação (Moreira *et al.*, 2001). No interior dos testículos, no epidídimo, existem os túbulos seminíferos onde ocorre a espermatogénese – produção e amadurecimento dos espermatozóides (ez), até serem ejaculados (Moreira *et al.*, 2001).

O processo de formação de espermatozóides baseia-se em três fases importantes. Numa etapa inicial as células germinativas – espermatogónias – vão dar origem aos espermatócitos primários (ep), através do processo de mitose. Numa segunda fase os espermatócitos primários evoluem para espermatócitos secundários (es), através da meiose. Passando de novo pelo processo de meiose, irão formar os espermatídeos. Por fim, ocorre a espermiogénese – processo de diferenciação, onde os espermatídeos se transformam em espermatozóides (imaturos) (Schulz e Miura, 2002, Costa, 2004; Paiva, 2010). Para que os espermatozóides possam ser viáveis ainda necessitam de passar pelo procedimento de maturação e capacitação, que consiste no ganho de motilidade e capacidade de fertilização, através da sua passagem das células de *sertoli* para túbulos seminíferos e pelo ducto eferente (Schulz e Miura, 2002; Paiva, 2010).

A qualidade do esperma define-se pela capacidade de sucesso de fertilização do ovo e o seu posterior desenvolvimento num embrião (Bobe e Labbé, 2010). É de ressaltar que a mobilidade do esperma e a qualidade da membrana plasmática também são parâmetros importantes a avaliar (Bobe e Labbé, 2010). No robalo, a dieta alimentar não afeta a motilidade do esperma e a fertilização, mas afeta a sobrevivência embrionária e larvar, indicando um potencial efeito a longo prazo na qualidade do esperma (Bobe e Labbé, 2010).

Em espécies de reprodução anual, tal como a truta, na época de reprodução, a produção de espermatozóides começa mais cedo e acaba mais tarde que a produção de ovos (Bobe e Labbé, 2010). Alguns estudos mostram uma produção de esperma baixa tanto no início como no fim da época, contrastando com uma produção constante de esperma a meio da época (Bobe e Labbé, 2010).

No sistema reprodutor feminino os ovários situam-se longitudinalmente sob a bexiga-natatória, variando o tamanho e peso, conforme a maturidade e idade do peixe (Moreira *et al.*, 2001).

No ovário ocorre a formação das oogónias que se irão desenvolver em oócitos (envoltos numa película acelular) e posteriormente em óvulos (Blazer, 2002). A película acelular, que é formada por

proteínas produzidas no fígado (Grier *et al.*, 2009), como resposta ao estrogénio, é importante na fertilização e no desenvolvimento do embrião, pois ajuda a protegê-lo (Brooks *et al.*, 1997). Os óvulos são constituídos pelas membranas coriônica e vitelina, onde se encontram o núcleo e o vitelo (Moreira *et al.*, 2001). Uma vez que a fecundação é externa, o embrião vai depender do vitelo para sobreviver (Moreira *et al.*, 2001).

No peixe teleósteo, o ovo é o produto final que resulta do crescimento e desenvolvimento do oócito (processo que pode levar um ano), que decorre no ovário (Brooks *et al.*, 1997, Bobe e Labbé, 2010). A vitelogénese - processo de crescimento dos oócitos - exige do organismo materno um esforço metabólico importante (Jalabert, 2005), havendo absorção de produtos nutritivos e armazenados, que são depois usados no desenvolvimento do embrião – embriogénese (Fig. 3) (Lubzens *et al.*, 2010).

A oogénese pode ser descrita por seis fases: (1) formação das células germinativas primordiais, (2) transformação em oogónias (diferenciação sexual), (3) transformação em oócitos, (4) vitelogénese, (5) maturação e (6) ovulação (Patiño e Sullivan, 2002; Brooks *et al.*, 1997). Durante a oogénese, as fêmeas conseguem decidir a quantidade de oócitos que se irão desenvolver, equilibrando a fecundidade com a qualidade do ovo (Schreck *et al.*, 2001). O potencial de fecundidade nas corvinas aumenta com o tamanho, o peso e a idade (Jalabert, 2005; Gil *et al.*, 2013), admitindo que peixes acima de 8 kg apresentam melhor fecundidade (Duncan *et al.*, 2013).

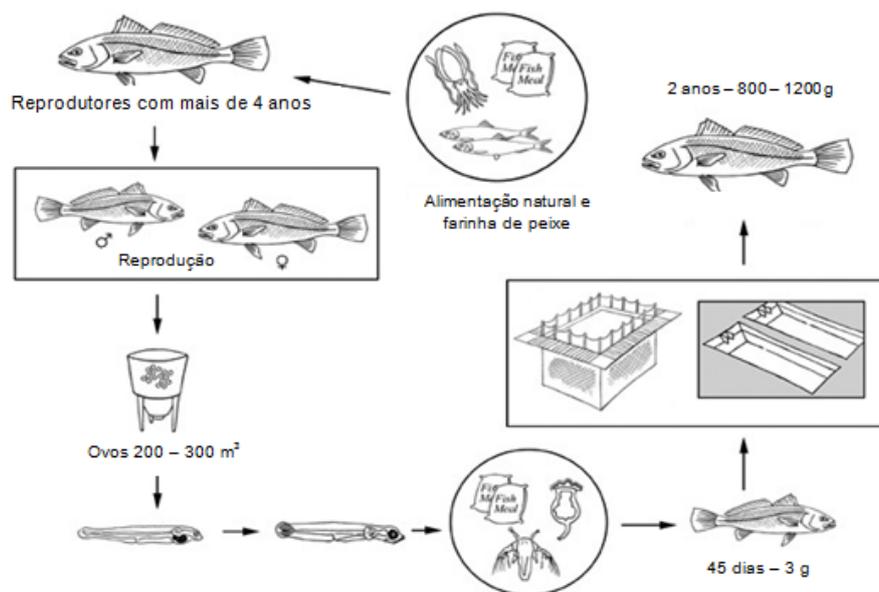
De acordo com os seguintes autores (quadro 3), o desenvolvimento dos oócitos e dos espermatozóides pode variar consoante as seguintes fases:

**Quadro 3** - Diferentes caracterizações da fase reprodutiva de corvina (*Argyrosomus regius*).

Referência	Fases	
Berois, <i>et al.</i> , 2004	<u>Fases na fêmea</u>	<u>Fases no macho</u>
	Recuperação Maturação Vitelogénese total Desova Desova parcial Regressão	Recuperação Maturação Desova Desova parcial Regressão
Grau <i>et al.</i> , 2009	Imaturo	
	Desenvolvimento precoce Desenvolvimento tardio Desova Despêndido Recuperação Repouso	
Gil <i>et al.</i> , (2013)	Diferenciação incompleta	
	Diferenciação imatura Desenvolvimento Amadurecimento Desova Despêndido Recuperação Repouso	

### 1.3.2 Ciclo produtivo

O manejo da corvina realiza-se analogamente a outras espécies, como o robalo e dourada. Na Fig. 3 está demonstrado o ciclo produtivo da corvina (Suquet *et al.*, 2009; Monfort, 2010; Roo *et al.*, 2010).



**Figura 3** - Ciclo produtivo da corvina (*Argyrosomus regius*) (adaptado: FAO, 2005).

### 1.3.2.1 Obtenção de ovos e incubação

O desenvolvimento embrionário é considerado um ponto crítico no ciclo de vida de um teleósteo, devido à sua vulnerabilidade quando expostos a mudanças ambientais. A altura mais sensível vai desde a fertilização até à fase de gastrulação estar completa (Westernhagen, 1988).

A postura decorre entre os 17-22° C (Monfort, 2010 e Quéméner, 2002) e quando se dá a desova, os ovos são recolhidos à superfície da água, pois os ovos fecundados têm, na sua morfologia, a particularidade de serem flutuantes (Quéméner, 2002). A averiguação dos ovos mortos ou não fertilizados através de procedimentos de flutuabilidade e fertilização é a mais rápida e comum a todas as espécies (Shields *et al.*, 1997).

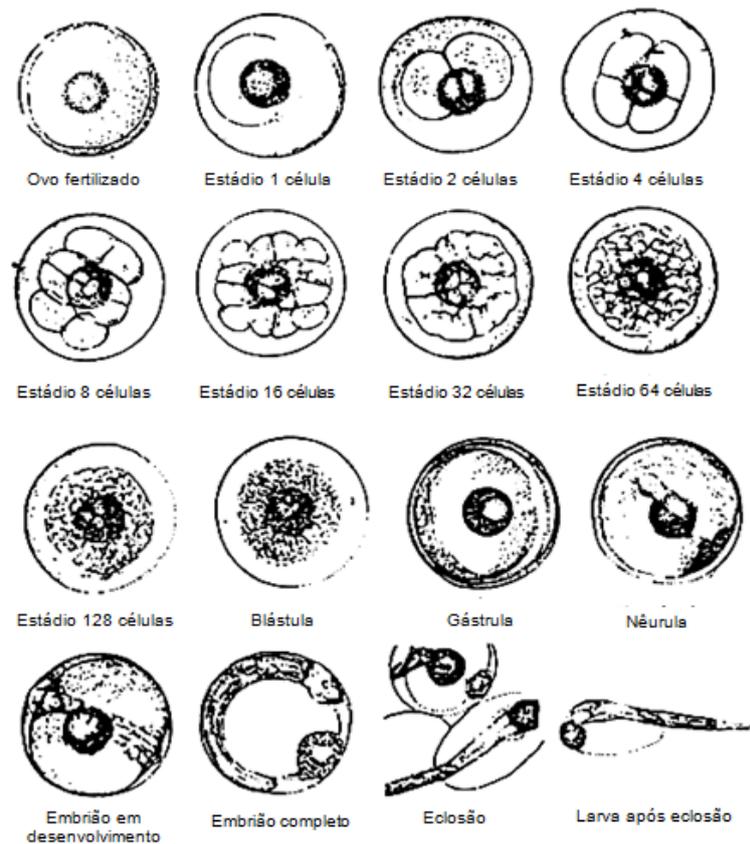
Os ovos são colocados em tanques com uma capacidade que varia entre 250 e 1000 litros (L) (Cárdenas, 2010), usando uma intensidade de luz entre 500 a 1000 lux para um fotoperíodo variável de 16 a 24 horas (h) (Vallés e Estévez, 2013).

Antigamente achava-se que quanto maior o ovo, mais qualidade teria. Mas o tamanho do ovo varia de espécie para espécie. Os diferentes tamanhos do ovo podem ser explicados pelo meio envolvente, como a disponibilidade de alimento para as larvas e a predação; por características intrínsecas, como a altura em que atinge a maturidade sexual, pois muitas vezes uma fêmea maior pode pôr ovos maiores; e, por último, pelo número de posturas, sendo frequente nas últimas posturas os ovos serem de menor dimensão (Brooks *et al.*, 1997).

Normalmente, uma fêmea de 1,2 m pode chegar a pôr 800 000 ovos (Quéméner, 2002; Monfort, 2010), mas a quantidade de ovos produzida pode variar de 390 000 – 940 000 ovos / dia (Mylonas *et al.*, 2013b). Os ovos fertilizados de corvina apresentam um diâmetro entre 900 a 1000 µm

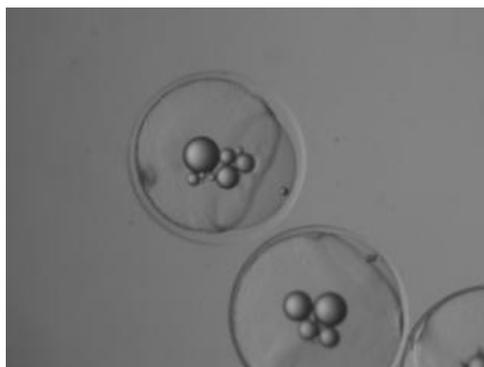
(micrómetros), com a presença de gotas lipídicas, de aproximadamente 250 µm de diâmetro (Quéméner, 2002; Suquet *et al.*, 2009).

Após ocorrer a fertilização do óvulo, segue-se o processo de divisão mitótica das células – ovo, como se pode observar na Fig. 4. Nos peixes teleósteos, os ovos sofrem uma segmentação meroblástica discoidal. Assim, o processo de clivagem é parcial, pois a divisão do ovo não é por inteiro, devido à abundância de vitelo, que restringe a área de citoplasma (Fig. 5) (Shields *et al.*, 1997).



**Figura 4** - Estádios de desenvolvimento embrionários de robalo (*Dicentrarchus labrax*) (adaptado: Maneewongsa and Tattanon, 1982).

No período de maturação do ovo, após a ovulação, o oócito sofre um decréscimo na sua habilidade em ser fertilizado e posteriormente em se desenvolver num embrião normal. Uma excessiva maturação pode levar a modificações morfológicas e bioquímicas do ovo. Este processo pode ser designado por “over-ripening”- excesso de amadurecimento (Bobe e Labbé, 2010). Em muitos casos a maturação pós-ovulação pode induzir um decréscimo significativo na capacidade de desenvolvimento do ovo, sem haver modificações morfológicas perceptíveis do mesmo. Este decréscimo na qualidade do ovo ocorre com mais ou menos rapidez dependendo da espécie, da variabilidade entre fêmeas e de fatores externos, como por exemplo a temperatura (Bobe e Labbé, 2010).



**Figura 5** - Ovos de corvina (*Argyrosomus regius*).

A qualidade do ovo pode ser definida como a capacidade do ovo ser fertilizado e posteriormente formar um embrião (Bonnet *et al.*, 2007; Bobe e Labbé, 2010; Lubzens *et al.*, 2010), sempre e quando todos os processos físicos, químicos e genéticos ocorrem com sucesso (Kjørsvik *et al.*, 1990). A dieta alimentar é também um fator a considerar na qualidade do ovo, assim como outros parâmetros, entre os quais, as condições da água (temperatura, luz, pH, salinidade) (Moreira *et al.*, 2001). As propriedades intrínsecas de um ovo, como o material genético fornecido pelos progenitores (após fertilização), podem afetar a sua qualidade. O ambiente onde os ovos são incubados tem também influência no sucesso de uma descendência viável, pois é necessário promover as condições ótimas de incubação. Uma baixa mortalidade na fertilização, eclosão (Castaldo, 2012) e primeira alimentação, são também indicadores da boa qualidade do ovo (Timóteo, 2007).

Apesar do ovo conter todas as informações para formar um embrião, também irá precisar de aminoácidos (aa), lípidos, hidratos de carbono, cálcio, vitaminas, entre outros. Se o ovo não tiver os compostos certos nas quantidades adequadas, não será capaz de sustentar um embrião viável (Brooks *et al.*, 1997; Lubzens *et al.*, 2010).

### **1.3.2.2 Larvas**

A produção de alevins de corvina começou em França, expandindo-se depois para a Turquia, Itália e Marrocos (Monfort, 2010).

As explorações quando não possuem maternidades para incubar alevins, encomendam-nos. Os alevins entregues têm entre 3 - 20g, sendo distribuídos por tanques (80 – 100 m<sup>3</sup>) com uma densidade de 300 - 350 peixes / m<sup>3</sup>. Nesta fase, são mantidos nos tanques mais ou menos por três meses até atingirem 100 g, alcançando uma taxa de sobrevivência de 80%. Em 24 meses, num tanque com uma densidade de 50 / m<sup>3</sup>, atingem 800 a 1200 g (Monfort, 2010).

O cultivo larvar intensivo pode ser feito com densidades desde 25 a 50 larvas / L, enquanto um regime semi-intensivo não ultrapassa as 5 larvas / L (Cárdenas, 2010). Este é um dos períodos mais importantes relativamente à sobrevivência, fome e/ou predação. Estes fatores podem ser limitantes para o desenvolvimento da larva até à maturidade. De modo a minimizar esses efeitos neste período,

a alimentação tem de ser adequada à espécie e a temperatura tem que rondar os 20 - 21° C (Quéméner, 2002; Pousão-Ferreira, 2010), podendo a larva alcançar 10 miligramas (mg) de peso seco ao 30º dias após a eclosão (dae) (Cárdenas, 2010).

Após a eclosão, entre o 1º e 2º dia, são as reservas lipídicas do saco vitelino que sustentam nutricionalmente as larvas. Quando eclodem, as larvas têm um comprimento que varia desde 2 a 6 (milímetros) mm (Cárdenas, 2010), necessitando das reservas lipídicas para o processo de crescimento (morfológico, estrutural e fisiológico) de modo a alcançar as características de um peixe adulto (Gisbert et al., 2008).

Nos primeiros dias de vida da larva usa-se a técnica da água verde, ou seja, introduzem-se microalgas (p. ex. *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis oculata*) nos tanques para fomentar a estabilidade e qualidade da água, para controlo microbiano, ajudando no contraste e dispersão da luz e apoiando a alimentação do zooplâncton (Pousão-Ferreira, 2010).

Durante a embriogénese, as larvas utilizam como fonte de energia os aa livres nas lipoproteínas do vitelo e a gota lipídica (Wiegand, 1996). A absorção da gota lipídica começa na trigésima hora e na 96ª hora o saco vitelino está praticamente consumido. Durante este processo a larva também já mostra abertura da boca (AB) (Quéméner, 2002 e Monfort, 2010). Após a fase da abertura da boca, as larvas têm uma mobilidade e visão reduzida, necessitando de ser alimentadas com organismos vivos e não artificiais e estáticos, como por exemplo (p. ex.) plâncton, que tem mobilidade contínua e é de fácil digestão, facilitando a alimentação. Visto a boca ser de pequena dimensão, há uma restrição no tamanho das partículas do alimento a ser dado, começando por isso pelo plâncton, seguido pelos rotíferos e uns dias depois suplementada com artémia (Pousão-Ferreira, 2010). Não descurando o seu valor nutricional, mas tanto os rotíferos (com perfil de aa desequilibrado), como a artémia (com deficiência em ácidos gordos essenciais (AGE), precisam de ser enriquecidos com produtos específicos, melhorando deste modo o seu perfil nutritivo (Pousão-Ferreira, 2010). Esta alimentação é dada em boa quantidade para limitar o canibalismo (Suquet et al., 2009). Normalmente, a partir do 20º dae a larva pode ser alimentada só com ração. Esta transição de alimentos vivos para inertes é facilitada se já houver uma introdução prévia para habituação (Cárdenas, 2010). Os juvenis alimentam-se de pequenos peixes demersais, passando depois para peixes pelágicos e cefalópodes (Monfort, 2010; Martínez-Llorens et al., 2011).

### **1.3.2.3 Fatores que influenciam a qualidade dos ovos e larvas**

A qualidade do ovo pode ser analisada através da duração do desenvolvimento embrionário até à eclosão, pelo diâmetro do ovo, número de gotas lipídicas, composição bioquímica dos ovos e pelo tempo de formação dos órgãos (Timóteo, 2007). Indiretamente, as propriedades físico-químicas do ovário (p. ex. o pH do fluido ovárico) também podem afetar a qualidade do ovo (Bobe e Labbé, 2010).

## **Fatores ambientais**

A exposição de fêmeas, em idade reprodutiva, a poluentes ambientais pode afetar negativamente a sobrevivência dos ovos e alevins (Brooks *et al.*, 1997). Por exemplo, alevins do salmão do atlântico, quando expostos à toxicidade de metais pesados ficam com inibições no crescimento (Westernhagen, 1988).

Se houver uma mudança nas condições climáticas, assemelhando-se às condições da reprodução em estado natural, pode obter-se uma programação da produção de alevins, otimizando assim o processo de produção (Suquet *et al.*, 2009).

## **Temperatura e Oxigênio**

A temperatura da água é dos aspectos mais importantes na postura e no desenvolvimento dos ovos. No pargo (*Pagrus pagrus*), se existir um aumento da temperatura, o desenvolvimento do ovo ou larva passa a ser muito mais rápido, enquanto se diminuir a temperatura, irá haver um abrandamento dos processos de desenvolvimento no ovo ou larva (Timóteo, 2007).

## **Fotoperíodo**

O fotoperíodo pode afetar o crescimento, o peso e a sobrevivência das larvas. Deste modo, devem adequar-se as horas de luz disponíveis à espécie, de forma a tornar mais eficiente o seu cultivo. A sobrevivência larvar pode diminuir se existirem muitas horas de luz (entre 16 a 24h), porque o canibalismo aumenta, devido ao tempo em que as larvas veem e se cruzam umas com as outras. Por outro lado, redução nas horas de luz pode ter um efeito negativo na alimentação e crescimento. Como as larvas se alimentam de presas vivas nos primeiros 15 dias de vida, sem a existência de luz torna-se difícil a sua deteção, levando a uma redução na ingestão de alimento (Vallés e Estévez, 2013).

Vallés e Estévez (2013) sugerem no seu estudo que um intervalo do fotoperíodo ótimo para as condições de cultivo larvar da corvina está entre 16 a 24h de luz, com uma intensidade luminosa de 500 a 1000 lux.

## **Órgãos vitais**

Nos peixes teleósteos existem determinados órgãos importantes que, não desempenhando as suas funções de forma adequada, afetam o crescimento dos animais. O fígado, o pâncreas, o intestino, as fibras musculares e o tecido cartilágneo são usados em análises histológicas que permitem aferir sobre a eficiência dos regimes alimentares dos animais, em relação ao seu crescimento (Gisbert *et al.*, 2008). No fígado das larvas de dourada, o glicogénio é absorvido quando as larvas fazem a transição do alimento endógeno para exógeno e reconstituído após as reservas lipídicas do saco vitelino se acabarem. O intestino é um local de absorção de nutrientes logo, se a dieta não for

equilibrada, poderão existir reações inflamatórias ao longo da mucosa intestinal. O tecido muscular é afetado pela falta de alimento que a larva sofre, levando a uma quebra na contração das fibras musculares (Gisbert *et al.*, 2008).

## **Densidade**

Quando o cultivo é feito a baixas densidades o peso seco é melhor do que em altas densidades, pois estas implicam menores taxas de crescimento e menores taxas de sobrevivência – existe uma maior competição pela alimentação, maior agressividade e maior degradação da qualidade da água (Roo *et al.*, 2010).

## **Dieta alimentar**

Existem várias espécies de peixes, o que significa diferentes necessidades alimentares. Uma restrição alimentar ou uma alimentação desequilibrada, que provoque uma deficiência em vitaminas e AGE nos animais, poderá ser prejudicial quanto à fecundidade dos reprodutores, à qualidade do ovo e ao desenvolvimento embrionário (Bobe e Labbé, 2010), afetando o desenvolvimento do cérebro e o sistema neuro endócrino (Gisbert *et al.*, 2008).

O crescimento e sobrevivência larvar dependem de um bom regime inicial de alimentação com boa qualidade nutricional. Durante o processo de desenvolvimento morfológico, a utilização dos nutrientes pode ser afetada, principalmente quando as alterações se dão ao nível do sistema digestivo, ou seja, quando este não está totalmente formado, não ocorre uma absorção eficiente dos nutrientes (Izquierdo *et al.*, 2000).

## **Fatores de stress**

Um maior conhecimento sobre os fatores de stress ajudará no manejo de populações quer selvagens quer de aquacultura (Schreck *et al.*, 2001). Face à diversidade de espécies de peixes, existe também uma maior variedade no tipo de resposta dada a este fator, por causa de características do indivíduo e do meio envolvente, como o género, idade, condição física dos animais, natureza do agente provocador de stress e qualidade da água (Schreck *et al.*, 2001). A seleção natural ajuda a melhorar os mecanismos de resposta ao stress que os animais possuem, de modo a conseguir ultrapassá-lo e repor a homeostase (Mileva *et al.*, 2011).

Na resposta fisiológica ao stress (dada pelo eixo do hipotálamo-hipófise-interrenal), é mobilizado o glucocorticoide e cortisol – hormonas de stress. Ter uma capacidade de resposta ao fator de stress é benéfico, no entanto, quando há um nível elevado e continuado de glucocorticoides, devido a um longo período de stress, o animal deixa de conseguir ultrapassar o desequilíbrio que existe. Consequentemente poderá ocorrer uma diminuição no crescimento do indivíduo, um decréscimo da sua imunidade e supressão da reprodução (Schreck *et al.*, 2001; Mileva *et al.*, 2011).

Nas fêmeas, o stress afeta a qualidade dos gâmetas, da postura e da descendência. Em condições stressantes, o organismo de uma fêmea pode ter de “escolher” para onde direcionar a energia – gastos de manutenção ou de reprodução. Quando o desenvolvimento do ovário é comprometido durante a vitelogenese, pode resultar em ovos atrésicos ou reabsorvidos. A reabsorção permite guardar energia ou nutrientes para aguentar o tempo em que existe stress (Schreck *et al.*, 2001). Schreck *et al.* (2001) sugerem que as fêmeas devem ter um mecanismo de defesa em que protegem os ovos dos efeitos prejudiciais do stress.

#### 1.3.2.4 Engorda

A produção da corvina pode ser feita em gaiolas ou jaulas em alto mar (produção intensiva), bem como em tanques de terra ou lagoas (Suquet *et al.*, 2009; Cárdenas, 2010). O crescimento dá-se maioritariamente durante o verão, correspondendo às melhores condições existentes, com uma temperatura do mar entre 17 - 21° C. Alguns autores sugerem que mesmo com um intervalo de temperatura maior, entre os 14 - 23° C a corvina continua a desenvolver-se bem (Quéméner, 2002; Suquet *et al.*, 2009; Cárdenas, 2010). No inverno, os peixes de maiores dimensões tendem a acumular gordura perivisceral, por isso é que em zonas como Espanha, Canárias e sul do Mediterrâneo há um bom crescimento dos peixes, pois as temperaturas do mar são altas (Monfort, 2010). Na costa francesa a corvina em menos de dois anos atinge 1,2 kg em gaiolas com uma densidade final de 50 kg / m<sup>3</sup>. (Suquet *et al.*, 2009).

Quanto aos requisitos alimentares da corvina e suas necessidades lipídicas – entre 20 - 24% (Duncan *et al.*, 2013), sabe-se que os lípidos são uma importante fonte de energia e de AGE para o animal, atuando ainda no transporte de nutrientes, tais como vitaminas lipossolúveis (A, D e K) e facilitando a utilização eficiente da proteína (Chatzifotis *et al.*, 2010). Quanto aos requisitos proteicos, estes são elevados – mais de 60% – sendo superiores aos valores necessários na alimentação da dourada e do robalo (Amoedo, 2011).

Martínez-Llorens *et al.* (2011) estudou nos seus ensaios a melhor relação proteína:lípido a fornecer na alimentação de corvina, concluindo uma necessidade de 47% de proteína e 20% de lípidos, de forma a melhorar a performance produtiva da corvina. Já Fernandes (2013) defende no seu estudo um rácio de 50% de proteína e 15-18% de lípidos.

Quando alimentada com ração de dourada, a taxa de conversão na corvina está compreendida entre 1,5 a 2 (Suquet *et al.*, 2009). Também se verificaram valores desde 0,9 a 1,2, dependendo da alimentação (Monfort, 2010).

A corvina é considerada uma espécie promissora para a aquacultura pois tem boas taxas de crescimento com valores descritos desde 1 kg peso vivo / ano (Duncan *et al.*, 2008; Monfort, 2010) ou 1 kg peso vivo em 10 meses (Roo *et al.*, 2010). A corvina pode obter rendimentos de produção de 42 a 45%, dependendo do tamanho do peixe e da sua finalidade (Monfort, 2010). A carne de peixes de cativeiro é menos firme que a de peixes selvagens, apresentando um maior conteúdo em ácidos gordos monoinsaturados e baixo em ácidos gordos saturados e polinsaturados (Fuentes *et al.*, 2010).

A qualidade da carcaça também está dependente do consumo de lípidos pelo animal, pois se este for elevado, irá aumentar a deposição de gordura na carcaça (Chatzifotis *et al.*, 2010).

## 1.4 Objetivos

A corvina, *A. Regius* (Asso, 1801) é uma espécie com boas características para aquacultura, que atualmente tem convencido os produtores para a sua produção em cativeiro.

O presente trabalho, teve como objetivos o estudo da maturação sexual de corvinas produzidas em tanques de terra; a caracterização da qualidade das posturas dos reprodutores de corvina F1; e o efeito da densidade de cultivo larvar nos seus descendentes, através de análises morfológicas, medições qualitativas e quantitativas dos ovos e verificação das taxas de sobrevivência embrionária e larvar.

## 2. Material e métodos

O ensaio experimental realizou-se nas instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) - IPMA. As análises histológicas foram realizadas no IPMA em Olhão e na Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade de Lisboa.

### 2.1 Reprodutores

Na EPPO, os progenitores de corvina existentes foram capturados do meio selvagem (Armação de atum em frente à ilha da Armona – TUNIPEX) e adaptados ao cativeiro. Destes, obtiveram-se posturas que deram origem às corvinas que foram engordadas nos tanques de terra (TT) e selecionadas como reprodutores F1 para a realização do ensaio.

As corvinas encontravam-se em tanques de terra (TT), com uma capacidade de 2500 m<sup>3</sup>, com água proveniente da Ria Formosa (Fig. 6). Durante a engorda, a alimentação administrada foi ração comercial, distribuída através de alimentadores automáticos.



**Figura 6** - TT9 antes da amostragem (esquerda) e TT9 durante a realização da captura dos peixes para posterior amostragem (direita).

Aos animais dos TT, nomeadamente ao TT1, TT4, TT6, TT7 e TT9, foram realizadas várias amostragens (quadro 4). De cada tanque foram capturados vários indivíduos em diversos períodos para avaliação do estado de maturação das gónadas.

**Quadro 4** - Quantidade de animais pescados para as amostragens realizadas aos tanques de terra de corvina (*Argyrosomus regius*) (idade a 01/05/12).

Amostragem	Tanque	Nº de indivíduos	Idade (dias)
12-Abril-12	TT9	5	1076
04-Maio-12		6	
13-Junho-12		5	
09-Abril-12	TT1	4	1063
04-Maio-12		6	
16- Maio-12		2	
14-Junho-12		5	
12-Abril-12	TT7	5	702
22-Maio-12		5	
18-Abril-12	TT4 <sup>1</sup>	5	348
18-Abril-12	TT6 <sup>1</sup>	5	347
23-Abril-12		3	

<sup>1</sup> Provêm do mesmo lote.

A formação do lote de reprodutores de corvina para o TR, ao todo, correspondeu a 17 corvinas do TT recolhidas aleatoriamente. A meio do tanque esticou-se uma rede de emalhar por toda sua largura, depois para formar um cerco ao cardume, arrastou-se a rede até um canto (Fig. 6). A captura aleatória dos peixes foi feita através de um camaroeiro, para uma caixa de transporte (Fig. 7), sendo posteriormente levados para as instalações para a realização dos procedimentos de análise.



**Figura 7** - Camaroeiro utilizado na captura das corvinas (*Argyrosomus regius*) do TT9.

Em março de 2012, foram pescados 10 indivíduos com 3 anos de idade, com um peso vivo médio de  $1850 \pm 265$  g (média  $\pm$  desvio padrão ( $\sigma$ )).

Posteriormente, a 4 de Maio de 2012, pescaram-se mais 7 indivíduos do mesmo lote, com um peso vivo médio de  $2188 \pm 180$  g e com um comprimento médio de  $62 \pm 3$  cm para juntar ao TR (Fig. 8).



**Figura 8** - Corvinas (*Argyrosomus regius*) no tanque de reprodução.

Os TR são revestidos a azulejo, com uma capacidade  $8,2 \text{ m}^3$ . A água do tanque, proveniente da Ria Formosa, passava por um filtro mecânico – de areia – antes de entrar no tanque. A entrada e saída da água efetuou-se pela superfície do tanque. Foram realizadas duas purgas por dia para manter o tanque limpo, feitas pela saída de água pelo fundo do tanque. Houve também a medição da temperatura da água no tanque, que variou entre  $15 - 22,8^\circ\text{C}$ . O fotoperíodo usado foi de 9D:15N (9h com luz e 15h sem luz).

No TR, a dieta alimentar baseou-se em ração comercial, distribuída duas vezes ao dia – *ad libitum*. Esta dieta foi ainda suplementada com lulas e poliquetas, duas vezes por semana.

No período de desova (que aconteceu maioritariamente de noite), colocaram-se coletores com uma malha de  $500 \mu\text{m}$  na saída de água (Fig. 9), de forma a conter os ovos, para de manhã se proceder à sua recolha.



**Figura 9** - Coletor dos ovos na saída de água dos tanques dos reprodutores de corvina (*Argyrosomus regius*).

Após cada recolha, através de um processo de decantação, foram obtidos os ovos viáveis (derivado à sua capacidade de flutuabilidade). Depois da separação dos ovos, efetuou-se a sua pesagem (viáveis e inviáveis) (Fig. 10).



**Figura 10** - Filtro para efetuar a pesagem dos ovos (viáveis e inviáveis) de corvina (*Argyrosomus regius*).

Os ovos viáveis foram colocados num balde de volume conhecido (de 5L) com arejamento, sendo posteriormente colocados na incubadora. Antes da colocação na incubadora, retirou-se uma pequena amostra aleatória, para se observar à lupa (*Stemi 200C*) (Fig. 11) o estado de desenvolvimento embrionário em que se encontravam.



**Figura 11** - Lupa *stemi* usada para observar o estado dos ovos e larvas.

Na maternidade, o tanque de incubação era cilíndrico-cónico, em fibra de vidro, com 200 L de capacidade, funcionando em sistema semiaberto. A entrada de água no tanque era feita pelo fundo e a saída pela parte superior, onde estava contíguo um filtro com uma malha de 80  $\mu\text{m}$  para impedir

que os ovos saíssem. O arejamento tinha um fluxo fraco (bolha-a-bolha, para evitar uma maior agitação da água).

Quando se efetuou a transferência, dos ovos para o tanque, realizaram-se também os procedimentos para o estudo das taxas de eclosão (Fig. 12) e sobrevivência. Assim, executaram-se dois replicados, cada um com 3 tubos em policloreto de vinil (PVC), contendo no fundo uma malha de 80 µm (sendo os tubos de sobrevivência maiores, para que houvesse espaço para as larvas depois da eclosão). Em cada tubo foram colocados 30 ovos.



**Figura 12** - Tubos utilizados para efetuar a taxa de eclosão para os ovos de corvina (*Argyrosomus regius*), nos tanques de incubação.

Após a distribuição dos ovos (de forma rápida e com a menor manipulação possível), colocaram-se as estruturas no tanque de incubação, definindo assim as mesmas condições para todos os tubos.

A taxa de eclosão foi calculada quando mais de 90% dos ovos do tanque já tinha eclodido. Para tal, contabilizaram-se os ovos eclodidos, os ovos / larvas abortados e ovos não eclodidos, presentes nos 3 tubos de PVC. Este dia é denominado o 0 dae.

Os ovos permaneceram na incubadora após a eclosão até 1º dae.

A fórmula usada no cálculo foi:

$$\text{Taxa de eclosão} = \frac{\text{n}^\circ \text{ larvas vivas} + \text{n}^\circ \text{ larvas mortas}}{\text{n}^\circ \text{ total de larvas} + \text{ovos não eclodidos}}$$

A taxa de sobrevivência à abertura de boca foi calculada quando mais de 70% das larvas já apresentava boca aberta. Assim, contabilizaram-se ovos, larvas mortas e larvas com boca aberta, existentes nos 3 tubos de PVC. A fórmula usada no cálculo foi:

$$\text{Taxa de sobrevivência à AB} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de larvas com boca aberta}}{\text{n}^\circ \text{ total de larvas eclodidas}}$$

## 2.2 Cultivo Larvar

Para a realização do ensaio utilizou-se apenas uma postura. Após a eclosão das larvas, escoou-se todo o material biológico do tanque de incubação para um filtro de 80  $\mu\text{m}$ . No final do processo, retiraram-se as larvas do filtro, passando-as para um copo cilíndrico-cônico de 4,5 L, com arejamento suficiente para distribuí-las homogêaneamente pela coluna de água. Com o auxílio de uma pipeta, foram retiradas 20 amostras aleatórias de 1 ml com reposição, de forma a quantificar o número total de larvas da postura. A distribuição das larvas teve como objetivo a realização de dois tratamentos diferentes em triplicado, testando duas densidades de cultivo, correspondendo a menor (LD) a 19 larvas.L<sup>-1</sup> e a de controlo (CTRL) a 39 larvas.L<sup>-1</sup>.

Os tanques eram cilíndrico-cônicos, em fibra de vidro, com capacidade para 200 L, funcionando em circuito semiaberto (Fig. 13). Neste sistema, a água passava, inicialmente, por filtros mecânicos de 50  $\mu\text{m}$ , de seguida por lâmpadas ultravioleta e filtros biológicos (nomeadamente as bio-balls) e, por fim, pela coluna de degaseificação até entrar nos tanques.

A entrada de água nos tanques foi feita pelo fundo e a saída pela parte superior. Na saída de água existia ainda um filtro com uma malha, que variou desde os 80, 150 e 250  $\mu\text{m}$  ao longo do ensaio dependendo do tamanho das larvas e alimento fornecido.

O tamanho da malha do filtro foi escolhido consoante o alimento dado às larvas e o tamanho destas - no início usou-se uma malha de 80  $\mu\text{m}$  para que tanto o alimento (rotíferos) como as próprias larvas não saíssem do tanque; com o aumento do tamanho das larvas e a adição de novo alimento (artémia) substituiu-se o filtro com uma malha de 80  $\mu\text{m}$  por um filtro com uma malha de 150  $\mu\text{m}$  (ao 6<sup>o</sup> dae) e depois por 250  $\mu\text{m}$  (ao 11<sup>o</sup> dae). Nos dias das trocas, as malhas mais pequenas ainda foram usadas de dia e as maiores de noite, para permitir a saída do alimento que não era consumido durante a noite (pois durante a noite perde as suas qualidades nutritivas).

O fluxo de renovação da água nos tanques foi aumentando ao longo do tempo, tendo inicialmente uma taxa de renovação da água de 9,6% / hora e no final uma taxa de 72% / hora. O arejamento dos tanques, desde o 1<sup>o</sup> até ao 20<sup>o</sup> dae, foi "bolha-a-bolha" com um fluxo fraco. A partir do 20<sup>o</sup> dae, o arejamento foi feito através de uma difusora de cerâmica, colocada no fundo.

O fotoperíodo usado foi de 14D:10N, com lâmpadas de halogéneo dispostas no teto, para que a luz incide-se nos tanques, tendo uma intensidade de 500 lux.



**Figura 13** - Tanques de incubação, situados na maternidade, usados no circuito experimental.

A limpeza dos tanques foi feita diariamente por aspiração - sifonagem - do fundo e da parede, finalizando com uma purga para um balde de plástico, ajudando assim à contabilização, todos os dias, das larvas mortas.

O filtro que se encontrava na superfície do tanque foi também passado por água para retirar a matéria que se acumulava na malha, para que a circulação de água fosse mais eficiente, evitando a colmatação e a degradação da água.

A temperatura da água e o oxigénio foram medidos diariamente de manhã com um oxímetro.

Quando se procedeu à colocação das larvas nos tanques, introduziu-se, igualmente, a microalga NO (*Nannochloropsis oculata*) e Tiso (*Isochrysis galbana*) – através da técnica da “água verde”. A distribuição foi de 1L NO + 1L Tiso, 4 vezes ao dia.

A alimentação começou a ser administrada ao 1º dae, tendo sido fornecidos rotíferos (estirpe - *Brachionus sp.*) enriquecidos com Red Pepper (de acordo com o protocolo da marca Bernaqua). Ao fim do 11º dae iniciou-se a alimentação com *Artemia sp.*. A introdução de ração, no regime alimentar, foi feita ao 10º dae, em quantidades mínimas, para que as larvas se acostumassem ao alimento inerte. A partir do 19º dae houve um desmame gradual para um regime alimentar só com ração (quadro 5). O regime alimentar foi realizado de acordo com o protocolo desenvolvido no IPMA (Pousão-Ferreira *et al.*, 1999).

**Quadro 5** - Regime alimentar das larvas de corvina (*Argyrosomus regius*) no circuito experimental.

dae	0	1	10	11	14	22
Alimento			<i>Brachionus sp.</i>			
			<i>Artemia sp.</i>			
			Ração			

## 2.3 Amostragens

No ensaio foram efetuadas várias amostragens, tanto aos reprodutores (para estudar a qualidade e eficiência das posturas), como também, aos ovos e larvas com diferentes dae no circuito larvar.

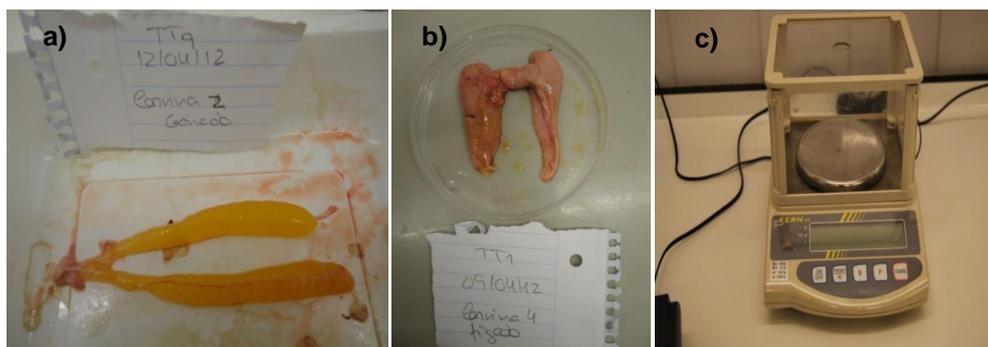
### 2.3.1 Corvinas dos tanques de terra e dos tanques de reprodução

Na amostragem efetuada aos animais dos TT1, TT4, TT6, TT7 e TT9, entre abril e junho de 2012 (como mencionado acima no ponto 2.1-Reprodutores), todos os animais (56 no total), foram sacrificados para o posterior estudo (Fig. 14).



**Figura 14** - Observação das gónadas da corvina 3 (*Argyrosomus regius*) na amostragem feita ao TT9.

Nas amostragens, para cada indivíduo determinou-se o peso e comprimento total após sacrifício. De seguida, realizou-se a recolha do fígado e gónadas, pesando-os individualmente numa balança com precisão de 0,01 g (Fig. 15).



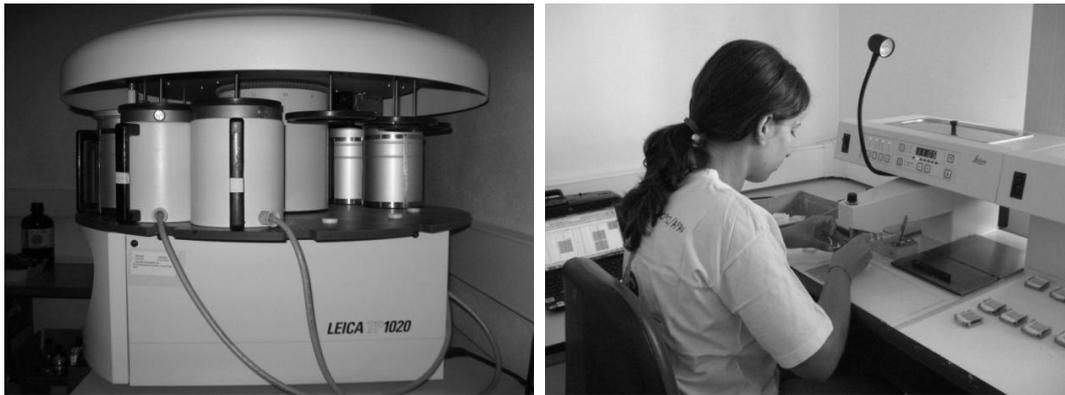
**Figura 15** - a) Gónada de uma fêmea de corvina (*Argyrosomus regius*); b) fígado de uma corvina (*Argyrosomus regius*); c) Balança Kern EG620-3NM, usada para pesar as gónadas e os fígados das corvinas (*Argyrosomus regius*).

Após a pesagem do fígado retirou-se uma pequena amostra para um tubo com fixador (solução *Bouin de Hollande*) para posterior processamento histológico (Fig. 16). Foram também retiradas duas amostras das gónadas: a primeira para uma lâmina para análise ao microscópico e a segunda para um tubo com fixador (solução *Bouin de Hollande*), para o estudo histológico. A análise ao microscópico permitiu visualizar os oócitos e fazer a sua medição e quantificação.



**Figura 16** - Tubos normax com amostras de gónadas e fígados das corvinas (*Argyrosomus regius*) para posterior estudo histológico.

Todas as amostras colocadas nos tubos que foram para análise histológica foram fixadas com solução *Bouin de Hollande* durante 72 horas. Ao fim desse tempo, efetuou-se a lavagem das peças por água corrente durante 6 horas. Após a lavagem, as amostras foram guardadas em cassetes histológicas, devidamente identificadas, dentro de um frasco com álcool a 70%. No procedimento seguinte (descrito no anexo 2) realizou-se a desidratação das amostras, através da passagem das peças por vários álcoois (70°, 95° e 100°) e no fim por 3 banhos de xilol. De seguida, procedeu-se ao manuseamento das peças em parafina fundida, colocando as amostras – fígado e gónadas - juntas num molde de *leuckart*, devidamente identificadas e orientadas para facilitar o corte das mesmas. Estes processos foram realizados na máquina Leica EG1140C (Fig. 17).



**Figura 17** - Máquina onde se procedeu à desidratação das amostras (esquerda) e máquina onde se colocou as amostras de gónadas e fígados de corvina (*Argyrosomus regius*) em parafina e molde de leuckart (direita).

Para efetuar o corte das peças, com 5 µm de espessura, usou-se um micrótopo (Corrediça Modelo Leica 5M 2000 R).

No final, efetuou-se a coloração dos cortes com o corante Hematoxilina-Eosina (H&E) (anexo 2), de acordo com o descrito em Martoja e Martoja (1967).

Para se poder classificar os estádios de maturação das gónadas femininas e masculinas das corvinas ao microscópio, utilizou-se a escala descrita no quadro 6 (Berois *et al.*, 2004; Grau *et al.*, 2009; Tuuli *et al.*, 2011).

**Quadro 6** - Escala de maturação microscópica e respetiva descrição dos estádios das gónadas femininas e masculinas das corvinas (*Argyrosomus regius*).

<b>Estádio</b>	<b>Ovário</b>	<b>Testículos</b>
<b>Imaturo</b>	Existência de oócitos primários (op)	Existência de espermátócitos primários (ep).
<b>Crescimento / Desenvolvimento</b>	Existência de oócitos secundários (os) e presença de gota lipídica (gl)	Existência de ep e secundários (es).
<b>Desova / Postura</b>	Existência de oócitos hidratados (oh) ou folículos pós-ovulatórios	Existência inicial de espermatozóides (ez).
<b>Recuperação</b>	Existência de folículos atrésicos (fa).	Existência de túbulos bem definidos com grande quantidade de espermatozóides.

Quanto à caracterização do fígado observou-se ao microscópio as amostras, visualizando diferentes campos aleatórios, até perfazer 100 hepatócitos e procedeu-se à realização de uma escala para avaliar os diferentes estádios de acumulação de gordura – esteatose hepática - em que os animais da amostra se encontravam (quadro 7).

**Quadro 7** - Escala de caracterização do fígado (% esteatose hepática) de corvinas (*Argyrosomus regius*).

<b>Estádio</b>	<b>Caracterização do fígado (esteatose hepática (%))</b>
<b>1</b>	Presença de gordura em menos de 10% da amostra
<b>2</b>	Presença de gordura entre 10 a 70% da amostra
<b>3</b>	Presença de gordura em mais de 70 % da amostra

Por forma a ajudar o estudo histológico do fígado e gónadas também se procedeu ao cálculo do índice hepatossomático (IHP) (Chatzifotis *et al.*, 2010) e o índice gonadossomático (IG) (Gil *et al.*, 2013) – dados (anexo 8).

$$\text{Índice Hepatossomático} = \frac{\text{peso do fígado (g)}}{\text{peso total (g)}} \times 100$$

$$\text{Índice Gonadossomático} = \frac{\text{peso da gónada (g)}}{\text{peso total (g)}} \times 100$$

### **2.3.2 Ovos**

Foram realizadas amostragens às posturas obtidas dos reprodutores de corvina. Determinou-se o peso total, da feção viável e inviável, e avaliou-se o estado de desenvolvimento embrionário através da observação à lupa de uma amostra de 20 ovos.

Retirou-se também uma amostra de 90 ovos / postura (exceto na 2ª postura em que se analisaram 60 ovos), onde se mediu o diâmetro de cada ovo.

Quanto ao estudo das gotas lipídicas presentes nos ovos, em cada postura, o número de ovos amostrados variou entre 30 e 136.

### 2.3.3 Larvas

Durante a permanência das larvas (até ao 22<sup>o</sup> dae) nos tanques do circuito experimental realizaram-se várias amostragens. A recolha das larvas em cada tanque foi sempre aleatória (quantificação das larvas retiradas para amostragem enumerada no quadro 8).

**Quadro 8** - Número de larvas de corvina (*Argyrosomus regius*) retiradas em cada amostragem durante o ensaio experimental.

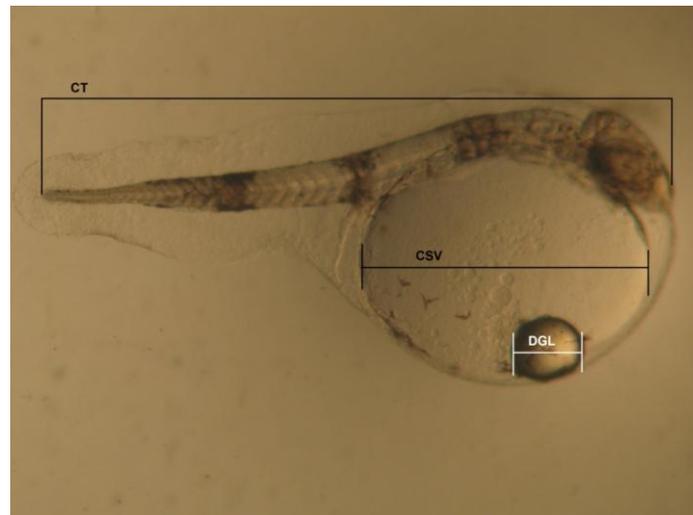
<b>dae</b>	<b>Biometria</b>
<b>0</b>	20 Larvas
<b>1</b>	20 Larvas
<b>2</b>	20 Larvas
<b>3</b>	20 Larvas
<b>4</b>	10 Larvas / tanque
<b>5</b>	10 Larvas / tanque
<b>6</b>	10 Larvas / tanque
<b>7</b>	10 Larvas / tanque
<b>8</b>	10 Larvas / tanque
<b>11</b>	10 Larvas / tanque
<b>14</b>	20 Larvas / tanque
<b>20</b>	20 Larvas / tanque

Relativamente às larvas amostradas, inicialmente fizeram-se medições para determinar o comprimento total - CT, o comprimento do saco vitelino – CSV e o diâmetro da gota lipídica – DGL (Fig. 18).

Aquando das medições também foram retiradas fotos às larvas para posterior estudo do seu desenvolvimento larvar (anatomia interna e externa) – quadro 9.

**Quadro 9** - Caracterização do desenvolvimento larvar da corvina (*Argyrosomus regius*).

dae	Caracterização do desenvolvimento larvar
0	Observação de olhos, intestino e saco vitelino com gota lipídica
2	Abertura de boca
3	Observação da bexiga-natatória
3 - 9	Diminuição do saco vitelino e gota lipídica. Observação do desenvolvimento dos olhos, boca, cabeça, corpo e restantes órgãos.
7	Observação de barbatanas peitorais
12	Início da flexão da ponta da notocorda e início do crescimento da barbatana caudal
20	Formação de barbatanas dorsais, anal e restante corpo



**Figura 18** - Larva de corvina (*Argyrosomus regius*), ampliação (4x - 5x), 9h41 no 0 dae e correspondente legenda – CT: comprimento total; CSV: comprimento do saco vitelino e DGL: diâmetro da gota lipídica.

## 2.4 Análise estatística

O tratamento estatístico das variáveis em estudo compreendeu medidas de estatística descritiva e inferência estatística. O nível de significância para a aceitação ou rejeição da hipótese nula foi de  $(\alpha) \leq 0,05$ .

Utilizou-se os testes t-Student's (quando se comparou 2 amostras em variáveis dependentes quantitativas) e o teste Anova a um facto (quando se comparou mais de 3 amostras em variáveis dependentes quantitativas). Os pressupostos destes testes, tal como a distribuição normal e a homogeneidade de variâncias foram analisados através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Levene's. Nos casos em que estes pressupostos não estavam satisfeitos foram substituídos pelos testes não-paramétricos de Mann-Whitney ou de Kruskal-Wallis. Nesta situação, para facilidade de interpretação, apresentaram-se os valores das médias e não os valores das ordens médias. Nas amostras com dimensão superior a 30 aceitou-se, de acordo com o teorema do limite central, a normalidade de distribuição (Neves, 2008). Utilizou-se também o teste de independência do Qui-quadrado para analisar a relação entre as variáveis qualitativas. O pressuposto do Qui-quadrado de que não deve haver mais do que 20,0% das células com frequências esperadas inferiores a 5 foi analisado. As diferenças foram analisadas com o apoio dos resíduos estandardizados.

As análises estatísticas foram efetuadas nos programas: Microsoft Excel e SPSS (Statistical Package for the Social Sciences - versão 22.0 para Windows).

### 3. Resultados

Os resultados apresentados neste trabalho dividiram-se entre o estado de maturação das corvinas em engorda nos tanques de terra, o acompanhamento das posturas dos reprodutores e o ensaio de densidade larvar.

#### 3.1 Avaliação dos estados de maturação sexual em corvinas dos tanques de terra

Os dados de comprimento e peso das corvinas amostradas dos tanques de terra, com o objetivo de avaliar a sua maturação sexual, estão descritos no quadro 10. Entre abril e junho, o seu peso médio variou de  $129,60 \pm 49,69$  a  $1941,40 \pm 321,88$  g e o comprimento médio de  $23,36 \pm 2,54$  a  $60,90 \pm 2,04$  cm, por se tratar de lotes com diferentes idades.

**Quadro 10** - Apresentação do peso e comprimento (média  $\pm \sigma$ ) das corvinas (*Argyrosomus regius*) amostradas de cada tanque em cada mês.

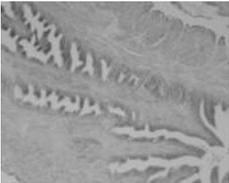
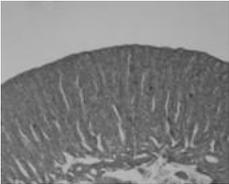
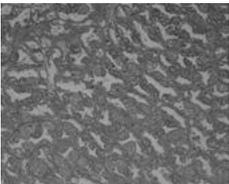
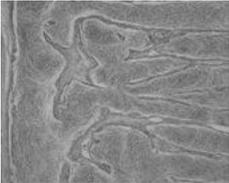
Mês	Tanque	N (nº de indivíduos amostrados)	Comprimento (cm) (média $\pm \sigma$ )	Peso (g) (média $\pm \sigma$ )
Abril		5	$58,20 \pm 4,01$	$1821,00 \pm 318,27$
Maio	TT9	6	$58,87 \pm 3,67$	$1851,67 \pm 429,12$
Junho		5	$60,90 \pm 2,04$	$1941,40 \pm 321,88$
Abril		4	$44,18 \pm 7,87$	$887,00 \pm 478,98$
Maio	TT1	7	$43,70 \pm 6,89$	$815,43 \pm 258,32$
Junho		5	$50,50 \pm 2,18$	$1105,60 \pm 156,56$
Abril		5	$37,28 \pm 3,23$	$421,40 \pm 114,42$
Maio	TT7	5	$39,80 \pm 1,48$	$545,80 \pm 64,62$
Abril	TT 4	5	$23,36 \pm 2,54$	$129,60 \pm 49,69$
Abril	TT 6	8	$23,50 \pm 2,76$	$129,75 \pm 45,38$

O estudo do estado de maturação sexual dos animais dos tanques de terra passou pela observação e caracterização das gónadas dos mesmos. Os resultados obtidos apresentam-se, de acordo com a caracterização dos cortes histológicos, no quadro 11 no caso dos machos e no quadro 12 no caso das fêmeas. Em anexo – 4, 5, 6, 7 – encontram-se tabelas mais completas dos cortes histológicos nos machos e fêmeas em cada mês.

Para a análise histológica das gónadas foram utilizados 43 animais de um total de 55. Nos restantes 12 indivíduos ainda não era visível qualquer gónada desenvolvida (considerados imaturos).

De acordo com o quadro 11, apenas 4 animais se encontram imaturos, pertencendo estes animais aos tanques mais jovens (de aproximadamente 1 e 2 anos). Este estágio – imaturo - caracteriza-se pela presença apenas de espermátocitos primários. No estágio seguinte estavam 13 animais, tendo o Tq 1 os seus animais todos aqui classificados. O estágio – desenvolvimento - caracteriza-se pela existência tanto de espermátocitos primários como secundários. No estágio de maturação é possível observar a distinção de espermatozoides formados, sendo a sua quantidade ainda reduzida. Neste estágio apenas estavam animais provenientes dos tanques 7 e 9, que correspondem a 6 animais. Por fim, somente 2 animais estavam no último estágio, sendo unicamente representados pelo Tq 9 (pertencente aos animais mais velhos). O estágio – maduro- distingue-se pela formação de túbulos com grande quantidade de espermatozoides (anexo 5).

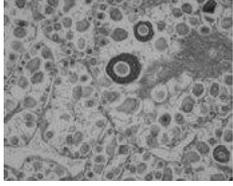
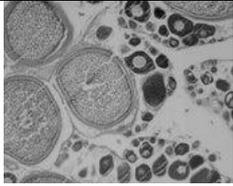
**Quadro 11** - Caracterização dos estádios das gónadas masculinas de corvina (*Argyrosomus regius*) (com imagens dos cortes histológicos - ampliação 10x) e número de animais presente em cada estágio de desenvolvimento (n = 25 animais). Nos anexos 4 e 5 podem-se visualizar as imagens e as características identificadas.

Estádio	Número de animais em cada tanque					Imagem (Nº da amostra)	Caraterísticas
	TT9 (n=6)	TT1 (n=7)	TT6 (n=4)	TT4 (n=1)	TT7 (n=7)		
1-Imaturo	0	0	1	1	2		Existência de espermatócitos primários (ep).
2-Desenvolvimento	2	7	3	0	1		Existência de ep e secundários (es).
3-Maturação	2	0	0	0	4		Existência inicial de espermatozóides (ez).
4-Maduro	2	0	0	0	0		Existência de túbulos bem definidos com grande quantidade de espermatozóides.

Sabemos que da amostra total (n=43) dos animais analisados, 18 eram fêmeas. Através do quadro 12, podemos observar que só os tanques 1, 7 e 9 apresentaram fêmeas, estando estas representadas unicamente em dois estádios. Analisando a informação, observou-se que a maioria ainda estava em desenvolvimento – 17 animais. As fêmeas neste estágio – desenvolvimento – apresentavam oócitos primários (op), oócitos secundários (os) e gotas lipídicas (gl). Relativamente ao estágio de postura, apenas houve a presença de um animal. Este estágio caracteriza-se pela presença de oócitos hidratados (oh). Não se observou nenhum animal nos seguintes estádio: o

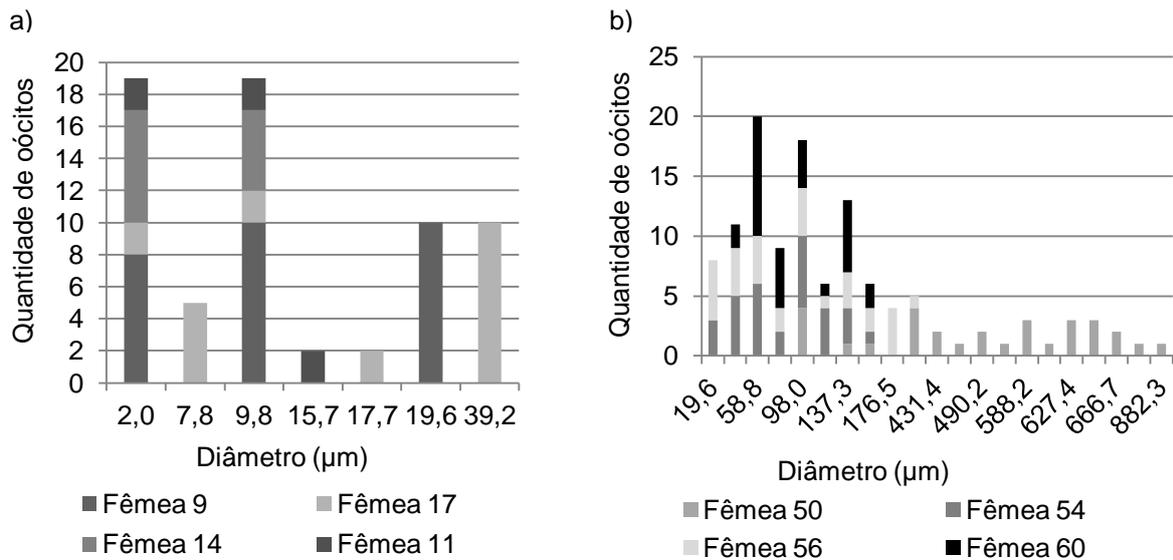
imaturo – caracterizado pela existência apenas de oócitos primários – e o de recuperação – onde predomina a heterogeneidade de oócitos e o aparecimento de folículos atrésicos (anexo 7).

**Quadro 12** - Caracterização dos estádios das gónadas femininas de corvina (*Argyrosomus regius*) (cortes histológicos - ampliação 10x) e número de animais presente em cada estágio de desenvolvimento (n = 18 animais). Nos anexos 6 e 7 podem-se visualizar as imagens e as características identificadas.

Estádio	Número de animais em cada tanque					Imagem (Nº da amostra)	Características
	TT9 (n=10)	TT1 (n=5)	TT6 (n=0)	TT4 (n=0)	TT7 (n=3)		
1-Imaturo	0	0	0	0	0	<sup>1</sup> n.o.	Existência de op, mas não apresentam gotas lipídicas;
2-Desenvolvimento	9	5	0	0	3		Existência de op e os, já apresentam gotas lipídicas.
3-Postura	1	0	0	0	0		Existência de oócitos hidratados com coalescência dos lípidos.
4-Recuperação	0	0	0	0	0	<sup>1</sup> n.o.	Existência de oócitos heterogêneos e aparecimento de folículos atrésicos.

<sup>1</sup>n.o. – não houve observações

Das fêmeas que foram analisadas, só no TT9 (Fig. 19) é que houve a possibilidade de ver e medir ao microscópio os oócitos. Em abril, as fêmeas mostraram que a maior quantidade de oócitos se situava nos 2 µm e 9,8 µm. A fêmea 17 foi a que apresentou o maior tamanho de oócitos (39,2 µm) e também a maior diversidade. Já em maio, as fêmeas 54, 56 e 60 só apresentaram oócitos até aos 196,1 µm, a partir desse tamanho até aos 882,4 µm só a fêmea 50 se enquadrava nesses valores.



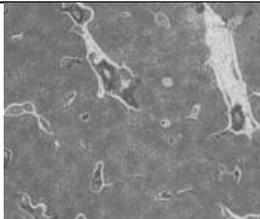
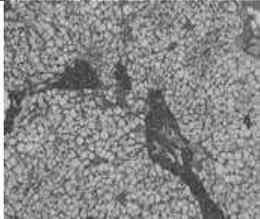
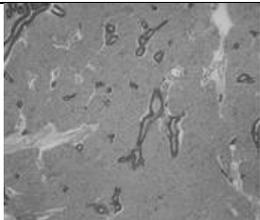
**Figura 19** - a) Distribuição do diâmetro dos oócitos das corvinas (*Argyrosomus regius*) provenientes do TT9, medido a 12-4-12; b) Distribuição do diâmetro dos oócitos das corvinas (*Argyrosomus regius*) provenientes do TT9, medido a 4-5-12.

A partir da observação das lâminas ao microscópio foi feita a caracterização do fígado. Como se pode visualizar a partir do quadro 13, verificou-se que 46 animais estavam no estágio 3. Este é caracterizado pela exibição de gordura em mais de 70% da amostra. Os estádios 2 e 1 têm 5 e 4 animais, respetivamente. O estágio 2 é caracterizado pela presença de 10 a 70% de gordura no fígado e o estágio 1 demonstra ter menos de 10% de gordura.

Aquando da análise por tanques foi observado que o TT9 e o TT4 tinham os seus animais quase todos no estágio 3, à exceção, em cada tanque, de um peixe que estava caracterizado no estágio 2. No TT1 o maior número de peixes (11 animais) encontrava-se no estágio 3, ficando os restantes 5 animais divididos pelo estágio 1 e 2.

O TT7 apresentava 8 animais caracterizados no estágio 3 e os restantes no estágio 1.

**Quadro 13** - Caracterização dos estádios do fígado de corvinas (*Argyrosomus regius*) (com imagens dos cortes histológicos) e número de animais presentes em cada estágio de desenvolvimento (n = 55 animais).

Estádio	Número de animais em cada tanque					Imagem (Nº da amostra)	Esteatose hepática (%)
	TT9 (n=16)	TT1 (n=16)	TT6 (n=8)	TT4 (n=5)	TT7 (n=10)		
1	0	2	0	0	2	 (ampl. 4x)	Até 10% da amostra
2	1	3	0	1	0	 (ampl. 10x)	De 10 a 70% amostra
3	15	11	8	4	8	 (ampl. 4x)	Mais de 70% da amostra

Além das imagens histológicas obtivemos mais dois pontos importantes para a pesquisa de informação: o índice hepatossomático (IHP) (Chatzifotis *et al.*, 2010) e o índice gonadossomático (IG) (Gil *et al.*, 2013) – dados e gráficos (anexo 8).

Observando no anexo 8, o IHP e o IG a cada mês, nas fêmeas do TT1, verificou-se que eram inversamente proporcionais, estando o IG a aumentar e o IHP a diminuir. Já nos machos, de maio para junho, o IHP diminuiu e o IG manteve-se constante.

Nas fêmeas do TT9, tanto o peso médio dos animais como os índices demonstraram um aumento até maio mantendo-se quase inalterados os valores até junho, à exceção do IHP que sofreu uma diminuição. Nos machos aconteceu o oposto, pois iniciaram abril com mais de 2 kg de peso médio e também com valores altos para o IG e IHP, acabando estes valores por diminuir em maio e aumentar ligeiramente em junho.

Quanto aos animais do TT7, o seu IHP aumentou de abril para maio, quer para machos ou fêmeas e os seus valores em maio aproximam-se dos valores dos animais no TT1. O IG também aumentou de abril a maio nas fêmeas e nos machos manteve-se constante, apresentando em maio o mesmo valor que o dos animais do TT1. Contrariamente aos dados do IG e quadro 10, este tanque apresentou mais animais com um maior desenvolvimento das gónadas masculinas que o TT1 (que tinha animais mais velhos e com um maior peso médio).

Por último, da amostragem feita ao TT4 e TT6, só se obtiveram amostras de machos. Os animais destes tanques tinham os valores de IHP mais altos (2,25 e 1,47). Quanto aos valores do IG eram o oposto, muito baixos (0,03 e 0,04).

Comparou-se ainda a média dos valores do comprimento, peso, IHP e IG entre os animais do TT1 e TT9 (quadro14) e entre os animais do TT4 e TT6 (quadro 15).

Como os animais do TT1 e TT9 têm aproximadamente a mesma idade, decidiu-se verificar se existiriam diferenças no seu crescimento e desenvolvimento. Comparando o comprimento ( $t_{30} = -7,268$ ,  $p = 0,001$ ) os animais do TT9 (59,29 cm) são significativamente maiores que os animais do TT1 (45,94 cm). Quanto ao peso ( $t_{30} = -8,169$ ,  $p = 0,001$ ) dos animais do TT9 também tem valores significativamente mais elevados que o dos animais do TT1 (1870,13 g comparativamente a 924 g).

Relativamente ao IHP ( $Z = -4,092$ ,  $p = 0,001$ ), os peixes do TT9 têm valores significativamente mais elevados que os peixes do TT1 (1,30 vs. 0,51); quanto ao IG ( $Z = -3,204$ ,  $p = 0,001$ ), também os animais do TT9 têm os valores mais elevados que os do TT1 (0,35 vs. 0,10).

**Quadro 14** - Valores correspondentes à média, desvio padrão e teste estatístico relativamente ao comprimento (cm), peso (g), IHP e IG das corvinas (*Argyrosomus regius*) provenientes do TT1 e TT9.

	TT 1		TT 9		t
	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	
<b>Comprimento (cm)</b>	45,94	6,54	59,29	3,35	-7,268***
<b>Peso (g)</b>	924	309,79	1870,13	344,47	-8,169***
<b>IHP</b>	0,51	0,48	1,30	0,33	-4,092***
<b>IG</b>	0,10	0,09	0,35	0,25	-3,204***

\*  $p \leq 0,05$  \*\*  $p \leq 0,01$  \*\*\*  $p \leq 0,001$

Nos animais dos tanques de terra 4 e 6, que eram provenientes do mesmo lote, averiguou-se a existência de desigualdades no seu desenvolvimento. Observando o quadro 15 verificou-se que existem diferenças nos valores dessas categorias, mas que não são estatisticamente significativas.

**Quadro 15** - Valores correspondentes à média, desvio padrão e teste estatístico relativamente ao comprimento (cm), peso (g), IHP e IG das corvinas (*Argyrosomus regius*) provenientes do TT4 e TT6.

	TT 4		TT 6		t
	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	
<b>Comprimento (cm)</b>	23,36	2,54	23,50	2,76	- 0,092
<b>Peso (g)</b>	129,60	49,69	129,75	45,38	- 0,006
<b>IHP</b>	1,42	0,56	1,44	0,26	- 0,102
<b>IG</b>	0,04	0,01	0,04	0,03	---

---Nota: dada a reduzida dimensão da amostra ( $n=2$ ) não se fez a devida comparação

### 3.2 Qualidade das posturas dos reprodutores F1

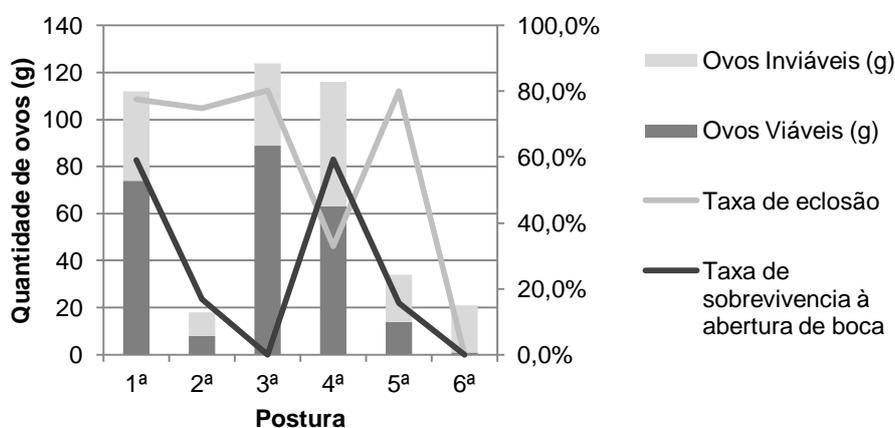
A primeira postura do TR ocorreu a 9/5/12, seguida de mais 5 posturas a 11, 12, 17, 30 de maio e a última a 9 de junho.

A temperatura durante o período das posturas oscilou entre 19,6 – 20,9°C, correspondendo respectivamente à 5ª e 6ª posturas. Nas 6 posturas, os ovos visionados ao microscópio encontravam-se praticamente todos no último estágio de desenvolvimento da embriogênese – em nêurula - como demonstra o quadro 16.

**Quadro 16** - Datas das posturas das corvinas (*Argyrosomus regius*) e respectiva caracterização do estágio dos ovos.

Data	Postura.	Temperatura (°C)	Estádio	% de ovos na amostra
09-05-2012	1ª	20,5	gastrulação neurulação	10 90
11-05-2012	2ª	20,7	neurulação	100
12-05-2012	3ª	20,6	neurulação	100
17-05-2012	4ª	20,1	gastrulação neurulação	10 90
30-05-2012	5ª	20,9	neurulação	100
09-06-2012	6ª	19,6	neurulação	100

Na Fig. 20 pode observar-se a quantidade total de ovos por postura, taxa de eclosão e taxa de sobrevivência à abertura de boca.



**Figura 20** - Gráfico representativo da quantidade de ovos (g) e respectivas taxas (eclosão e sobrevivência) de ovos e larvas de corvina (*Argyrosomus regius*).

Da 1ª postura, a quantidade de ovos obtida foi de 112 g, sendo mais de metade viáveis. Desta postura obteve-se a terceira melhor taxa de eclosão - 77,5% - e a melhor à abertura de boca - 59%.

Na 2ª postura apesar de uma reduzida quantidade de ovos (18 g) verificou-se uma boa taxa de eclosão (74,9%). No entanto, a taxa de sobrevivência à AB foi reduzida, não chegando a 20%.

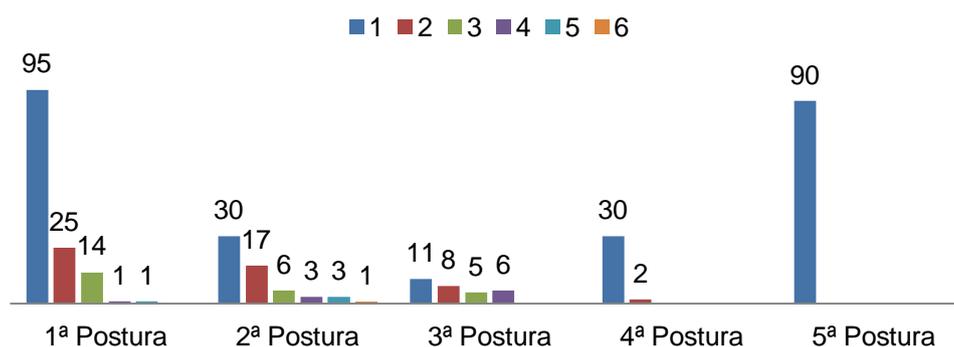
A 3ª postura teve a maior quantidade de ovos produzidos – 124 g - e de ovos viáveis – 89 g. Teve também uma boa taxa de eclosão (80,3%). No entanto, nenhuma das larvas dos tubos de sobrevivência à AB sobreviveu.

Na 4ª postura, da quantidade total de ovos (116 g), quase metade estavam inviáveis (53 g). Apesar disso, esta foi a única postura em que a taxa de sobrevivência à AB foi maior (59%) do que a taxa de eclosão (32,9%).

A 5ª postura teve uma baixa quantidade de ovos produzidos (34 g) mas demonstrou uma ótima taxa de eclosão (80%). A taxa de sobrevivência à AB não atingiu os 20%.

Por fim, a 6ª postura ficou muito aquém das restantes, pois praticamente todos os ovos produzidos estavam inviáveis (20 g). Ainda assim, apesar de ter apresentado apenas 1 g de ovos viáveis, realizaram-se os mesmos procedimentos das posturas anteriores. As larvas desta postura sobreviveram apenas 1 dia.

Após o estudo das taxas de eclosão, abertura de boca e também da quantidade de ovos analisou-se a quantidade de gotas lipídicas por ovo em cada postura (Fig. 21). Verificou-se que na 1ª postura houve maior quantidade de ovos com uma gota lipídica. A 2ª postura foi a única a ter ovos desde uma gota lipídica até seis gotas lipídicas. Na 3ª postura observou-se que a distribuição do número de gotas lipídicas foi quase igual. Na 4ª postura apenas dois ovos apresentaram duas gotas lipídicas, estando os restantes com uma gota lipídica. Quanto à 5ª postura todos os ovos tinham unicamente uma gota lipídica.



**Figura 21** - Número de gotas lipídicas contabilizadas, por ovo de corvina (*Argyrosomus regius*) em cada postura obtida nos reprodutores F1.

Comparando a distribuição do número de gotas lipídicas por postura ( $\chi^2_{20} = 163,567$ ,  $p = 0,001$ ) (quadro 17), verificou-se na categoria de uma gota lipídica que as maiores proporções estavam presentes na 4ª e 5ª postura (93,3% e 100%). Relativamente à 2ª postura notou-se uma proporção

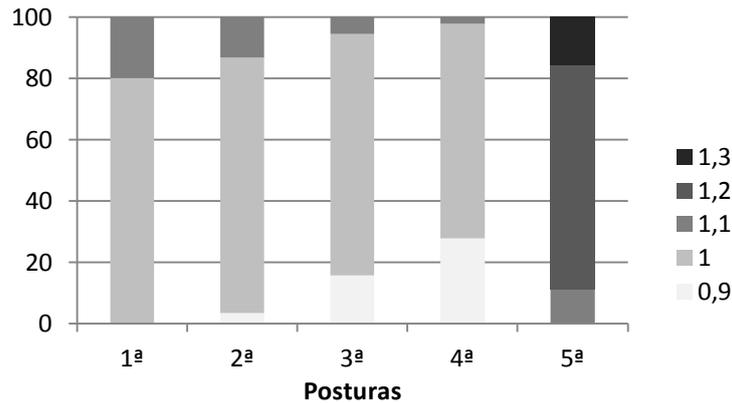
mais elevada na categoria de duas gotas (28,3%), cinco gotas (5%) e seis gotas (1,7%). Na 3ª postura os valores significativamente mais elevados foram na categoria de duas gotas lipídicas (26,7%), três gotas lipídicas (16,7%) e quatro gotas lipídicas (20%).

Do total de ovos contabilizados nas amostragens, verificou-se que a maior percentagem de ovos que continha apenas uma gota lipídica foi de 71,4%, já o mínimo foi de 0,2% para seis gotas lipídicas nos ovos.

**Quadro 17** - Proporção do número de gotas lipídicas nos ovos de corvina (*Argyrosomus regius*) em cada postura obtida nos reprodutores F1.

Posturas	Número de gotas lipídicas						Total
	1	2	3	4	5	6	
1	70.0%	17.8%	10.0%	1.1%	1.1%		100%
2	50.0%	28.3%	10.0%	5.0%	5.0%	1.7%	100%
3	36.6%	26.7%	16.7%	20.0%			100%
4	93.3%	6.7%					100%
5	100.0%						100%
<b>Total</b>	71.4%	15.0%	7.1%	5.2%	1.0%	0.2%	100%

Analisando a Fig. 22 observou-se que a 1ª postura teve maioritariamente ovos com 1mm e apenas 20% correspondente a 1,1mm. A 2ª postura teve 3% dos ovos com 0,9 mm e 13% com 1,1 mm, obtendo a maior frequência em 1 mm. A 3ª postura teve 79% dos seus ovos com 1mm, os restantes ovos da amostra tinham 0,9 e 1,1 mm. Quanto à 4ª postura 70 % dos ovos estavam com 1 mm e 28% tinham 0,09 mm, quanto ao valor residual que falta pertence ao tamanho de 1,1 mm. Por último, a 5ª postura teve os maiores diâmetros de ovos, tendo como diâmetro mínimo 1,1 mm, enquanto o diâmetro com maior percentagem (73 %) foi de 1,2 mm. Os restantes 16% dos ovos tinham 1,3 mm.



**Figura 22** - Percentagem da distribuição do diâmetro médio dos ovos de corvina (mm) (*Argyrosomus regius*) em cada postura obtida nos reprodutores F1.

De modo a comparar o diâmetro do ovo nas cinco posturas, efetuou-se uma análise estatística verificando se a distribuição seria homogênea para as cinco posturas.

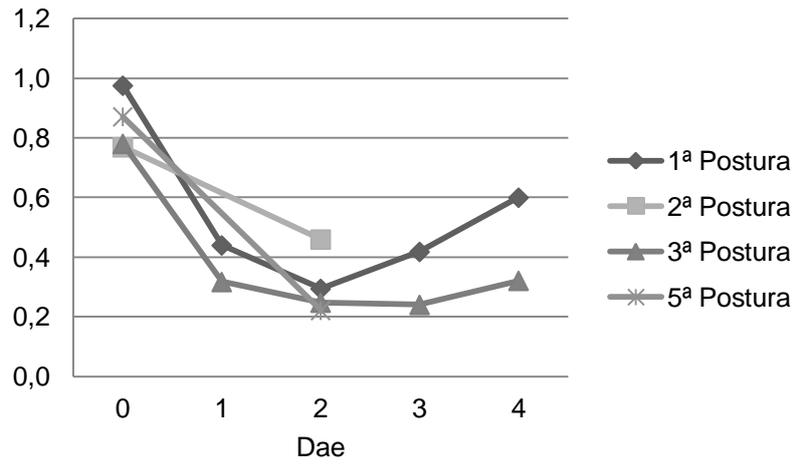
Aquando da comparação do diâmetro nas várias posturas encontrou-se diferenças estatisticamente significativas ( $\chi^2_{KW 4} = 290,745$ ,  $p = 0,001$ ) (quadro 18). Os testes de comparação múltipla indicam que as diferenças são todas significativas com exceção das comparações entre os tanques 1 e 2, 2 e 3 e 3 e 4.

**Quadro 18** - Valor do diâmetro do ovo de corvina (*Argyrosomus regius*) em mm (média e desvio padrão) para cada postura obtida nos reprodutores F1.

Postura 1		Postura 2		Postura 3		Postura 4		Postura 5		$\chi^2_{KW}$
Média	$\sigma$									
1,02	0,04	1,01	0,04	0,99	0,05	0,97	0,05	1,20	0,05	290,745***

\*  $p \leq ,05$  \*\*  $p \leq ,01$  \*\*\*  $p \leq ,001$

Após a eclosão, nos primeiros dias de vida da larva, foi medido o comprimento do saco vitelino para verificar a absorção do mesmo (Fig. 23).



**Figura 23** - Comprimento médio (mm) do saco vitelino das larvas de corvina (*Argyrosomus regius*) em cada postura.

Relativamente à 2ª e 5ª postura só foram contabilizados valores para os dias 0 e 2, apresentando estes um decréscimo ao longo do tempo. Na 1ª e 3ª postura verificou-se uma diminuição do tamanho do saco vitelino até ao 2º dae, mas a partir daí os valores aumentaram.

### 3.3 Ensaio larvar

O ensaio larvar baseou-se em dois tratamentos de densidades (LD = 19 larvas.L<sup>-1</sup> e CTRL = 39 larvas.L<sup>-1</sup>), replicados por 3 tanques (LD1, CTRL1, LD2, CTRL2, LD3, CTRL3).

Nos tanques a temperatura média foi de 20,8 ± 1,05 °C e em média o oxigénio esteve nos 84,2 ± 8,4 % de saturação.

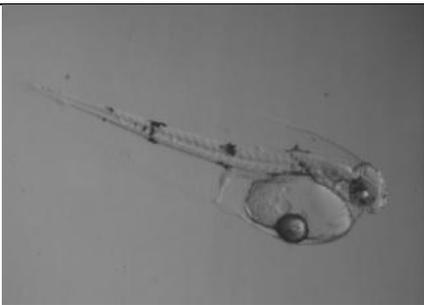
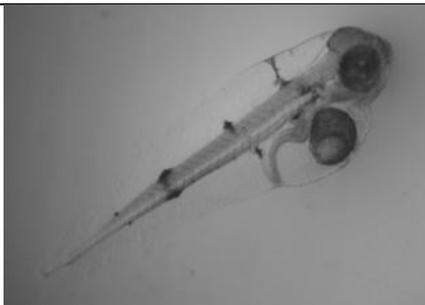
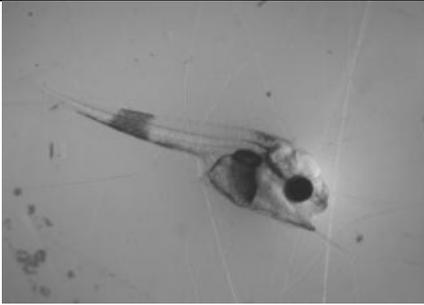
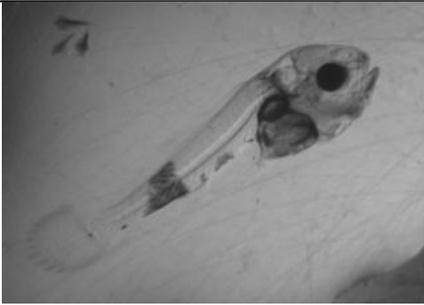
O estudo das larvas de corvina no circuito experimental fez-se através da observação ao microscópio da anatomia interna e externa e análise ao seu desenvolvimento (Fig. 24).

Começando a análise no dia 0 após a eclosão – Fig. 24 – pode observar-se o início do desenvolvimento dos olhos, do intestino e a presença do saco vitelino com a gota lipídica. Ao 2º dae as larvas apresentaram abertura de boca e ao 3º dae visualizou-se a bexiga-natatória.

Em todos os tanques dos dois tratamentos, do 3º ao 9º dae observou-se uma diminuição do saco vitelino e da gota lipídica, enquanto a boca, a cabeça, o corpo e restantes órgãos continuaram o seu desenvolvimento. No 7º dae houve a visualização da existência de barbatanas peitorais já formadas.

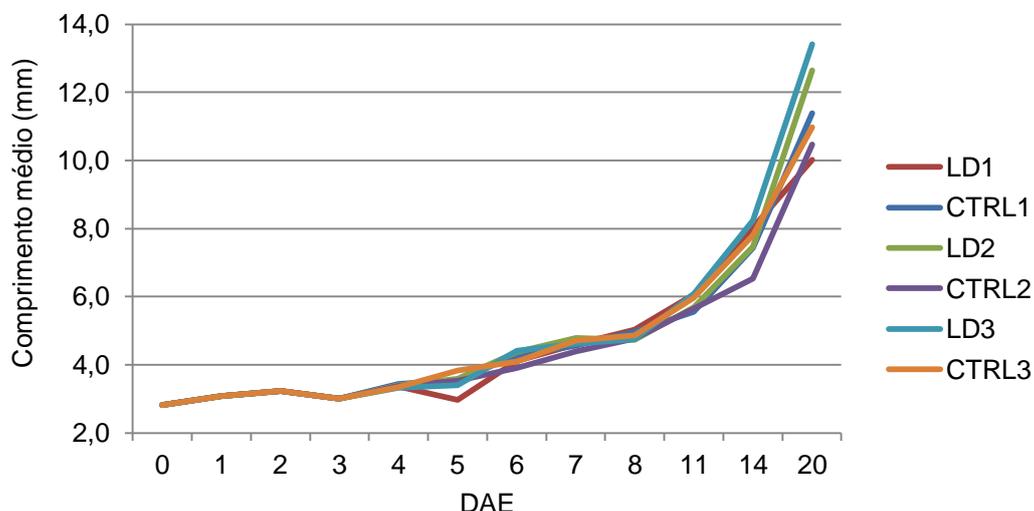
Ao 12º dae começou a notar-se a flexão da ponta da notocorda e o início do crescimento da barbatana caudal.

Por fim, ao 20º dae todos os tanques dos dois tratamentos mostraram ter as barbatanas dorsais, a anal e o restante corpo com um bom desenvolvimento.

dae		dae	
0		3	
	<i>A. Regius 4x-4x</i>		<i>A. Regius 4x-4x</i>
5		7	
	<i>A. Regius 4x-3,2x</i>		<i>A. Regius 4x-1,6x</i>
9		12	
	<i>A. Regius 4x-2x</i>		<i>A. Regius 4x-1,6x</i>
14		20	
	<i>A. Regius 4x-1,6x</i>		<i>A. Regius 4x-1,0x</i>

**Figura 24** - Fotos (com respectiva ampliação) do desenvolvimento da corvina (*Argyrosomus regius*) no circuito larvar.

O desenvolvimento larvar no ensaio também foi estudado através da curva de crescimento das larvas (Fig. 25).



**Figura 25** - Curva de crescimento das larvas de corvina (*Argyrosomus regius*).

Verificou-se à eclosão, que o tamanho das larvas era de 2,8 mm, aumentando para 3,2 mm até ao 2º dae. Ao 3º dae, houve um decréscimo no comprimento das larvas da amostra, em todos os tanques. Até ao 11º dae, o comprimento médio das larvas manteve uma média muito semelhante. Ao 14º dae os tanques LD1, LD3 e CTRL3 apresentaram as médias de comprimento mais altas ( $\approx 8$  mm) contra a média de comprimento mais baixa de 6,5 mm do tanque CTRL2.

Ao 20º dae, as corvinas dos tanques LD2 e LD3 mostraram ter a maior média de comprimento (13,4 e 12,6 mm) e as corvinas dos tanques com a menor média foram o LD1 com 10mm e o CTRL2 com 10,5 mm.

De modo a perceber melhor o efeito da densidade no crescimento das larvas investigou-se a existência de diferenças no comprimento das larvas em cada tratamento.

Referente ao tratamento LD verificou-se pelo quadro 19 que o comprimento médio das larvas entre tanques é diferente, mas essa diferença não foi estatisticamente significativa ( $F_{2; 235,503} = 1,419, p = 0,244$ ).

**Quadro 19** - Média do comprimento (mm) das larvas de cada tanque do tratamento LD.

	LD1		LD2		LD3		F
	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	
Comprimento	7,38	3,46	7,75	3,90	8,25	4,47	1,419

O comprimento médio das larvas nos tanques do tratamento de controlo, também não mostrou ter diferenças estatísticas significativas ( $F_{2, 357} = 1,239$ ,  $p = 0,291$ ) (quadro 20).

**Quadro 20** - Média do comprimento (mm) das larvas de cada tanque do tratamento CTRL.

	CTRL1		CTRL2		CTRL3		F
	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	
Comprimento	7,50	3,66	6,94	3,24	7,62	3,71	1,239

Estudando o quadro 21, podemos dizer que o tratamento LD produziu larvas com um comprimento médio ligeiramente superior às larvas dos tanques de CTRL (7,79 vs. 7,36), embora haja flutuações normais no crescimento das larvas nos dois tratamentos, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas ( $t_{718} = 1,555$ ,  $p = 0,120$ ).

**Quadro 21** - Comprimento médio (mm) das larvas de cada tratamento.

	LD		CTRL		t
	Média	$\sigma$	Média	$\sigma$	
Comprimento	7,79	3,97	7,36	3,55	1,555

## 4. Discussão

### 4.1 Avaliação dos estados de maturação sexual em corvinas dos tanques de terra

De todos os indivíduos amostrados dos tanques do ensaio experimental, o valor mínimo registado no crescimento foi de  $23,36 \pm 2,54$  cm para um peso de  $129,60 \pm 49,69$  g (num animal com aproximadamente 1ano) e o máximo obtido foi de  $60,90 \pm 2,04$  cm para um peso de  $1941,40 \pm 321,88$  g (num animal com aproximadamente 3 anos).

Duncan *et al.* 2013 consideram que os reprodutores a serem usados para criação devem ser formados ou por animais criados em cativeiro que tenham acima de 6 kg ou por animais selvagens que tenham acima de 8kg.

Dos animais amostrados provenientes dos tanques de terra, 12 ainda não apresentavam diferenciação sexual. Dos restantes procedeu-se a uma caracterização das gónadas para averiguar o estado de maturação. No caso dos machos essa caracterização começou pelo estágio imaturo, devido apenas à existência de espermatócitos primários; seguido do estágio desenvolvimento que se caracteriza pela presença de espermatócitos primários e secundários (Grau *et al.*, 2009); o estágio maturação, pelo aparecimento de espermatozoides em pequena quantidade; por último, o estágio maduro, que se caracteriza pela existência em grande quantidade de espermatozoides (Berois *et al.*, 2004; Gil *et al.*, 2012; Grau *et al.*, 2009; Schiavone *et al.*, 2012).

Quanto às fêmeas, os estados de maturação das gónadas podem ser caracterizados por imaturo, pela presença de oócitos primários; em desenvolvimento, pelo aparecimento de oócitos secundários com existência de gotas lipídicas (Morgado e Gonçalves, 2007; Grau *et al.*, 2009); em postura, pela existência de oócitos hidratados e em recuperação pelo aparecimento de oócitos heterogêneos e foliculos atresicos (Morgado e Gonçalves, 2007; Berois *et al.*, 2004; Gil *et al.*, 2013).

A partir da amostragem realizada para o estudo do desenvolvimento das gónadas dos animais, no caso das fêmeas do TT9, em maio, também se conseguiu observar ao microscópio o tamanho dos oócitos. O comprimento dos oócitos pode variar até 1000  $\mu\text{m}$  (Duncan *et al.*, 2012), neste estudo os valores medidos estiveram entre 19,2 a 882,3  $\mu\text{m}$ , valores adequados à altura de reprodução (Duncan *et al.*, 2013). Segundo Cárdenas (2010), quando é necessário realizar a indução da postura nas fêmeas, esta só é feita quando os oócitos têm um tamanho superior a 500  $\mu\text{m}$ . Dos animais da amostragem, apenas a fêmea 50 se enquadrava nesses requisitos.

Relativamente à classificação do estado de maturação das gónadas dos TT, observou-se nos animais do TT9, tanto machos como fêmeas, a presença nos estádios de desenvolvimento e postura / maturação. Comparativamente, os animais do TT1 também deveriam estar nos estádios de maturação / postura e não só no estágio de desenvolvimento, como foi verificado. Esta diferença de desenvolvimento talvez possa ser explicada pela disparidade de peso entre os dois TT (Gil *et al.*, 2013), pois o TT9 tinha os animais maiores que o TT1, ou por algum fator de stress que o tanque tenha sofrido (Schreck *et al.*, 2001; Mileva *et al.*, 2011). No entanto, apesar da diferença inicial de peso, os animais dos dois tanques encontravam-se nos valores médios previstos para a época de

reprodução (Abou Shabana *et al.*, 2012). No estudo de Schiavone *et al.* (2012) os animais com três anos atingiram a maturidade sexual com um peso médio de  $1610 \pm 89$  g e  $35,8 \pm 0,8$  cm de comprimento médio.

A diferença que existe no início da maturidade sexual pode estar relacionada com a densidade de stock, em consequência da maior ou menor mortalidade, com a disponibilidade de alimento e / ou com fatores ambientais. (Gil *et al.*, 2013).

Os animais dos TT4 e o TT6, que tiveram origem no mesmo lote, aproximadamente com 1 ano de idade, já apresentavam diferenciação sexual, tal como os animais do ensaio de Schiavone *et al.*, (2012). Apesar de estarem em diferentes tanques os animais apresentaram valores médios do peso e comprimento muito semelhantes (para o TT4,  $129,60 \pm 49,69$  g e  $23,36 \pm 2,54$  cm; para o TT6,  $129,75 \pm 45,38$  g e  $23,50 \pm 2,76$  cm), podendo verificar-se que os animais mostram o mesmo padrão de crescimento. Quanto ao desenvolvimento das gónadas, os animais do TT4 estavam no estágio 1 enquanto os animais do TT6 já se encontravam no estágio 2.

Os animais do TT7 apresentaram um desenvolvimento de gónadas mais diversificado. Apesar de mais novos, os animais encontravam-se em estádios iguais ou mais avançados que os do TT1 (um ano mais velhos). Enquanto o TT1 tinha os seus animais no estágio 2 em maio, o TT7 já exibia três machos no estágio 3, isto em animais com um peso médio entre 421,40 a 545,80 g com 37,28 a 39,80 cm de comprimento médio. Schiavone *et al.* (2012) referem no seu estudo que animais com dois anos atingiram a maturidade sexual com um peso médio  $920 \pm 75$  g e um comprimento médio de  $26,8 \pm 0,7$  cm; os animais do TT7 também se encontravam perto desses valores (com quase metade do peso médio mas com um comprimento médio superior).

Conciliando as imagens histológicas (quadro 11 e 12) com o IHP e o IG (anexo 8) foi possível analisar se os animais de cada tanque estavam a crescer / engordar ou a depositar as suas energias para o desenvolvimento das gónadas. Isto foi possível pois, no caso das corvinas, a gordura é armazenada primeiro no fígado. (Estévez *et al.*, 2011).

Assim, quanto ao TT1, de acordo com os resultados, tanto para as fêmeas como para os machos, os valores do IG apresentaram diferenças significativas comparativamente ao TT9 (0,35 vs. 0,10) e também foram mais baixos que os valores apresentados por Pastor *et al.* (2013) e Schiavone *et al.* (2012). Os valores do IHP nas fêmeas estavam muito próximos dos valores do TT9, enquanto os machos apresentaram crescimentos inversos. Conjugando estes dados com um aumento de peso e com a informação do quadro 13 (onde se observa que praticamente todos estão no estágio 3), podemos dizer que estes animais utilizaram as suas energias para o crescimento.

O TT9 foi o que apresentou melhores valores do IG ao longo do período de reprodução. Nas fêmeas o pico ocorreu em maio e verificou-se que estes valores eram  $\frac{1}{4}$  dos valores de IG que as fêmeas de três anos mostraram em Schiavone *et al.* (2012). Os valores do IG estão ainda aquém dos valores que Estévez *et al.*, (2011) apresentou no seu estudo, 4,5 (para corvinas em cativeiro com idades entre os 4 e 6 anos). Nos machos o pico deu-se em abril, tal como demonstrou María del Mar Gil *et al.* (2013) nos seus resultados – os machos têm o seu período de maturação entre março e junho, atingindo o pico em abril; para as fêmeas, o seu intervalo de maturação vai de abril a junho, atingindo o pico em maio.

O valor do IHP também foi superior nos animais deste tanque, número bastante diferente dos valores do IHP dos animais do TT1 (1,30 vs. 0,51). Nas fêmeas, considerando que (1) os valores de peso não sofreram alterações, (2) praticamente todas se encontram no estágio 3 (quanto à percentagem de esteatose existente no fígado) e (3) apenas uma estava em postura e as restantes em desenvolvimento, pode afirmar-se que as fêmeas estão a armazenar energia e não a utilizá-la para performance reprodutiva. Nos machos verificou-se uma perda de peso inicial, mas todos eles se encontravam no estágio 3 (com mais de 70% de esteatose hepática). Apesar disso, a caracterização das gónadas mostra que os animais estavam a desenvolver-se bem, podendo dizer-se que estão a despende a energia para a reprodução.

Da amostragem feita ao TT4 e TT6, ambos tinham os valores médios do IHP altos (1,42 e 1,44) e considerando que os valores médios do IG são dos mais baixos (0,04 e 0,04), podemos dizer que as suas energias estão a ser empregues no seu desenvolvimento / crescimento.

No TT7, quer sejam fêmeas ou machos, o IHP e IG aumentaram de abril para maio. Comparando os valores de IG nos machos de dois anos em Schiavone *et al.* (2012), os valores do TT7 ficaram aquém desses e, apesar dos seus animais estarem maioritariamente no estágio 3 (quadro 13), este tanque apresentou mais animais com um maior desenvolvimento das gónadas masculinas que o TT1 (que são mais velhos e com um maior peso médio). Pode concluir-se que, para os animais deste tanque, as suas energias estão a ser gastas na reprodução e não no crescimento.

#### **4.2 Qualidade das posturas dos reprodutores F1**

Dos reprodutores F1 de corvina colocados no tanque de reprodução interiores, obtiveram-se 6 posturas naturais (Soares *et al.*, 2015). Esta evidência vem assim contrariar diversos autores (Duncan *et al.* (2008); Cárdenas, (2010); Mylonas *et al.* (2011) e Papadakis *et al.* (2013)) que dizem que a reprodução espontânea não acontece em cativeiro e que são necessários métodos de indução hormonal. Mylonas *et al.* (2013b) refere no seu estudo que apesar de ter obtido posturas naturais nas fêmeas de corvina, não sabe o motivo para que tal tenha acontecido, dizendo que possivelmente a ocorrência das posturas espontâneas aconteceu devido ao tempo (1 ano) em que se mantiveram os animais (de quatro anos) juntos antes da experiência, tendo assim havido possivelmente uma adaptação às condições de manejo. No entanto, a maturação dos oócitos pode ser esporádica e inconsistente, sendo preferível recorrer ao uso de hormonas para ter a certeza que se obtém desovas.

Através da indução hormonal, quer por implantes quer por injeção, a quantidade de ovos nas corvinas pode chegar a mais de 1 000 000 de ovos (Duncan *et al.*, 2012). Neste trabalho só foram contabilizados os ovos da primeira postura. A quantidade de ovos obtida foi de 34 800 ovos, valor ainda distante dos 55 000 ovos obtidos na primeira postura natural no estudo de Mylonas *et al.* (2013b). Estes valores ficam aquém do potencial de produção de ovos com posturas naturais (390 000 – 940 000 ovos / dia) (Mylonas *et al.*, 2013b).

Quer seja em posturas naturais ou induzidas, a taxa de eclosão é um parâmetro importante na determinação da qualidade dos ovos, podendo determinar o seu valor é possível decidir a

continuidade ou não da incubação dos ovos, permitindo assim poupar custos de produção e tempo nas maternidades (Timóteo, 2007).

Das posturas obtidas, quatro tiveram a sua taxa de eclosão entre os 75 a 80%, valores próximos do obtido no trabalho de Mylonas *et al.* (2013a) (superior a 99%). Duncan *et al.* (2013) considera uma boa avaliação da taxa de eclosão quando esta é maior que 80%. Assim, podemos afirmar que o uso de reprodutores F1 dá origem a ovos de boa qualidade.

Quanto ao número de gotas lipídicas, os resultados deste estudo variaram de um a seis. A 4ª e 5ª postura apresentaram apenas uma gota lipídica. As restantes variaram até seis gotas lipídicas por ovo. Comparativamente com outras espécies, a dourada apresenta apenas uma gota lipídica nos ovos, enquanto o robalo pode ter até seis gotas lipídicas por ovo (Moretti *et al.*, 1999).

Analisando os resultados na Fig. 22, podemos observar que a 5ª postura tem o tamanho dos ovos acima da média, pois de acordo com Suquet *et al.* (2009) e Duncan *et al.* (2012), o diâmetro médio dos ovos é de 900 a 1000 µm, estando as restantes posturas nesses valores. Se seguirmos os resultados de Pousão-Ferreira (2010), para o diâmetro dos ovos – 850 a 880 µm – todas as posturas apresentaram valores acima da média.

Na comparação do diâmetro do ovo entre as várias posturas, verificou-se a existência de diferenças significativas entre elas. Apesar de se saber que o tamanho médio mais baixo foi 0,97 mm ± 0,05 (4ª postura) e o tamanho médio mais alto foi 1,20 mm ± 0,05 (5ª postura) e ainda que existem três comparações que não apresentam valores diferentes (a comparação entre a postura 1 e 2 (1,02 vs. 1,01), a postura 2 e 3 (1,01 vs. 0,99) e a postura 3 e 4 (0,99 vs. 0,97)), não foi possível fazer inferências, pois como as fêmeas não foram marcadas, não foi possível determinar quantas nem quais desovaram. Poderiam assim, justificar-se estas diferenças, pela frequência de posturas de cada fêmea e pela idade ou comprimento destas (Soares *et al.*, 2015).

Nas cinco posturas verificou-se um decréscimo do saco vitelino até 2 dae, o que era esperado, pois as larvas alimentam-se primeiro dessas reservas. Na 1ª e 3ª postura, após uma diminuição inicial do tamanho do saco vitelino, os valores aumentaram. Este aumento pode dever-se a uma má identificação do saco vitelino e conseqüentemente a uma má medição ou, também, devido à variabilidade entre as larvas, apresentando assim diferentes tamanhos do saco vitelino.

Seria de esperar que a 5ª postura, por apresentar os maiores ovos tivesse uma pior absorção do saco vitelino. No entanto, o que se observou na Fig. 23 foi uma diminuição do comprimento do saco vitelino semelhante aos valores das outras posturas.

### **4.3 Ensaio larvar**

Um dos aspetos de maior importância, analisados no decorrer deste trabalho, foi a abertura da boca, que ocorreu ao 2º dae. Comparativamente a outras espécies mais comerciais, como a dourada (4º dae), o robalo (4-5º dae) (Zaiss *et al.*, 2006), a corvina tem a abertura de boca mais cedo. É de destacar que ocorra tão cedo a abertura da boca, pois com um desenvolvimento eficiente do sistema digestivo há um maior e melhor aproveitamento dos nutrientes para o crescimento (Izquierdo *et al.*, 2000).

A formação da bexiga-natatória notou-se logo ao 3º dae., valor que está dentro do desenvolvimento normal (Papadakis *et al.*, 2013). A formação da bexiga-natatória pode começar ao 4º dae e estar completamente formada ao 17º dae (Cárdenas, 2010).

Relativamente ao desenvolvimento morfológico, do 4º dae até ao 12º dae, visualmente não se denotaram diferenças. Verificou-se um desenvolvimento homogéneo entre tratamentos, referente ao desenvolvimento e formação da cabeça, intestinal e bexiga-natatória. Quanto à formação das barbatanas peitorais que se pode iniciar ao 3º dae (Papadakis *et al.*, 2013), apenas foi possível realizar uma observação no ensaio, ao 7º dae no tratamento LD3, não sabendo assim se o seu aparecimento inicial ocorreu perto desse dia.

Ao 12º dae verificou-se a formação da barbatana caudal, em todos os tratamentos, parecendo ficar estar completa ao 14º dae. Na última amostragem (20º dae), os peixes mostraram ter as barbatanas dorsais, caudal e anal completamente desenvolvidas, estando de acordo com Papadakis *et al.*, 2013, que diz que ao 19º dae já estão diferenciadas. O progressivo desenvolvimento das larvas no circuito larvar foi idêntico ao desenvolvimento reportado por Papadakis *et al.* (2013).

As diferenças pontuais, notadas ao longo do desenvolvimento nas larvas do ensaio de densidades, podem ser explicadas pelas variações na qualidade do ovo. Tal como Kjørsvik *et al.*, 2003 verificaram no seu estudo para o pregado, o crescimento das larvas produzidas em condições idênticas pode ser afetado pela qualidade do ovo. Assim, larvas provenientes de ovos maiores são também maiores e apresentam maiores custos energéticos, não fazendo um aproveitamento eficiente do saco vitelino, porque o tamanho do ovo poderá influenciar a absorção do saco vitelino devido aos custos energéticos para a sua manutenção. A taxa de absorção do saco vitelino também poderá ser influenciada por fatores ambientais, tais como, luz, concentração de oxigénio e salinidade (Heming e Buddington, 1988).

Os animais do ensaio larvar apresentam à eclosão um comprimento médio de 2,8 mm, estando no intervalo de 2 a 6 mm como refere Cárdenas (2010).

A partir do 3º dae até ao 20º dae, as larvas apresentaram um comprimento médio inferior às larvas do ensaio de Papadakis *et al.*, 2013, com uma diferença nunca maior que 0,6mm. A exceção ocorreu ao 14º dae onde o comprimento médio das larvas se igualou.

Se analisarmos o crescimento nas espécies onde se baseia o maneio e produção da corvina, então como termo de comparação, temos ao 20º dae o comprimento da larva de robalo (8 mm) e da dourada (7,5mm) e verifica-se que têm praticamente metade do tamanho da corvina (Moretti *et al.*, 1999).

Neste ensaio analisou-se o efeito da densidade sobre o tamanho das larvas.

Verificou-se que tanto a baixa como a alta densidade não tiveram efeitos significativos sobre o crescimento das larvas.

O intervalo ótimo de densidade, segundo Cárdenas (2010), é de 25 a 50 larvas /L. Portanto, e de acordo com Roo *et al.* (2010), seria de esperar que os intervalos de densidade utilizados (19 e 39 larvas /L) surtisses efeitos diferentes no desenvolvimento, pois um cultivo larvar de baixa densidade está associado a rápidos crescimentos (como por exemplo a dourada) e a um melhor peso vivo,

devido à disponibilidade de alimento e espaço para cada larva. No entanto, nas diferentes densidades usadas no ensaio, não se verificou um efeito no crescimento das larvas.

## 5. Conclusão

Este trabalho serviu para investigar a evolução das corvinas nos TT, primeiramente sobre o desenvolvimento sexual e posteriormente sobre a sua adaptação ao cativeiro dos reprodutores F1. Através da análise dos resultados verificou-se uma correlação positiva nestas duas questões, ou seja, os animais nos TT mostraram estar a desenvolver-se bem com boas condições físicas e estando a maioria a desenvolver-se sexualmente. Assim, aquando da adaptação nos tanques dos reprodutores, os animais provaram não só que se adaptam bem a qualquer meio (desde que haja um maneio adequado à espécie), como se conseguem reproduzir naturalmente sem ser necessário injeções ou induções hormonais.

A qualidade dos ovos é determinante para a formação de uma descendência viável, de tal modo que é preciso fornecer as melhores condições possíveis para a sua produção para que se possa obter o melhor produto final para se comercializar. Neste trabalho obtiveram-se boas taxas de eclosão (quatro posturas com valores entre 75 a 80%); o comprimento médio dos ovos nas posturas encontrou-se dentro da média (900 a 1000  $\mu\text{m}$ ) e as gotas lipídicas dos ovos da amostragem variaram de uma a seis (valor superior ao observado em outras espécies).

Após o estudo dos reprodutores F1, houve um ensaio sobre o efeito da densidade no cultivo larvar.

Durante o cultivo larvar não houve diferenças significativas no desenvolvimento das larvas entre tratamentos. No entanto, pode-se sugerir a utilização do tratamento de maior densidade (CTRL=39 larvas.L<sup>-1</sup>) para maior eficiência e otimização de recursos num cultivo larvar.

Quanto a serem uma segunda geração proveniente de reprodutores com desova natural, não se verificaram diferenças nem no crescimento nem no desenvolvimento larvar, para com outras larvas.

Por fim, pode-se afirmar que os reprodutores F1 de corvina são bons reprodutores, produzindo ovos e larvas de boa qualidade.

Embora a corvina seja uma espécie muito promissora para a aquacultura, a adaptação de protocolos de outras espécies pode não se adequar à sua produção sustentada ao longo do tempo. Deste modo serão necessários mais estudos, nomeadamente, relacionados com a mortalidade larvar, o regime alimentar na fase larvar, o maneio, entre outros, que permitam criar um protocolo específico para a espécie de forma a otimizar a sua produção e baixar, de forma eficaz, os custos para o produtor.

## 6. Bibliografia

- Abou Shabana, N., M., Abd El Rahman, S., H., Al Absawy, M., A., Assem, S., S. (2012) Reproductive biology of *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) inhabiting the south eastern Mediterranean Sea, Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Research, vol. 38, pp 147-156
- Amoedo, A. J. V. (2011) Determinação do requisito proteico em juvenis de corvina (*Argyrosomus regius*, Asso, 1801). Dissertação de candidatura ao grau de mestre em ciências do meio aquático e recursos marinhos – especialização em aquacultura e pescas. Universidade do Porto, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.
- Andrades, J. A., Becerra, J., Fernández-Llebrez, P. (1996) Skeletal deformities in larval, juvenile and adult stages of cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). Aquaculture, vol. 141, pp 1-11
- Berois, N., Bolatto, C., Brauer, M., M., Barros, C. (2004) Gametogenesis, histological gonadal cycle and *in vitro* fertilization in the whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*, Desmarest, 1823). Journal of Applied Ichthyology, vol. 20, pp 169 - 175
- Blazer, V. S. (2002) Histopathological assessment of gonadal tissue in wild fishes. Fish physiology and chemistry, vol. 26, pp 85-101
- Bobe, J., Labbé, C. (2010) Egg and sperm quality in fish. General and Comparative Endocrinology, vol 165, pp 535-548
- Bonnet, E., Montfort, J., Esquerre, D., Hugot, K., Fostier, A., Bobe, J. (2007) Effect of photoperiod manipulation on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) egg quality: A genomic study. Aquaculture, vol 268, pp 13-22
- Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P. (1997) Egg quality in fish: what makes a good egg? Reviews in Fish Biology and Fisheries, vol 7, pp 387-416
- Cárdenas, S. (2010) Crianza de la Corvina (*Argyrosomus regius*). Colección cuadernos de acuicultura, nº3. FOESA, CSIC y MARM. Madrid. pp 1-100
- Castaldo, A. C. (2012) Influence of nutritional composition of broodstock diet on meager, *Argyrosomus regius*, reproductive performance and egg quality. Laurea magistrale in Biologia Marina. Università Degli Studi di Padova.
- Chatzifotis, S., Panagiotidou, M., Papaioannou, N., Pavlidis, M., Nengas, I., Mylonas, C.C. (2010) Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. Aquaculture, vol 307, pp 65-70
- Costa, A. M. (2004) Análise histológica de gónadas de carapau (*Trachurus trachurus*, Linnaeus 1758): morfogénese e escala de maturação microscópica. Relatórios científicos e técnicos IPIMAR, nº 16, pp 1-17
- Duncan, N., Estevez, A., Padros, F., Aguilera, C., Montero, F.E., Norambuena, F., Carazo, I., Carbo, R., Mylonas, C.C. (2008) Acclimation to captivity and GnRHa-induced-spawning of meagre (*Argyrosomus regius*). Cybium (International Journal of Ichthyology), vol 32, issue 2, pp 332-333.
- Duncan, N., Estevez, A., Porta, J., Carazo, I., Norambuena, F., Aguilera, C., Gairin, I., Bucci, F., Valles, R., Mylonas, C. C. (2012) Reproductive development, GnRHa-induced spawning and

- egg quality of wild meager (*Argyrosomus regius*) acclimatized to captivity. *Fish Physiology Biochemistry*. DOI 10.1007/s10695-012-9615-3
- Duncan, N., Estévez, A., Fernández-Palacios, H., Gairin, I., Hernández-Cruz, C. M., Roo, J., Schuchardt, D., Vallés, R. (2013) Aquaculture production of meager (*Argyrosomus regius*): hatchery techniques, ongrowing and market. *Advances in aquaculture hatchery technology*, Woodhead publishing limited, pp 519-541
- Estévez, A., Treviño, L., Kotzamanis, Y., Karacostas, I., Tort, L., Gisbert, E. (2011) Effects of different levels of plant proteins on the ongrowing of meager (*Argyrosomus regius*) juveniles at low temperatures. *Aquaculture Nutrition*, vol 17, pp 579
- FAO (2005) Cultured Aquatic Species Information Programme. *Argyrosomus regius*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Ed: Stipa, P., Angelini, M. (eds). FAO Fisheries and Aquaculture Department [online]. Rome, Acedido a 12/06/12, disponível em: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus\\_regius/en](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Argyrosomus_regius/en)
- FAO (2012) The State of world fisheries and aquaculture. Food and agriculture organization of the United Nation. Fao fisheries and aquaculture department Rome.
- FAO (2014) The State of world fisheries and aquaculture – Opportunities and challenges. Food and agriculture organization of the United Nations. Rome
- Fernandes, J. P. C. L. (2013) Optimizing the dietary protein:lipid ration on meager (*Argyrosomus regius*): effects on growth and lipid deposition. Dissertação de mestrado em Ecologia Marinha. Universidade de Lisboa – Faculdade de Ciências, Departamento de biologia animal.
- Fuentes, A., Fernández-Segovia, I., Serra, J. A., Barat, J. M. (2010) Comparison of wild and cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) quality. *Food Chemistry*, vol 119, pp 1514-1518
- Gil, M. M., Grau, A., Basilone, G., Ferreri, R., Palmer, M. (2013) Reproductive strategy and fecundity of meager *Argyrosomus regius* Asso, 1801 (Pisces: Sciaenidae): implications for restocking programs. *Scientia Marina*, vol 77 (1), pp 105-118
- Gisbert, E., Ortiz-Delgado, J. B., Saraquete, C. (2008) Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. *Histology and Histopathology*, vol 23, pp 1525-1539
- González-Quirós, R., del Árbol, J., García-Pacheco, M. M., Silva-García, A., J., Naranjo, J., M., Morales-Nin, B. (2011) Life-history of the meagre *Argyrosomus regius* in the Gulf of Cádiz (SW Iberian Peninsula). *Fisheries Research*, vol 109, pp 140-149
- Grau, A., Linde, M., Grau, A. M. (2009) Reproductive biology of the vulnerable species *Sciaena umbra* Linnaeus, 1758 (Pisces: Sciaenidae). *Scientia Marina*, vol 73, pp 67-81
- Grier, H. J., Uribe, M. C., Patiño, R. (2009) An improved description of the development of oögonia into eggs. Ed: Wyanski, D. M. e Brown-Peterson, N. J. (eds) *Proceedings of the 4<sup>th</sup> Workshop on gonadal histology of fishes*. Espanha. pp 1-278
- Heming, T. A., Buddington, R. K. (1988) Yolk absorption in embryonic and larval fishes. Ed: Hoar, W.S. e Randall, D.J. (eds), *Fish Physiology*, vol XI, Part A; Academic press, Inc. California.
- Izquierdo, M. S., Socorro, J., Arantzamendi, L., Hernández-Cruz, C. M. (2000) Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, vol 22, pp 97-107

- Jalabert, B. (2005) Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish compared to mammals. *Reproduction Nutrition Development*, vol 45, pp 261-279
- Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A., Holmefjord, I. (1990) Egg Quality in Fishes. Em: Blaxter, J. H. S. e Southward, A. J. (eds) *Advances in Marine Biology*, vol 26. Academic press limited, Londres. pp 71
- Kjørsvik, E, Hoehne-Reitan, K., Reitan, K. I. (2003) Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, vol 227, pp 9-20
- Lagardère J. P., Mariani A. (2006) Spawning sounds in meagre *Argyrosomus regius* recorded in the Gironde estuary, France. *Journal of Fish Biology*, vol 69, issue 6, pp 1-13
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J., Cerdà, J. (2010) Oogenesis in teleosts: How fish eggs are formed. *General comparative endocrinology*, vol 165, pp 367-389
- Maneewongsa, S. e Tattanon, T. (1982) Nature of eggs, larvae and juveniles of the seabass. FAO Corporate Document Repository; Report of training course on seabass spawning and larval rearing songkhla. Thailand.
- Martínez-Llorens, S., Espert, J., Moya, J., Cerdá, M. J., Tomás-Vidal, A. (2011) Growth and nutrient efficiency of meagre (*Argyrosomus regius*, Asso1801) fed extruded diets with different protein and lipids levels. *International journal of fisheries and aquaculture*, vol 3, nº 10, pp 195-203
- Martoja, R., Martoja, M. (1967) Initiation aux techniques de l'histologie animal. Masson et Cie. París, pp 345
- Mileva, V. R., Gilmour, K. M., Balshine, S. (2011) Effects of maternal stress on egg characteristics in a cooperatively breeding fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, vol 158, pp 22-29
- Monfort, M. C. (2010), Present Market Situation and Prospects of Meagre (*Argyrosomus regius*), as an emerging species in Mediterranean aquaculture. *Studies and reviews, General fisheries commission for the Mediterranean*.
- Morales-Nin, B., Geffen, A.J., Pérez-Mayol, S., Palmer, M., González-Quirós, R., Grau, A. (2012) Seasonal and ontogenic migrations of meagre (*Argyrosomus regius*) determined by otolith geochemical signatures, *Fisheries research*.
- Moreira, H.L.M., Vargas, L., Ribeiro, R.P., Zimmermann, S. (2001) *Fundamentos da Moderna Aquicultura*. 1ª edição, editora Ulbra.
- Moretti, A., Fernandez-Criado, M. P., Cittolin, G., Guidastri, R. (1999) *Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream*. Rome, FAO. vol1, pp 1-194
- Morgado, C., Gonçalves, P. (2007) *Maturação de pescada (Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758): Exercício de calibração e proposta de uma nova escala de maturação. *Relatórios científicos e técnicos*. IPIMAR, série digital (<http://ipimar-iniap.ipimar.pt>), vol 39
- Mylonas, C., C., Mitrizakis, N., Sigelaki, L., Papadakis, M. (2011) Spawning kinetics of individual female meager (*Argyrosomus regius*) after treatment with GnRH $\alpha$  implants. *Indian Journal of Science and Technology, Proceedings of 9<sup>th</sup> International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, India*. vol 4, nº S8

- Mylonas, C. C., Mitrizakis, N., Castaldo, C. A., Cerviño, C. P., Papadaki, M., Sigelaki, I. (2013a) Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity II. Hormonal induction of spawning and monitoring of spawning kinetics, egg production and egg quality. *Aquaculture*, vol 414 – 415, pp 318-327
- Mylonas, C. C., Mitrizakis, N., Papadaki, M., Sigelaki, I. (2013b) Reproduction of hatchery-produced meagre *Argyrosomus regius* in captivity I. Description of the annual reproductive cycle. *Aquaculture*, vol 414–415, pp 309-317
- Naylor, R. L., Goldburg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, J., Troell, M. (2000) Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, vol 405, pp 1017-1024
- Neves, M. (2008) Introdução à Estatística e à Probabilidade. Departamento de matemática – ISA. Série digital (<http://arca.isa.ulisboa.pt/dm/estat/estat/seb3.pdf>), nº 3, pp 109-148
- Okusawa, K. (2002) Puberty in teleost. *Fish physiology and biochemistry*, vol 26, pp 31-41
- Paiva, C. P. R. (2010) Vias metabólicas e funcionalidade de espermatozóides humanos. Dissertação de mestrado em biologia celular e molecular. Universidade de Coimbra – Faculdade de Ciências e Tecnologia.
- Papadakis, I., E., Kentouri, M., Divanach, P., Mylonas, C., C. (2013) Ontogeny of the digestive system of meagre *Argyrosomus regius* reared in a mesocosm, and quantitative changes of lipids in the liver from hatching to juvenile. *Aquaculture*, vol 388-391, pp 76-88
- Pastor, E., Rodríguez-Rúa, A., Grau, A., Jiménez, M.T., Durán, J., Gil, M.M., Cárdenas, C. (2013) Hormonal spawning induction and larval rearing of meager, *Argyrosomus regius* (Pisces: Sciaenidae). *Bolletí de la Societat D'Història Natural de Les Balears*, vol 56, pp 111-127
- Patriarca, J., Ribeiro, A. T., Silva, H., Vieira, H., Teixeira, B., Rodrigues, M. J., Gil, M., Pousão-Ferreira, P., Mendes, R. (2015) Efeito da armazenagem em refrigerado na qualidade de fiambre de corvina com fibras dietéticas embalado em vácuo e em atmosfera modificada. Relatório Científico e Técnico do IPMA. Série digital (<http://ipma.pt>), nº 7, pp 1-45
- Patiño, R., Sullivan, C. V., (2002) Ovarian follicle growth, maturation, and ovulation in teleost fish. *Fish Physiology and Biochemistry*, vol.26, pp 50-70
- Pousão-Ferreira, P., Castanho, S., Ribeiro, L., Coutinho, J., Bandarra, N. M., Mendes, A. C. (1999) Larval rearing protocols for meagre *Argyrosomus regius*. Larvi 2013, 6<sup>TH</sup> fish and shellfish larviculture symposium, september 2 -5, 2013, Ghent University, Belgium, pp 378-381
- Pousão-Ferreira, P., (2010) Live feeds. Fish larvae, training school.
- Quéméner, L. (2002) Le maigre commun (*Argyrosomus regius*). Biologie, pêche, marché et potential aquacole. Editions Ifremer, Plouzané, France.
- Quéméner, L., Suquet, M., Mero, D., Gaignon, J-L. (2002) Selection method of new candidates for finfish aquaculture: the case of French Atlantic, the Channel and the North Sea coast. *Aquatic living resources*, vol 15, pp 293-302
- Ribeiro, B. C. (2001) Desenvolvimento de produtos reestruturados de corvina (*Argyrosomus regius*) de aquacultura. Dissertação para obtenção do grau de mestre em engenharia alimentar – qualidade e segurança alimentar. Instituto Superior de Agronomia.

- Roo, J., Hernández-Cruz, C.M., Borrero, C., Schuchardt, D., Fernández-Palacios, H. (2010) Effect of larval density and feeding sequence on meagre (*Argyrosomus regius*; Asso, 1801) larval rearing. *Aquaculture*, vol 302, pp 82-88
- Schiavone, R., Zilli, L., Storelli, C., Vilella, S. (2012) Changes in hormonal profile, gonads and sperm quality of *Argyrosomus regius* (Pisces, Scianidae) during the first sexual differentiation and maturation. *Theriogenology*, vol 77, pp 888-898
- Schreck, C. B., Contreras-Sanchez, W., Fitzpatrick, M. S. (2001) Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. *Aquaculture*, vol 197, pp 3-24
- Schulz, R. W., Miura, T. (2002) Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish physiology and biochemistry*, vol 26, pp 43-56
- Shields, R. J., Brown, N. P., Bromage, N. R. (1997) Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. *Aquaculture*, vol 155, pp 1-12
- Soares, F.; Ribeiro, L.; Gamboa, M.; Duarte, S.; Mendes, A. C.; Castanho, S.; Barata, M.; Lourenço, T. M.; Pousão-Ferreira, P. (2015) Comparative analysis on natural spawning of F1 meagre, *Argyrosomus regius*, with wild broodstock spawns in Portugal. *Fish Physiology Biochemistry*. DOI 10.1007/s10695-015-0103-4
- Suquet, M., Divanach, P., Hussenot, J., Coves, D., Fauvel, C. (2009) Pisciculture marine de "nouvelles espèces" d'élevage pour l'Europe. Synthèse domestication et transferts d'espèces. *Cahiers Agricoles*, vol 18, n° 2 – 3, pp 148-156.
- Timóteo, V. M. F. A. (2007) Reprodução de pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) em cativeiro – Avaliação da qualidade das posturas. Dissertação para obtenção do grau de mestre em ciências do mar e recursos marinhos, especialidade de aquacultura. Universidade do Porto – Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar.
- Tuuli, C. D., Mitcheson, Y. S., Liu, M. (2011) Reproductive biology of the greyfin croaker *Pennahia anea* in the northern South China Sea. *Ichthyological Research*, vol 58, issue 4, pp 302-309
- Vallés, R., Estévez, A. (2013) Light conditions for larval rearing of meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*, vol 376-379, pp 15-19
- Westernhagen, H. (1988) Sublethal effects of pollutants on fish eggs and larvae. Em: Hoar, W.S. e Randall, D.J. (eds), *Fish Physiology*, vol XI, Part A; Academic press, Inc. California.
- Wiegand, M. D. (1996) Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. Review in *Fish Biology and Fisheries*, vol 6, pp 259-286
- Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen J. and Tortonese E. (1984/1986). "Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean". UNESCO, aceso a 25/06/2013, disponível em: [http://species-identification.org/species.php?species\\_group=fnam&menuentry=soorten&id=1861&tab=classificatie](http://species-identification.org/species.php?species_group=fnam&menuentry=soorten&id=1861&tab=classificatie)
- Zaiss, M. M., Papadakis, I. E., Maingot, E., Divanach, P., Mylonas, C. C. (2006) Ontogeny of the digestive tract in shi drum (*Umbrina cirrosa* L.) reared using the mesocosm larval rearing system. *Aquaculture*, vol 260, pp 357-368

## 7. Anexos

**Anexo 1-** Quadro com valores da pesca mundial e produção de aquacultura e quantificação da sua utilização (valores para 2012 são estimativas) (FAO, 2014)

	2007	2008	2009	2010	2011	2012
	<i>(Million tonnes)</i>					
<b>PRODUCTION</b>						
<b>Capture</b>						
Inland	10.1	10.3	10.5	11.3	11.1	11.6
Marine	80.7	79.9	79.6	77.8	82.6	79.7
<b>Total capture</b>	<b>90.8</b>	<b>90.1</b>	<b>90.1</b>	<b>89.1</b>	<b>93.7</b>	<b>91.3</b>
<b>Aquaculture</b>						
Inland	29.9	32.4	34.3	36.8	38.7	41.9
Marine	20.0	20.5	21.4	22.3	23.3	24.7
<b>Total aquaculture</b>	<b>49.9</b>	<b>52.9</b>	<b>55.7</b>	<b>59.0</b>	<b>62.0</b>	<b>66.6</b>
<b>TOTAL WORLD FISHERIES</b>	<b>140.7</b>	<b>143.1</b>	<b>145.8</b>	<b>148.1</b>	<b>155.7</b>	<b>158.0</b>
<b>UTILIZATION<sup>1</sup></b>						
Human consumption	117.3	120.9	123.7	128.2	131.2	136.2
Non-food uses	23.4	22.2	22.1	19.9	24.5	21.7
Population ( <i>billions</i> )	6.7	6.8	6.8	6.9	7.0	7.1
Per capita food fish supply ( <i>kg</i> )	17.6	17.9	18.1	18.5	18.7	19.2

## Anexo 2 - Procedimentos histológicos

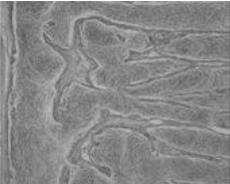
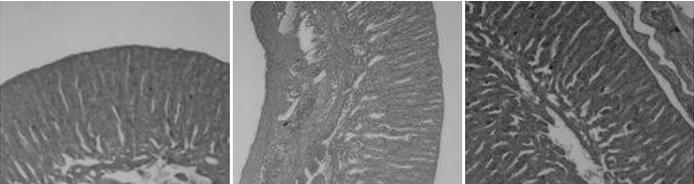
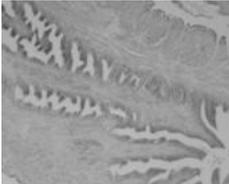
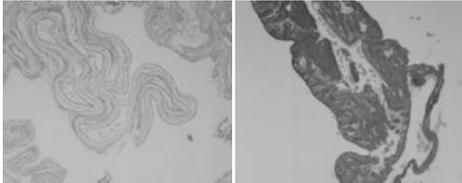
### Processamento de material (Processador TP1020 Leica)

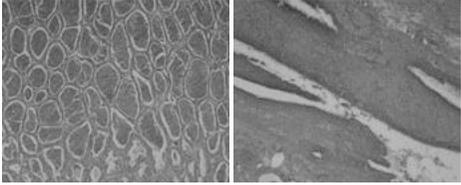
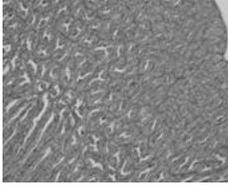
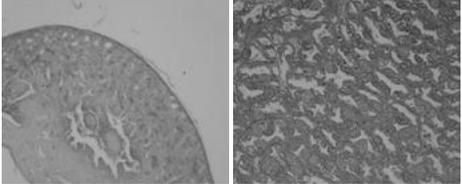
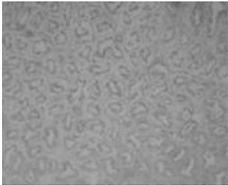
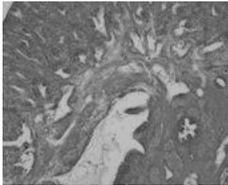
1. Formol	1 h
2. Álcool 70°	1 h
3. Álcool 95°	1 h
4. Álcool 95°	1 h
5. Álcool Absoluto 100°	2 h
6. Álcool Absoluto 100°	2 h
7. Álcool Absoluto 100°	2 h
8. Xilol	2 h
9. Xilol	2 h
10. Xilol	2 h
11. Parafina	2 h
12. Parafina	2 h

### Protocolo de coloração H&E

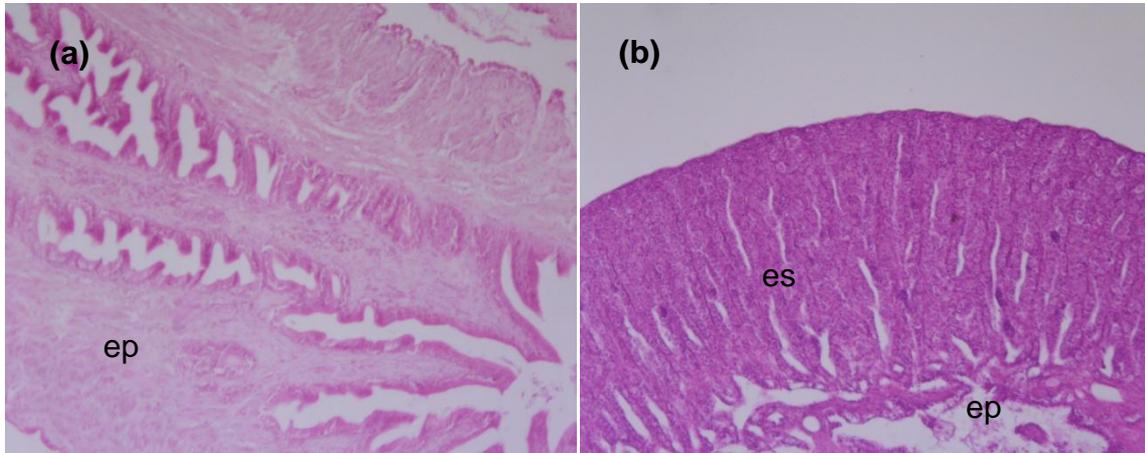
1. Desparafinar	15 min
2. Hidratar	5 min
3. Hematoxilina de Gill 2	30 seg
4. Lavar em água destilada	
5. Lavar em água corrente morna	2 min
6. Álcool 70°	1 sec
7. Eosina-Floxina	1sec
8. Desidratar (Álcool 95° - Álcool 100° - Álcool 100° - Xilol – Xilol)	
9. Clarificar e montar em Entellan®	

**Anexo 4** – Quadros representativos dos cortes histológicos das gónadas dos machos de corvina (*Argyrosomus regius*), provenientes dos diferentes tanques, em Abril, Maio e Junho, onde a ampliação usada foi de 10x.

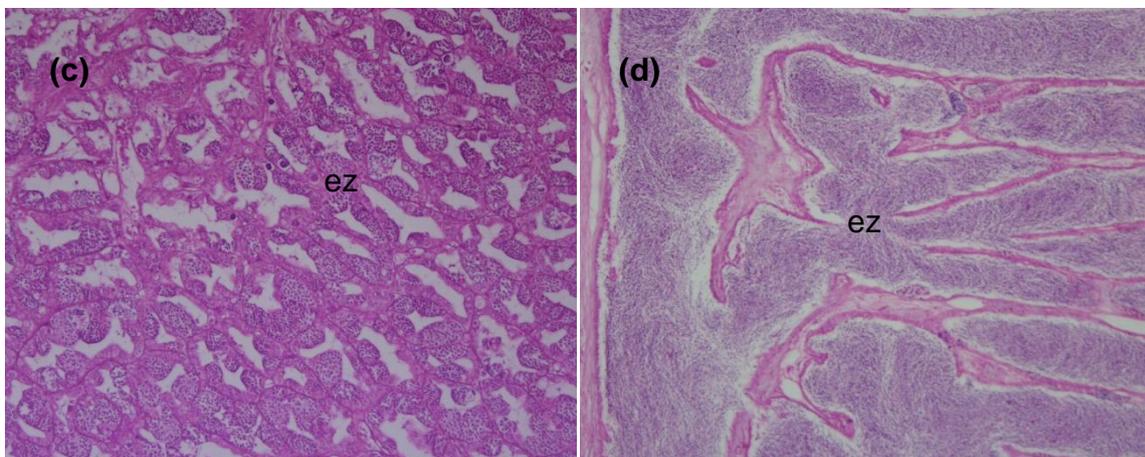
Data	TT9	TT7	TT4	TT6
12-04-12				
18-04-12				
23-04-12				

Data	TT9	TT1	TT7
04-05-12			
22-05-12			
13-06-12			

**Anexo 5** – Imagens dos cortes histológicos das gónadas masculinas de corvina (*Argyrosomus regius*).

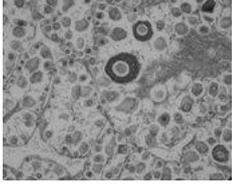
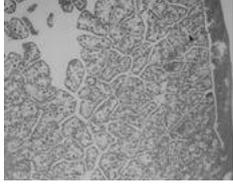
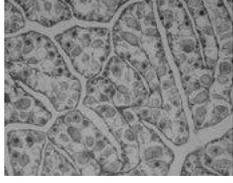
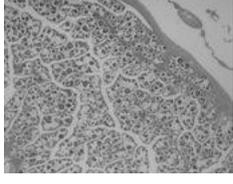
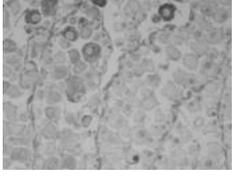
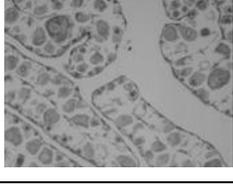


a) Corte histológico, da gónada de corvina (*Argyrosomus regius*), no estágio 1 (imaturo), do macho nº31 (ampliação 10x), visualização de espermatócitos primários (ep); b) Corte histológico, da gónada de corvina (*Argyrosomus regius*), no estágio 2 (desenvolvimento), do macho nº25, (ampliação 10x), visualização de ep, e espermatócitos secundários (es).



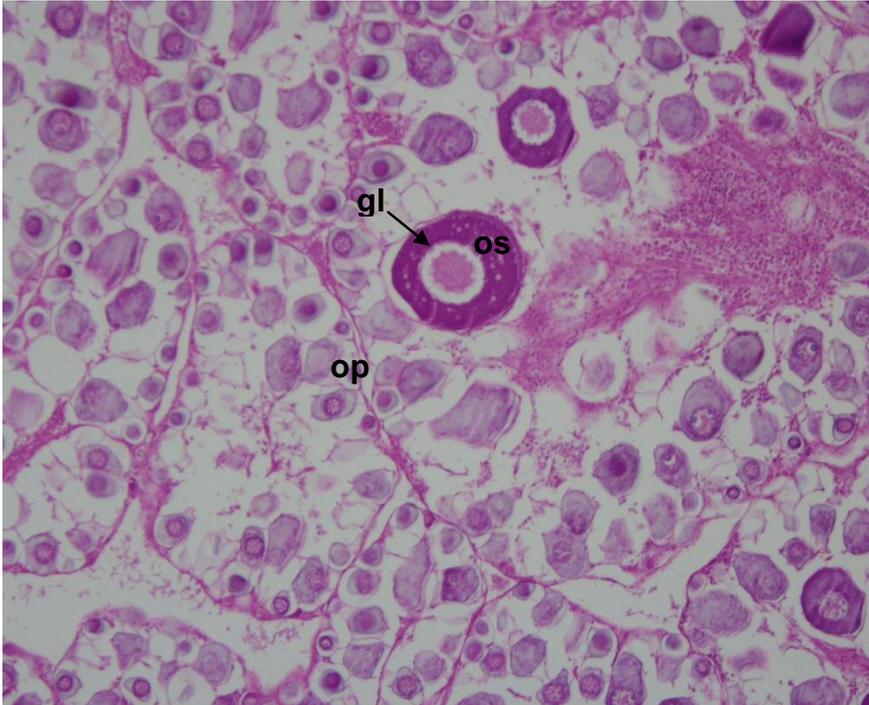
c) Corte histológico, da gónada de corvina (*Argyrosomus regius*), no estágio 3 (maturação), do macho nº82 (ampliação 10x), visualização de espermatozoides (ez); d) Corte histológico, da gónada de corvina (*Argyrosomus regius*), no estágio 4 (maduro), do macho nº10, (ampliação 10x), visualização de túbulos definidos com grande quantidade de ez.

**Anexo 6** - Quadro representativo dos cortes histológicos das gónadas femininas de corvina (*Argyrosomus regius*), provenientes de diferentes tanques de terra, em Abril, Maio e Junho, onde a ampliação usada foi de 10x.

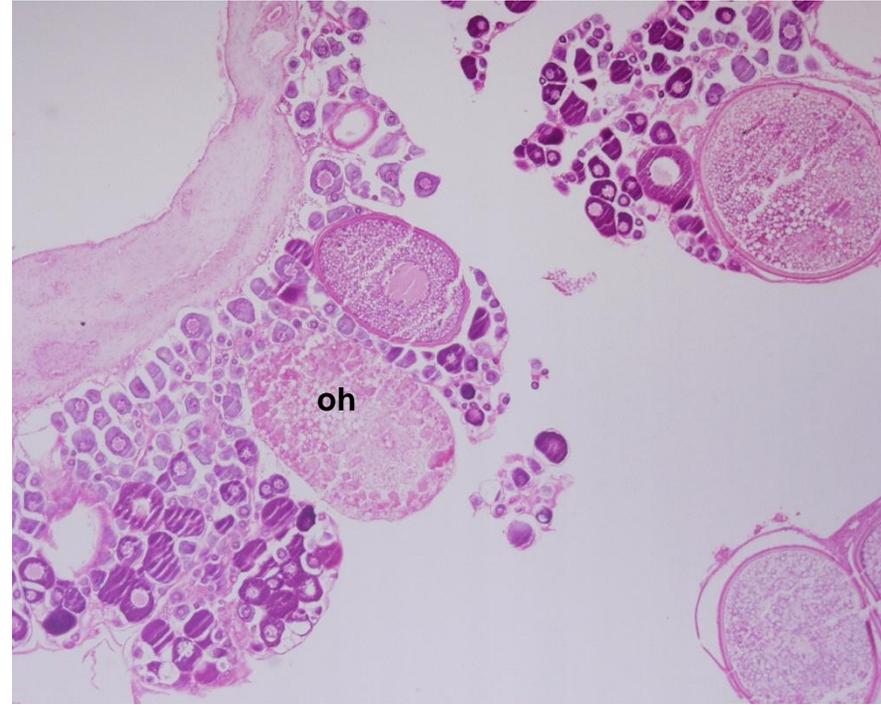
Data	TT9	TT7	TT1
12-04-12			
04-05-12			
22-05-12			
13-06-12			
04-06-12			

**Anexo 7** – Imagens dos cortes histológicos das gónadas femininas de corvina (*Argyrosomus regius*).

**(a)**



**(b)**



a) Corte histológico, da gónada de corvina (*Argyrosomus regius*), no estágio 2 (desenvolvimento), da fêmea nº11 (ampliação 10x), visualização de oócitos primários (op) e oócitos secundários (es) com gotas lipídicas (gl); b) Corte histológico, da gónada de corvina (*Argyrosomus regius*), no estágio 3 (maturação), da fêmea nº50, (ampliação 4x), visualização de oócitos hidratados (oh).

**Anexo 8** – Quadros com os dados do ensaio dos reprodutores e gráficos dos valores do IHP e IG:

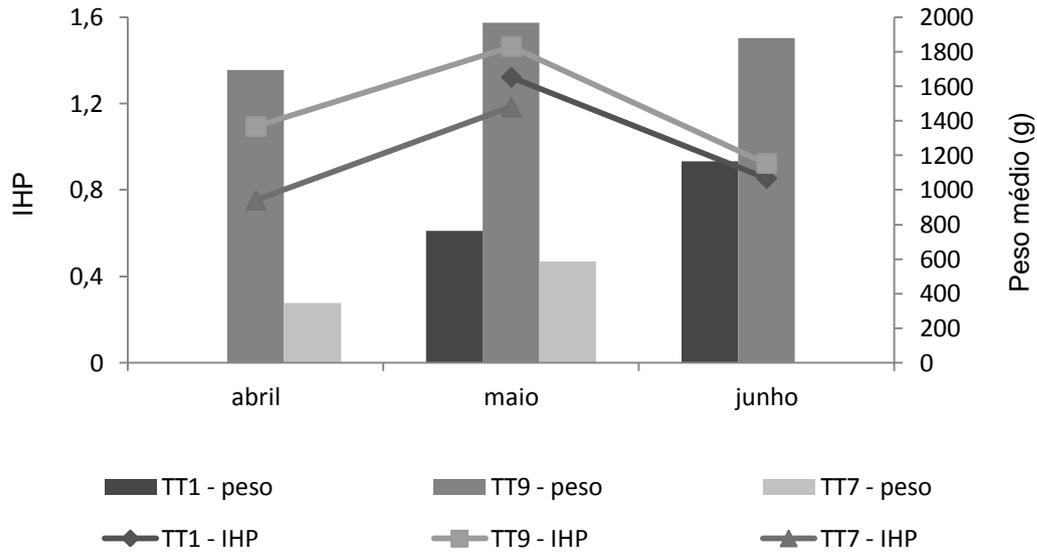
Data	TT	Nº amostra - género	Comprimento (cm)	Peso (g)	Fígado (g)	Gónadas (g)	Índice	
							Hepatosomático (%)	Gonadosomático (%)
18-04-2012	4	31 - M	27,6	211	4,751	0,059	2,25	0,03
18-04-2012	4	32	21,2	89	0,868	-	0,98	-
18-04-2012	4	33	22	99	1,546	-	1,56	-
18-04-2012	4	34	22,3	107	1,585	-	1,48	-
18-04-2012	4	35	23,7	142	1,160		0,82	-
18-04-2012	6	38	25,6	118	1,613	-	1,37	-
18-04-2012	6	39 -M	24,8	136	1,280	0,069	0,94	0,05
18-04-2012	6	40	21,9	100	1,669	-	1,67	-
18-04-2012	6	42	21,5	110	1,417	-	1,29	-
18-04-2012	6	43	20,6	83	1,092	-	1,32	-
23-04-2012	6	44 - M	24,4	166	2,860	0,114	1,72	0,07
23-04-2012	6	45 - M	20,8	102	1,597	0,017	1,57	0,02
23-04-2012	6	47 - M	28,4	223	3,671	0,016	1,65	0,05

Data	TT	Nº amostra - género	Comprimento (cm)	Peso (g)	Fígado (g)	Gónadas (g)	Índice	
							Hepatosomático (%)	Gonadosomático (%)
12-04-2012	7	20 – F	36,8	353	2,135	0,168	0,60	0,05
12-04-2012	7	22 – F	35	340	3,069	0,228	0,90	0,07
12-04-2012	7	25 – M	41,5	554	4,22	0,136	0,76	0,02
13-04-2012	7	27 – M	33,6	538	6,860	0,156	1,28	0,05
13-04-2012	7	28 – M	39,5	322	3,460	0,248	1,07	0,05
22-05-2012	7	76 – M	41,3	576	7,906	0,115	1,37	0,02
22-05-2012	7	78 – M	38,8	446	4,298	0,113	0,96	0,03
23-05-2012	7	80 – M	41,5	604	8,802	0,381	1,46	0,06
22-05-2012	7	82 – M	39	517	6,208	0,486	1,20	0,09
22-05-2012	7	84 – F	38,4	586	6,944	0,597	1,18	0,10

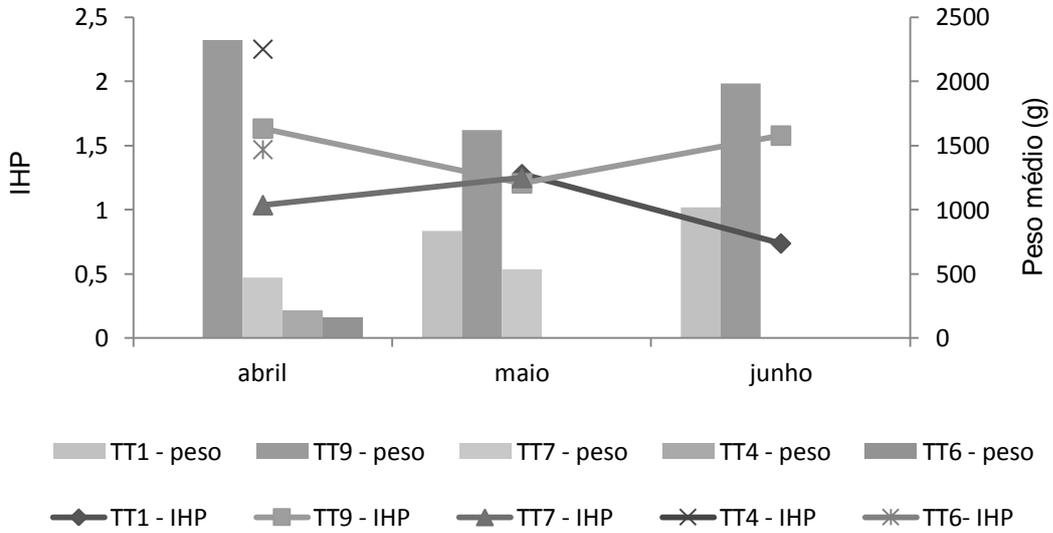
Data	TT	Nº amostra - género	Comprimento (cm)	Peso (g)	Fígado (g)	Gónadas (g)	Índice	
							Hepatosomático (%)	Gonadosomático (%)
09-04-2012	1	1	38,7	600	5,660		0,94	-
09-04-2012	1	2	45	838	8,820		1,05	-
09-04-2012	1	3	38	532	7,700		1,45	-
09-04-2012	1	5	55	1578	17,05		1,08	-
04-05-2012	1	62 – F	36	458	6,263	0,866	1,37	0,19
04-05-2012	1	64 E 65 – F	51	1067	13,656	1,228	1,28	0,12
04-05-2012	1	66 – M	47,2	950	16,038	0,422	1,69	0,05
04-05-2012	1	68 – M	40,3	772	8,931	0,264	1,16	0,03
04-05-2012	1	70 – M	45,4	810	13,889	0,251	1,71	0,03
16-05-2012	1	72 – M	51,5	1133	11,115	0,291	0,98	0,03
16-05-2012	1	74 – M	34,5	518	4,411	0,18	0,85	0,03
14-06-2012	1	91 – M	50	1063	7,198	0,319	0,68	0,03
14-06-2012	1	92 – F	49	1031	7,123	2,192	0,69	0,21
14-06-2012	1	93 – M	48,5	970	7,751	0,316	0,80	0,03
14-06-2012	1	94 – F	51	1090	9,297	2,276	0,85	0,21
14-06-2012	1	95 - F	54	1374	14,026	3,118	1,02	0,23

Data	TT	Nº amostra - género	Comprimento (cm)	Peso (g)	Fígado (g)	Gónadas (g)	Índice	Índice
							Hepatosomático (%)	Gonadosomático (%)
12-04-2012	9	9 – F	57,5	1638	17,94	8,17	1,10	0,50
12-04-2012	9	10 - M	65	2322	37,92	12,56	1,63	0,54
12-04-2012	9	11 - F	58	1894	21,86	6,4	1,15	0,34
12-04-2012	9	14 – F	55,5	1765	21,94	3,73	1,24	0,21
12-04-2012	9	17 – F	55	1486	13,15	5,166	0,88	0,35
04-05-2012	9	50 – F	64,7	2550	47,551	25,504	1,86	1,00
04-05-2012	9	52 - M	56,6	1696	22,33	1,326	1,32	0,08
04-05-2012	9	54 – F	60,2	2025	31,161	7,167	1,54	0,35
04-05-2012	9	56 – F	60,5	1965	28,439	7,535	1,45	0,38
04-05-2012	9	58 - M	56,7	1542	16,911	0,927	1,10	0,06
04-05-2012	9	60 – F	54,5	1332	13,485	7,05	1,01	0,53
13-06-2012	9	86 – F	62,5	2212	26,796	10,896	1,21	0,49
13-06-2012	9	87 - M	59	1633	23,476	1,686	1,44	0,10
13-06-2012	9	88 - F	58,5	1552	9,886	8,212	0,64	0,53
13-06-2012	9	89 – M	61,5	2195	32,217	1,717	1,47	0,08
13-06-2012	9	90 - M	63	2115	38,714	2,13	1,83	0,10

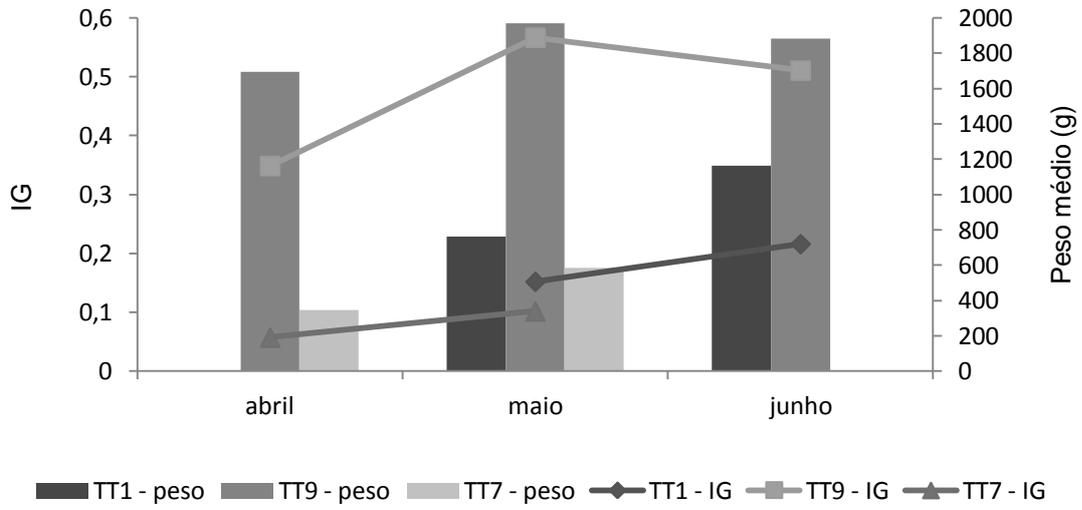
IHP e peso médio (g) - Fêmeas



IHP e o peso médio (g) - Machos



**IG e peso médio (g) - Fêmeas**



**IG e o peso médio (g) - Machos**

