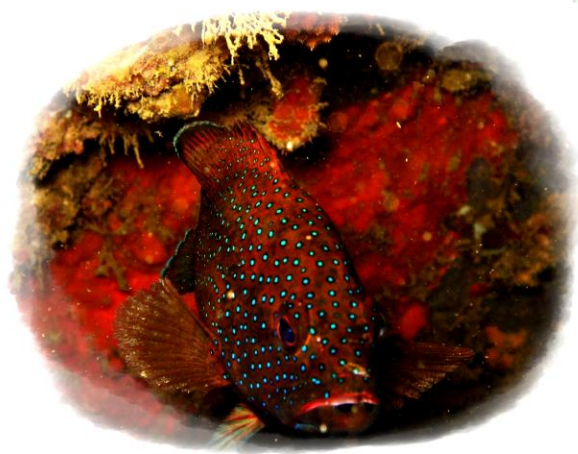


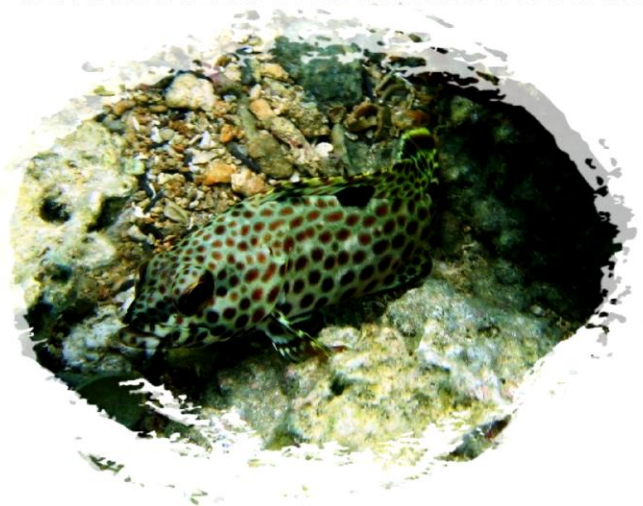
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE TECNOLOGIA E GEOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA**



**REPRODUÇÃO, IDADE E
CRESCIMENTO DE
TRÊS ESPÉCIES DA FAMÍLIA
EPINEPHELIDAE NO LITORAL
DE PERNAMBUCO**



**DOCTORANDA: SIMONE MARQUES
ORIENTADORA: DRA. BEATRICE PADOVANI FERREIRA**



Recife – Pernambuco

2011

Simone Marques

**Reprodução, Idade e Crescimento de três espécies
da família Epinephelidae no litoral de Pernambuco**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para a obtenção do título de Doutora em Oceanografia.

Orientadora: Profa. Dra. Beatrice Padovani
Ferreira

Recife – Pernambuco

2011

Catálogo na fonte
Bibliotecária Rosineide Mesquita Gonçalves Luz / CRB4-1361 (BCTG)

M357r Marques, Simone.

Reprodução, idade crescimento de três espécies da Família Epinephelidae no litoral de Pernambuco / Simone Marques. - Recife: O Autor, 2011.
iv, 156f., il., figs., gráfs.; tabs.

Orientador: Profa. Dra. Beatrice Padovani Ferreira.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG. Programa de Pós-Graduação em Oceanografia, 2011.

Inclui Referências Bibliográficas.

5. Oceanografia. 2. Peixes Recifais. 3. *Teleostei Epinephelidae*. 4. *Alphesthes afer*. 5. *Cephalopholis fulva*. 6. *Epinephelus adscensionis*. 7. Pernambuco, Brasil
1. Ferreira, Beatrice Padovani (Orientadora). II. Título.

551.46 CDD (22. Ed.)

UFPE/BCTG-170/2011

Simone Marques

**Reprodução, Idade e Crescimento de três espécies
da família Epinephelidae no litoral de Pernambuco**

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Beatrice Padovani Ferreira
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Agnaldo Silva Martins
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Jorge Eduardo Lins Oliveira
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Profa. Dra. Flávia Lucena Frédou
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Ralf Schwamborn
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Simone Ferreira Teixeira
Universidade de Pernambuco

Esta tese eu dedico:

*aos meus avós maternos e paternos (in memoriam) por sempre estarem presentes em
todas as dimensões,*

*aos meus pais Sérgio & Helena Marques que me fizeram acreditar todos os dias na
força da vida para enfrentar os desafios,*

ao meu irmão Serginho pela simplicidade e pureza de ver a vida.

“A coisa mais perfeita que podemos experimentar é o misterioso.

É a fonte de toda arte e de toda ciência verdadeira.”

Albert Einstein

Agradecimentos

- ❖ A Deus pela energia universal que rege nossas vidas e todos os seres iluminados pelos ensinamentos.
- ❖ A orientadora Bea pela amizade construída, por todos os ensinamentos, experiências e confiança compartilhados, os quais foram muito especiais para a realização desse trabalho.
- ❖ Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa concedida durante todo o projeto.
- ❖ Ao Instituto Recifes Costeiros (IRCOS) por todo apoio logístico e toda equipe: ao Inho, Seu Ruben, Nino, Alberto, Manuel, Lua e Dudu pelos auxílios de campo e laboratório. Em especial à estagiária Inesinha pelo apoio nos trabalhos de laboratório e na manutenção dos aquários.
- ❖ Aos pescadores e peixarias de Itamaracá em especial ao Seu Neco, Manuela e Seu Toxa (in memoriam) por toda ajuda durante os desembarques.
- ❖ Ao Milson por toda ajuda nas amostragens dos desembarques de Recife.
- ❖ Aos pescadores e feirantes de São José de Coroa Grande em especial à Dona Letícia e Seu Paulino.
- ❖ Ao IBAMA pela licença concedida na captura dos recrutas juvenis nos recifes rasos da APA Costa dos Corais em Tamandaré.
- ❖ Ao pescador Seu Neuro pela ajuda de campo nas amostragens de Tamandaré.
- ❖ Ao Centro de Pesquisas e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste (CEPENE) pela infra-estrutura de laboratórios oferecidos para a realização desse trabalho.
- ❖ Ao Departamento de Pós-Graduação em Oceanografia da UFPE e todos os professores, em especial ao coordenador Manuel Flores e a secretária Myrna por todo apoio e dedicação.
- ❖ Ao Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho pelo suporte do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e em especial à técnica Carmelita Lima por toda assistência e carinho na preparação das lâminas histológicas.
- ❖ Ao Prof. Dr. Marcelo dos Santos Guerra Filho pelo uso do fotomicroscópio com ultravioleta no Laboratório de Citogenética da UFPE.

- ❖ À Dra. Yvone Sadovy de Mitcheson da Universidade de Hong Kong – China, pela revisão do capítulo 2 com valiosos comentários e sugestões.
- ❖ Ao Dr. Howard Choat da Universidade James Cook – Austrália, por compartilhar informações das populações de *Epinephelus adscensionis* estudadas nas Ilhas de Ascensão e Santa Helena.
- ❖ A toda minha família mineira ‘Marques’ e ‘Salomão’, em especial ao meu sobrinho Matheus que nasceu junto com o projeto dessa tese, e aos 4 anos de idade, 4 anos de tese, ele sempre me liga e diz: “Oi Linda, tô indo pra Tamandaré amanhã!”
- ❖ As minhas amigas e irmãs de coração: Andressa pelo apoio e terapias à distância com TIM 25; Soninha pelo acolhimento pernambucano e ensinamentos musicais para a vida; Ângela pelas eternas discussões filosóficas e força profissional; Laís pela parceria a qualquer hora para conversar e tomar aquela cerveja gelada com direito ao ‘backing vocal’.
- ❖ Aos meus pais adotivos de Tamandaré Dona Ednea e Seu Elson por todo acolhimento e carinho.
- ❖ Aos meus amigos espirituais em especial ao guia espiritual Geshe Kelsang Gyatso pelos ensinamentos meditativos à distância, e à Santa Josefina Bakhita pela ajuda em indicar onde se encontravam várias coisas perdidas durante os trabalhos de campo e laboratório, principalmente os otólitos perdidos.
- ❖ Aos amigos terapêuticos Luigi e Luzinete pelas conversas e ensinamentos humanos especiais.
- ❖ Às amizades cultivadas em Tamandaré com pessoas nativas e estranhas que um simples sorriso ou brilho no olhar valeram vários dias.
- ❖ Ao meu dog Samba que desde o primeiro dia que o recebi me mostrou que a felicidade se encontra nas pequenas coisas.
- ❖ Em especial ao meu amor Alexandre, o galego alemão que surgiu em minha vida e me completa todos os dias!

Índice	Página
Abstract	2
Resumo Geral	4
Capítulo 1. Introdução Geral	6
Capítulo 2. Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, <i>Alphestes afer</i> , (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico	17
Capítulo 3. Idade e crescimento de uma pequena garoupa, o sapé <i>Alphestes afer</i> (Teleostei: Epinephelidae)	47
Capítulo 4. Reprodução, idade e crescimento da piraúna <i>Cephalopholis fulva</i> (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco	78
Capítulo 5. Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato <i>Epinephelus adscensionis</i> (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco, Brasil	113
Capítulo 6. Considerações Finais	146

Abstract

Reproduction, age and growth of three species of family Epinephelidae in Pernambuco coast

The family Epinephelidae is composed of several species of reef fishes exploited by fishing in tropical and subtropical regions. Due to late maturation and slow growth observed for many epinephelids, stocks of species of this family are quite vulnerable to overfishing and their populations have been strongly affected. In Brazil, large epinephelids are a target group for fisheries occurring from North to South. Smaller sized species of epinephelids are not main targets, however are also largely exploited by multispecies fisheries both commercial and artisanal. In northeast Brazil, the mutton hamlet *Alphestes afer*, the coney *Cephalopholis fulva* and the rock hind *Epinephelus adscensionis* are the small species of groupers most captured by artisanal fishing. Recently, with expansion of trap fisheries for fishes in this region, these species have become the target of this multispecies fishing, with catches exported to Europe and United States. This research aimed to study the population structure of these three species of epinephelids from samples collected in artisanal fisheries landings on the coast of Pernambuco. To assess the population structure of these species the reproductive cycle; the age and growth and the mortality of each species were studied.

Most groupers present sexual development as monandric protogynous hermaphrodite, where males develop from mature females. Some species of epinephelids have also showed a pattern of diandric protogynous hermaphroditism in which males can be originated from immature females (primary males) or from mature females (secondary males). Here, the study of reproductive biology of three species indicated two patterns of sexual development, in which *C. fulva* and *E. adscensionis* developed as monandric protogynous hermaphrodite and *A. afer* developed as diandric protogynous hermaphrodite. The period of spawning of these species occurred between the end of winter (July-August) and beginning of spring (September-October). Spawning individuals with high gonadosomatic index were captured within the fishing area.

Males of *C. fulva* and *E. adscensionis* (*C. fulva* - 26 cm TL/8 years; *E. adscensionis* - 32 cm TL/8 years) were larger and older than females (*C. fulva* - 22;24 cm TL/6 years; *E.*

adscensionis - 26 cm TL/6 years). In populations of *A. afer* males (18 cm LT/6 years) were smaller and younger than females (22 cm TL/8 years).

The size of first maturation (L_{50}) observed in females of the three species were equal for *A. afer* and *C. fulva* (L_{50} =18 cm TL) while the L_{50} observed for *E. adscensionis* was 20 cm TL. The sizes class observed in mature females in phase of sex change (transitional individuals) were different between the species: *A. afer* – 18-21.7 cm TL; *C. fulva* – 20-27.1 cm TL; *E. adscensionis* – 26-33 cm TL. Only *A. afer* presented one immature female (16 cm TL) with spermatocripts, indicating that the smaller males of the population were primary males.

The von Bertalanffy growth model applied to the three species indicated fast initial growth in the first years of life. The population structure of *C. fulva* and *E. adscensionis* indicated that the oldest individuals of population were males while the population of *A. afer* the oldest individuals were females. The species that presented highest longevity was *E. adscensionis* reaching 15 years, followed by *A. afer* with 13 years and *C. fulva* with 11 years. Chemical labelling of otoliths with tetracycline for the three species was a successful method to validate the age, indicating that one growth ring was formed each year in otoliths.

The total mortality rate (Z) obtained for the three species of *A. afer* ($Z=0.58$. year⁻¹) and *C. fulva* ($Z=0.46$. year⁻¹) were higher than the mortality rate obtained for *E. adscensionis* ($Z=0.28$. year⁻¹) suggesting that their populations are may be under less fishing pressure in the coast of Pernambuco.

The results obtained in this thesis were fundamental to understand the patterns of sexual development and the age structure in the populations of *A. afer*, *C. fulva* and *E. adscensionis* exploited by fishing in the coast of Pernambuco. These informations can be applied in management and conservation plans for the coast of northeast of Brazil.

KEYWORDS: reproduction; protogynous hermaphrodite; Epinephelidae; age; otolith; sex change

Resumo Geral

Reprodução, Idade e Crescimento de três espécies da família Epinephelidae no litoral de Pernambuco

A família Epinephelidae é constituída de várias espécies de peixes recifais exploradas pela pesca nas regiões tropicais e subtropicais. Os estoques das espécies dessa família são bastante vulneráveis à sobrepesca e conseqüentemente suas estruturas populacionais têm sido fortemente afetadas devido à maturação tardia e crescimento lento da maioria de suas espécies. No Brasil, os grandes epinephelídeos são os principais grupos-alvo da pesca de Norte a Sul. Já espécies de epinephelídeos de médio a pequeno porte não são alvo principais das pescarias, sendo no entanto amplamente exploradas tanto como fauna acompanhante de várias modalidades da pesca comercial, como em pescarias artesanais multiespecíficas. No nordeste brasileiro as espécies sapé *Alphestes afer*, piraúna *Cephalopholis fulva* e gato *Epinephelus adscensionis* são as pequenas garoupas mais capturadas pela pesca artesanal. Recentemente, com a expansão das pescarias com covos para peixes na região, estas espécies passaram a figurar entre espécies alvo desta pescaria mista, destinadas à exportação para a Europa e EUA. Este trabalho teve como objetivo principal estudar a estrutura populacional dessas três espécies de epinephelídeos a partir de amostras coletadas em desembarques da pesca artesanal no litoral de Pernambuco. Para avaliar a estrutura populacional dessas espécies foram investigados os ciclos reprodutivos, a idade, o crescimento e a mortalidade de cada espécie.

A maioria das garoupas apresenta desenvolvimento sexual como hermafroditas protogínicas monândricas, em que os machos são provenientes de fêmeas sexualmente maduras. No entanto, algumas espécies de epinephelídeos têm apresentado um padrão de hermafroditismo protogínico diândrico no qual os machos podem ser originados de fêmeas imaturas (machos primários) ou de fêmeas maduras (machos secundários). O estudo da biologia reprodutiva das três espécies de epinephelídeos indicou dois padrões de desenvolvimento sexual, com *C. fulva* e *E. adscensionis* desenvolvendo-se predominantemente como hermafroditas protogínicas monândricas e *A. afer* desenvolvendo-se predominantemente como hermafrodita protogínica diândrica. O período de desova das três espécies ocorreu entre o final do inverno (julho-agosto) e início da primavera (setembro-outubro) nos dois anos de estudo. Indivíduos desovantes, com altos índices gonadossomáticos, foram capturados em áreas de pesca.

Nas populações de *C. fulva* e *E. adscensionis* os machos (*C. fulva* - 26 cm CT/8 anos; *E. adscensionis* - 32 cm CT/8 anos) foram maiores e mais velhos que as fêmeas (*C. fulva* - 22;24 cm CT/6 anos; *E. adscensionis* - 26 cm CT/6 anos). Nas populações de *A. afer* os machos (18 cm CT/6 anos) apresentaram tamanho e idade menores que as fêmeas (22 cm CT/8 anos). Os tamanhos de primeira maturação (L_{50}) observados nas fêmeas das três espécies foram iguais para *A. afer* e *C. fulva* (L_{50} =18 cm CT) enquanto que o L_{50} observado para *E. adscensionis* foi maior com 20 cm CT. As classes de tamanho observadas em fêmeas maduras na fase de mudança de sexo (indivíduos transicionais) foram diferentes entre as espécies: *A. afer* - 18-21.7 cm CT; *C. fulva* - 20-27.1 cm CT; *E. adscensionis* - 26-33 cm CT. Somente *A. afer* apresentou uma fêmea imatura (16 cm CT) apresentando criptas espermáticas indicando que os machos menores da população foram primários.

O modelo de crescimento de von Bertalanffy aplicado para as três espécies indicou crescimento inicial rápido nos primeiros anos de vida e posteriormente lento. A estrutura populacional de *C. fulva* e *E. adscensionis* indicou que os indivíduos mais velhos da população foram machos enquanto que a população de *A. afer* os indivíduos mais velhos foram fêmeas. A espécie que apresentou maior longevidade foi *E. adscensionis* atingindo 15 anos seguido de *A. afer* com 13 anos e *C. fulva* com 11 anos. A marcação química com tetraciclina das três espécies para validação da idade obteve sucesso nesse trabalho indicando que cada anel de crescimento nos otólitos formou-se uma vez ao ano.

As taxas de mortalidade (Z) obtidas para as três espécies estudadas indicaram que as populações de *A. afer* ($Z=0.58$. ano⁻¹) e *C. fulva* ($Z=0.46$. ano⁻¹) apresentaram maior pressão nos seus estoques principalmente pela pesca de armadilhas. A taxa de mortalidade obtida para as populações de *E. adscensionis* ($Z=0.28$. ano⁻¹) mostrou que suas populações encontram-se menos exploradas pela pesca no litoral de Pernambuco. Os resultados obtidos nessa tese foram fundamentais para compreender os padrões de desenvolvimento sexual bem como a estrutura etária das populações de *A. afer*, *C. fulva* e *E. adscensionis* exploradas pela pesca no litoral de Pernambuco. Essas informações podem ser aplicadas em planos de manejo, conservação e ordenamento pesqueiro na costa nordeste do Brasil.

PALAVRAS-CHAVE: reprodução; hermafrodita protogínico; Epinephelidae; idadeç otólito; mudança de sexo

Capítulo 1

Introdução Geral



A importância dos recifes brasileiros, que ocupam uma área de 3.000 km ao longo da costa e constituem os únicos recifes de coral do Atlântico Sul, é tão grande quanto às ameaças que esses ecossistemas vêm sofrendo. A maioria dos recifes costeiros vem sendo explorada intensamente pela pesca artesanal e comercial devido à dependência em grande escala da população costeira desses recursos (Ferreira & Maida, 2006).

A atividade pesqueira em grande escala nos oceanos tem interferido nos ecossistemas marinhos, gerando grandes alterações ecológicas e reduzindo muitos estoques de peixes nos últimos 50 anos (Myers & Worms, 2005). Tal fato é consequência indireta do crescimento demográfico humano desordenado e o aumento da captura através do avanço da tecnologia da pesca (Coleman *et al.*, 2000). Nas últimas décadas, a preocupação com a conservação dos peixes marinhos tem aumentado devido à ameaça dos estoques com a exploração da pesca (Sadovy, 2005). A Sociedade Americana de Pesca (*American Fisheries Society* - AFS) reconhece que os peixes recifais devem ser explorados de forma conservadora para se evitar o colapso nos estoques, pois muitas espécies, principalmente as que possuem crescimento lento e maturação tardia encontram-se vulneráveis à sobreexploração (Coleman *et al.*, 2000).

As garoupas (Teleostei: Epinephelidae: Epinephelini) compreendem cerca de 160 espécies de peixes que ocorrem em regiões tropicais e subtropicais (Craig & Hastings, 2007; Erisman *et al.*, 2009). A maioria dos epinefelídeos apresenta o desenvolvimento sexual como hermafroditas protogínicos (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008), nascendo fêmeas e revertendo para machos quando atingem um determinado tamanho e/ ou pela pressão social de suas populações (Shapiro, 1987). No entanto, há registros de outros padrões sexuais para essa família em que as garoupas podem apresentar estratégias reprodutivas como gonocoristas (Colin, 1992) ou até mesmo apresentar mudança de sexo bidirecional (Liu & Sadovy, 2004). De acordo com a ampla variedade de padrões de desenvolvimento sexual das espécies de epinefelídeos (Erisman *et al.*, 2009), alguns estudos têm mostrado que a plasticidade

sexual de algumas espécies tem provocado dúvidas no modo reprodutivo protogínico (Sadovy & Domeier, 2005).

Vários estudos indicam que garoupas possuem vida longa com crescimento lento (Manooch, 1987) e geralmente os machos são maiores e mais velhos que as fêmeas (Choat & Robertson, 2002). A história de vida das garoupas hermafroditas protogínicas pode ser afetada quando peixes maiores e mais velhos são mais explorados pela pesca reduzindo assim os estoques das fêmeas maiores e conseqüentemente dos futuros machos de suas populações tornando-as assim mais vulneráveis (Petersen & Warner, 2002). Entre as espécies de peixes marinhos mais pescadas, os grandes epinephelídeos (garoupas, badejos, meros e chernes) têm sido alvos principais da pesca na região dos oceanos Atlântico (Tuya *et al.*, 2006), Indo-Pacífico (Colin *et al.*, 2003), Mar Mediterrâneo (Marino *et al.*, 2001) e Mar do Caribe (Sala *et al.*, 2001). No Brasil, os grandes epinephelídeos também têm sido um dos principais grupos-alvo da pesca na região nordeste (Ferreira & Maida, 2006), sudeste e sul (Andrade *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2005). Espécies de epinephelídeos de médio a pequeno porte (badejinhos, garoupinhas, piraúnas, catuás), por outro lado, com tamanho corporal menor ou igual a 60 cm, geralmente não são alvo principais das pescarias, mas são amplamente exploradas tanto como fauna acompanhante de várias modalidades da pesca comercial, como em pescarias artesanais multiespecíficas (Ribeiro, 2004).

Pequenas garoupas do Nordeste

No nordeste brasileiro garoupas de pequeno e médio porte, como o sapé *Alphestes afer*, a piraúna *Cephalopholis fulva*, e a garoupa-gato *Epinephelus adscensionis* são freqüentemente capturadas pela pesca artesanal. Informações sobre a exploração econômica dessas espécies não aparecem nos desembarques do nordeste controlados pelo IBAMA através da Estatística Pesqueira (ESTATPESCA) (IBAMA, 2005), pois são classificadas em outras categorias das pescarias multiespecíficas como fauna acompanhante.

A piraúna *Cephalopholis fulva* (Linnaeus, 1758), também conhecida como garoupinha ou catuá, é comum entre 1 e 40 metros em costões rochosos e recifes e

atinge o comprimento máximo de 40 cm; ocorre no Atlântico ocidental em regiões recifais tropicais e subtropicais das Bermudas e Flórida até a região sudeste do Brasil (Carvalho-Filho, 1999). Estudos de idade e crescimento dessa espécie entre Salvador (BA) e Cabo de São Tomé (RJ), região central da Zona Econômica Exclusiva, revelam que essa espécie encontra-se sensível à exploração pesqueira (Leite Jr. *et al.*, 2005).

A garoupa sapé *Alphestes afer* (Bloch, 1793) atinge até 30 cm de tamanho e também é comum entre 2 e 50 metros de profundidade; ocorre das Bermudas e Flórida até o sudeste do Brasil (Carvalho-Filho, 1999) e no Golfo da Guiné, oeste da África (Craig *et al.*, 2006). Na costa brasileira, essa espécie é considerada comum no litoral norte e rara entre Rio de Janeiro e Bahia (Ferreira *et al.*, 2008).

A garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Osbeck, 1765) também comum em costões rochosos e recifes entre 2 e 50 metros, atinge cerca de 61 cm (Hostim-Silva *et al.*, 2006; Heemestra & Randall, 1993), ocorre no Atlântico no Ocidental de Massachusetts até o sul do Brasil (Hostim-Silva *et al.*, 2006) e no Atlântico Oriental ocorre também nas Ilhas de Ascensão e Santa Helena (Choat & Robertson, 2008) e na Ilha de São Tomé (Golfo da Guiné) (Afonso *et al.*, 1999).

No Brasil somente *C. fulva* apresenta estudos sobre a biologia reprodutiva (Coelho, 2001) e sobre a idade e crescimento na costa Central (Araújo & Martins, 2009; Araújo & Martins, 2006). Já informações sobre os padrões de desenvolvimento sexual, idade e crescimento de *A. afer* e *E. adscensionis* não existem para o Brasil e são escassos nas outras regiões de ocorrência. Com isso, a avaliação dos parâmetros biológicos das populações dessas espécies é fundamental para avaliar os estoques explorados pela pesca.

A costa do estado de Pernambuco é caracterizada pela presença de mangues, estuários e recifes costeiros (Laborel, 1965). As áreas marinhas do litoral de Pernambuco consistem de ecossistemas altamente produtivos, aos quais está associada grande parte dos peixes explorados. Com uma extensão de 187 km, representa apenas 1,6% de todo o litoral brasileiro. A produção de pescado em todo o litoral de Pernambuco é basicamente artesanal (IBAMA, 2005). Apesar do esforço de pesca ter sido historicamente dirigido para as espécies de maior porte, é urgente avaliar as espécies de pequeno a médio porte que também estão sendo amplamente capturadas nas

pescarias do nordeste brasileiro. Através de estudos populacionais e planos de monitoramento dos estoques explorados dessas espécies, será possível ampliar estratégias de conservação e manejo de suas populações nos recifes brasileiros.

Objetivos da tese

Este trabalho teve como objetivo principal estudar a estrutura populacional de três espécies de epinephelídeos frequentemente exploradas pela pesca artesanal no litoral de Pernambuco: *Alphestes afer*, *Cephalopholis fulva* e *Epinephelus adscensionis*. Para caracterizar a pesca dessas espécies e avaliar a estrutura de suas populações, os objetivos específicos foram:

- Biologia reprodutiva das espécies;
- Idade e crescimento das espécies com validação da formação do anel de crescimento;
- Mortalidade das espécies; e
- Estrutura populacional por tamanho, idade e sexo das espécies.

Estruturação da tese

Essa tese foi baseada em dados provenientes de amostras biológicas coletadas no litoral de Pernambuco nos principais municípios com desembarque da pesca comercial e artesanal (Fig. 1) entre 2008 e 2009. Nesses acompanhamentos foram diagnosticados os métodos da pesca, os artefatos (linha, arpão, armadilhas) utilizados na captura das espécies alvo.

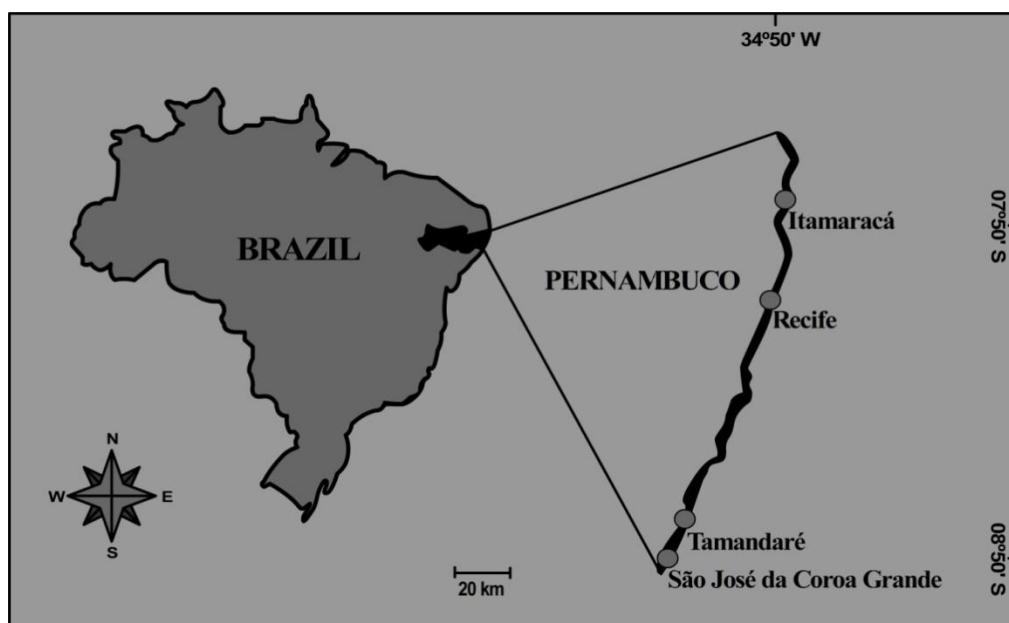


Fig. 1. Principais pontos de desembarque da pesca no litoral de Pernambuco.

De acordo com os objetivos propostos e os resultados obtidos ao longo da realização desse trabalho, a tese foi dividida entre seis capítulos descritos a seguir:

- Capítulo 1: Introdução geral;
- Capítulo 2: Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico;
- Capítulo 3: Idade, validação e crescimento de uma pequena garoupa, o sapé *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae);
- Capítulo 4: Reprodução, idade e crescimento da piraúna *Cephalopholis fulva* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco;
- Capítulo 5: Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco, Brasil;
- Capítulo 6: Considerações Finais.

Os capítulos 2 e 3 abrangem a biologia reprodutiva e a idade da garoupa sapé *A. afer* que apresentou peculiaridades no desenvolvimento sexual e distribuição de machos e fêmeas dentro da população estudada. O capítulo 2 foi defendido no exame de qualificação em Dezembro 2009. Após revisões e estudos adicionais, o capítulo 2 foi submetido à revista *Neotropical Ichthyology* em Outubro 2010 e

posteriormente foi aceito em Março 2011. O capítulo 3 encontra-se em revisão para breve submissão em revista internacional de maior impacto. Esses dois capítulos estão apresentados em inglês.

Os capítulos 4 e 5 abrangem a reprodução, idade e crescimento de *C. fulva* e *E. adscensionis* respectivamente. A estrutura desses capítulos foi semelhante de modo que as metodologias usadas foram as mesmas ao longo dos estudos da biologia reprodutiva, da validação da idade e do crescimento dessas espécies.

Os capítulos 3, 4 e 5 foram estruturados para futuras publicações. O capítulo 2 já se encontra adequado às normas da revista a que foi submetido.

Referências

- Afonso, P., F. M. Porteiro, R. S. Santos, J. P. Barreiros, J. Worms & P. Wirtz. 1999. Coastal marine fishes of Sao Tome Island (Gulf of Guinea). Arquipélago. *Life and Marine Sciences* 17 A: 65-92.
- Andrade, A. B.; Machado, L. F.; Silva, M. H. & Barreiros, J. P. 2003. Reproductive biology of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (LOWE, 1834). Brazilian Archives of Biology and Technology 46(3): 373-381.
- Araújo, J. N. & Martins, A. S. 2009. Age of the population biology of *Cephalopholis fulva* from the central coast of Brazil. *Journal Applied of Ichthyology* 25: 328-334.
- Araújo, J. N. & Martins, A. S. 2006. Age and growth of coney (*Cephalopholis fulva*) from the central coast of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 86: 4946/1-5.
- Carvalho-Filho, A. 1999. Badejos, chernes, garoupas e mero. Pp. 97- 111. In: Carvalho-Filho, A. (Ed.). Peixes da Costa Brasileira. Melro, São Paulo, 320p.
- Choat, J.H. & Robertson, D. R. 2008. An ecological survey of the St Helena and Ascension island populations of the jack (*Epinephelus adscensionis*) with a review of management options. Unpublished report. Agricultural and Natural Resources Department (ANRD) of the St Helena Government. 82p.

Choat, J. H. & Robertson, D. R. 2002. Age-based studies on coral reef fishes. Pp. 57-80. In Sale, P.F. (Ed.). Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem. Academic Press, San Diego, 549p.

Coelho, F. N. 2001. Distribuição, abundância e biologia reprodutiva da garoupinha, *Cephalopholis fulva* (Linnaeus, 1758) (Perciformes, Serranidae, Epinephelinae), na Costa Central do Brasil. Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense: Dissertação. 59p.

Coleman, F. C.; Koenig, C. C.; Huntsman, G. R.; Musick, J. A.; Eklund, A. M.; McGovern, J. C.; Chapman, R. W.; Sedberry, G. R. & Grimes, C. B. 2000. Long-lived Reef Fishes: The Grouper-Snapper Complex. *Fisheries* 25 (3): 14-20.

Colin, P. L.; Sadovy, Y. J. & Domeier, M. L. 2003. Manual for the Study and Conservation of Reef Fish Spawning Aggregations. Society for the Conservation of Reef Fish Aggregations Special Publication No. 1 (Version 1.0), pp. 1-98+iii.

Colin, P. L. 1992. Reproduction of the Nassau grouper, *Epinephelus striatus* (Pisces: Serranidae) and its relationship to environmental conditions. *Environmental Biology of Fishes* 34:357-377.

Costa, P. A. S.; Martins, A S & Olavo, G. 2005. Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Museu Nacional (Sér.Livros 13); Museu Nacional (Série Livros; 13). 248 p.

Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2007. A molecular phylogeny of the groupers of the subfamily Epinephelinae (Serranidae) with a revised classification of the Epinephelini. *Ichthyological Research* 54: 1-17.

Craig, M. T., Bartsch, P., Wirtz, P. & Heemstra, P. C. 2006. Redescription and validation of *Alphestes afer* as an amphi-Atlantic grouper species (Perciformes: Serranidae). *Cybium* 30(4): 327-331.

Erisman, B. E., Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2009. A phylogenetic test of the size-advantage model: evolutionary changes in mating behavior influence the loss of sex change in a fish lineage. *The American Naturalist* 174(3): E83-E99.

Ferreira, B. P. & Maida, M. 2006. Monitoramento dos recifes de coral do Brasil. Brasília: MMA. 250p.

Heemstra, P.C. & Randall, J.E. 1993. FAO species catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. FAO Fisheries Synopsis 125(16): 1-382.

Hostim-Silva, M.; Andrade, A. B.; Machado, L. F.; Gerhardinger, L. C.; Daros, F. A.; Barreiros, J. P. & Godoy, E. 2006. Peixes de costão rochoso de Santa Catarina – I. Arvoredo. Editora da Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 134p.

IBAMA. 2005. Monitoramento da atividade pesqueira no litoral do Brasil – Projeto Estatpesca. Brasília: SEAP/IBAMA/PROZEE. 328 p.

Laborel, J. 1965. On Brazilian coral reefs. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 37: 25.

Leite Jr., N.O.; Martins, A. S.; Araújo, J. N. 2005. Idade e crescimento de peixes recifais na região central da Zona Econômica Exclusiva entre Salvador-BA e o Cabo de São Tomé-RJ (13°S a 22°S). In: Costa, P. A. S.; Martins, A.S.; Olavo, G. (Eds.) *Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira*. Rio de Janeiro: Museu Nacional. p.203-216 (Série Livros n.13).

Liu, M. & Sadovy, Y. 2004. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. *Journal of Fish Biology* 65: 987-1002.

Manooch, C. S. 1987. Age and growth of snappers and groupers. Pp. 327-374. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). *Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management*. Westview Press, Colorado, 602p.

- Marino, G.; Azzuro, E.; Massari, A.; Finoia, M. G. & Mandich, A. 2001. Reproduction in the dusky grouper from the southern Mediterranean. *Journal of Fish Biology* 58: 909–927.
- Myers, R. A & Worm, B. 2005. Extinction, survival or recovery of large predatory fishes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 360: 13-20.
- Petersen, C. W. P. & Warner, R. R. 2002. The ecological context of reproductive behavior. Pp. 103-122. In Sale, P.F. (Ed.). *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem*. Academic Press, San Diego, 549p.
- Ribeiro, F. P. 2004. Composição da biocenose e abundância relativa de peixes capturados com covos nos estados do Rio Grande do Norte e Pernambuco (Brasil). *Boletim Técnico Científico do CEPENE* 12: 113-118.
- Sadovy de Mitcheson, Y. & Liu, M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9: 1-43.
- Sadovy, Y. 2005. The threat of fishing to highly fecund fishes. *Journal of Fish Biology* 59: 90–108.
- Sadovy, Y. & Domeier, M. L. 2005. Perplexing problems of sexual patterns in the fish genus *Paralabrax* (Serranidae, Serraninae). *Journal of Zoology* 267: 121-133.
- Sala, E.; Ballesteros, E. & Starr, R. M. 2001. Rapid Decline of Nassau Grouper Spawning Aggregations in Belize. *Fishery Management and Conservation Needs Fisheries* 26 (10): 23-30.
- Shapiro, D. Y. 1987. Reproduction in groupers. Pp. 295- 327. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). *Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management*. Westview Press, Colorado, 602p.
- Tuya, F.; Sanchez-Jerez, P. & Harou, R. J. 2006. Populations of inshore serranids across the Canarian Archipelago: relationships with human pressure and implications for conservation. *Biological Conservation* 128: 13-24.

Referências eletrônicas

Ferreira, B. P., Marques, S., Choat, J.H., Sadovy, Y., Craig, M.T., Bertoni, A.A. and Rocha, L. (2008). *Alphesites afer*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Available at <http://www.iucnredlist.org>

Capítulo 2.

**DESENVOLVIMENTO SEXUAL E PADRÃO REPRODUTIVO DO SAPÉ, *ALPHESTES AFER*
(TELEOSTEI: EPINEPHELIDAE): UM PEIXE RECIFAL HERMAFRODITA DIÂNDRICO**



*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Resumo

Há pouco conhecimento sobre a reprodução do gênero *Alphestes*. A reprodução do sapé *Alphestes afer* coletado nos recifes de Pernambuco (Brasil) foi estudada baseada em análises macroscópicas durante o período reprodutivo e análises histológicas das gônadas de Março de 2008 a Outubro de 2009. Esse estudo mostrou que *Alphestes afer* é uma espécie hermafrodita diândrica. A mudança de sexo seguiu o modo protogínico em dois caminhos: machos primários transformados de fêmeas imaturas ou machos secundários transformados de fêmeas em repouso, maduras ou esgotados. A distribuição numérica por classe de tamanho indicou que fêmeas de 11-18 cm L_T foram imaturas; fêmeas de 16-25 cm L_T e machos de 12-22 cm L_T foram de vários estádios de desenvolvimento gonadal. Indivíduos identificados como imaturos bissexuais e transicionais (ambos apresentando tecido ovariano e espermático) foram de 16-24 cm L_T de comprimento. O tamanho de primeira maturação da fêmea foi 18 cm L_T e do macho foi 12 cm L_T . *Alphestes afer* mostrou desova múltipla, com período de desova de Agosto a Dezembro de 2008 e de Agosto a Outubro de 2009. A proporção sexual (fêmeas: machos) em 2008 e 2009 foi 0.94:1 durante os meses de desova. Machos foram menores que as fêmeas, alcançando o tamanho máximo de 18 cm L_T comparados ao tamanho máximo de 22 cm L_T das fêmeas observadas. Machos tiveram o rank de competição espermática alto (3.8) sugerindo intensa competição espermática, o que é uma possível indicação da mudança na estrutura do grupo de acasalamento de desova em pares para desova em grupo. A presença de machos pequenos com alto índice de competição espermática sugere que esta espécie, enquanto retém o padrão protogínico, possui uma estratégia reprodutiva similar aos epinefelídeos gonocoristas.

Sexual development and reproductive pattern of the Mutton hamlet, *Alphestes afer*, (Teleostei: Epinephelidae): a dyandric, hermaphroditic reef fish

Sexual development and reproductive pattern of the Mutton hamlet, *Alphestes afer*, (Teleostei: Epinephelidae): a dyandric, hermaphroditic reef fish

Abstract

There is little knowledge on the reproduction of the genus *Alphestes*. The reproduction of the Mutton hamlet, *Alphestes afer*, sampled in Pernambuco reefs (Brazil) was studied based on macroscopic analysis during reproductive period and histological analysis of gonad material from March 2008 to October 2009. This study showed that *A. afer* is a diandric, protogynous hermaphrodite. Sex change followed a protogynous mode in two pathways: primary males formed from immature female individuals or secondary males formed from resting, ripe or spent female individuals. The numerical distribution of gonad classes by size indicated that females from 11-18 cm L_T were immature while females from 16-25 cm L_T and males from 12-22 cm L_T were in various stages of gonadal development. Individuals identified as immature bisexual and transitional (presenting both ovarian and sperm tissue) were sized from 16-24 cm L_T . Size of first reproduction for females was 18 cm L_T and for males was 12 cm L_T . *Alphestes afer* showed multiple spawning, with spawning season period from August to December 2008 and from August to October 2009. The sex-ratio (females: males) in 2008 and 2009 was 0.94:1 during the months of spawning season. Males were smaller than females, reaching maximum size of 18 cm compared to 22 cm observed for females. Males showed a high sperm competition rank (3.8), suggesting intense sperm competition. This latter is a possible indication of a shift in the mating group structure from paired to group spawning. The presence of small males added to high sperm competition index, suggest that this species, while retaining the protogynous pattern, has a reproductive strategy similar to gonochorist epinephelids.

Key Words: Reproduction; protogynous hermaphrodite; Epinephelidae

Introduction

The groupers (now Epinephelidae, reclassification of Serranidae by Smith & Craig, 2007) exhibit at least three different sexual patterns: protogynous hermaphroditism, gonochorism and bi-directional sex change (Sadovy de Mitcheson &

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Liu, 2008). Although it is often assumed that most of groupers present reproductive strategy of protogynous hermaphroditism, a number of reports have yet to be substantiated and confirmation of sexual pattern is still lacking for many species (Sadovy & Colin, 1995, Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008). The criteria to diagnose hermaphroditism in fishes in different survey areas have varied widely, but need care to not generate misinterpretations (Sadovy & Shapiro, 1987). The growing number of reports of hermaphroditic species over the last decade, new perspectives on phylogeny in some groups emerging from molecular studies and clearer criteria for distinguishing functional from non-functional, invite a re-examination of hermaphroditic sexual patterns in teleosts (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

Hermaphroditic fishes could be defined in two categories: i) simultaneous, when the male and female sex cells ripen at the same time; and ii) sequential, which could be protogynous hermaphrodite that function first as females and then transform to males, or protandrous hermaphrodite that transform males into females (Smith, 1959; Yamamoto, 1969; Chan & Yeung, 1983). The protogynous mode of reproduction is complicated in certain species by the occurrence of some large females that do not change sex and some small males that are mature at the same size as the smallest females (Heemstra & Randall, 1993, Liu & Sadovy, 2004).

Many protogynous groupers could exhibit either the monandric or diandric form of protogyny. The first occurs when males develop via only adult sex change (secondary male), while the diandric form is when males develop directly from juvenile sex change (primary male) (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

The importance of determining the mode of reproduction of a species is enhanced by the fact that fishery management is considerably complicated by sequential hermaphroditism (Shapiro, 1987). Since males in protogynous species tend to be larger, older and less numerous than females, fishing may remove more males than females (Ferreira, 1993). There is little knowledge of sexual behavior of small groupers hermaphrodites exploited in fisheries.

The Mutton hamlet, *Alphestes afer* (Bloch, 1973), is a small grouper (Epinephelidae), shallow-water, cryptically colored fish that is easily overlooked in their typical seagrass habitat (Heemstra & Randall, 1993). They rarely reach 30 cm in size

and are common in waters between 2 and 50 meters deep (Craig *et al.*, 2006). This small grouper has been recorded from Bermuda, south Florida to southern Brazil (Carvalho-Filho, 1999) and in the Gulf of Guinea, western Africa (Craig *et al.*, 2006).

Apart from the work by Smith (1959) which considered *A. afer* as protogynous hermaphrodite, based in histological analysis of only 8 individuals, there is little knowledge on the reproduction of the genus *Alphestes*.

The purpose of this work was to assess the reproductive biology of *A. afer*, including description of size distribution of individuals, seasonality of reproduction, sex ratio and occurrence of sex-change in Brazilian reefs.

Materials and methods

Sampling

The coast of Pernambuco State, in the Brazilian Northeast, is 187 km long and characterized by the presence of mangroves, coral reefs and seagrass beds. This coast represents a highly productive system that supports intense artisanal fisheries (Ferreira & Maida, 2006). In Pernambuco State, the Mutton hamlet, *Alphestes afer*, is caught frequently by traps and hook and line in costal reefs and over the continental shelf.

Alphestes afer was sampled monthly in four localities on the coast of Pernambuco State: 1) Itamaracá (7°44'S, 34°49'W), 2) Recife (8°04'S, 34°52'W), 3) Tamandaré (8°45'S, 35°05'W) and 4) São José da Coroa Grande (8°53'S, 35°08'W) between March 2008 and October 2009. Most samples were obtained during landings from trap fisheries operating over the continental shelf in depths between 30 to 50 m. A smaller percentage of the sample (13%) was obtained from landings from hook and line fisheries and spear fisheries operating in shallow reefs between depths of 3 to 5 m.

Each fish was measured and weighted. Total length (L_T) was measured in centimeters (cm) and total weight (Wt) in grams (g). Gonads for each individual were removed, weighed (in grams), and fixed in FAAC (formaldehyde 4%, acetic acid 5%, calcium chloride 1.3%) (Ferreira, 1993). Alternatively, inspection of fresh gonads was conducted macroscopically in order to determine the sex. In this latter case, individuals were classified as either ripe female or male.

After fixation in FAAC, each gonad sample was rinsed with fresh water and then preserved with alcohol 70°. Gonadal tissue was cut from the middle part of the gonadal lobe. After the dehydration process, the gonads were embedded in paraffin, sectioned transversally at 4-5 µm and stained with haematoxylin-eosin (Beçak & Paulete, 1976).

Maturity stages were determined from histological observations to assess the development of the ovary and testis. Oogenesis and spermatogenesis stages classification followed Nagahama (1983) and Ferreira (1993, 1995); and developmental stages classification followed Chan & Sadovy (2002) and Liu & Sadovy (2004).

The spawning season was determined through histological analyses. Gonadosomatic index (I_G) was calculated as $I_G = W_{Go} / W_t \times 100$, where W_{Go} = gonadal weight, and W_t = total weight.

The amount of fat deposited in the mesenteries was estimated following a relative scale from 1 to 3, which indicated the proportion of fat covering the viscera (1: no visible fat; 2: increasing amounts of fat, and 3: fat completely covering the viscera). This scale was chosen after an observation of the variation in the amounts of mesenteric fat during reproductive cycle. The estimation was always made by the same observer. This scale was transformed in percentage to compare with I_G .

The size (L_T cm) of first spawning was determined when 50% (L_{T50}) of females and males have begun their reproductive cycle. The individuals in each size class from 12 to 26 cm L_T were either in ripening or ripe gonad stage, thus were grouped per sex. Size distribution of females and males was compared between gonadal stages among reproductive period. Mature females and males were included to calculate the sex-ratio only when reproductively active.

The I_G (gonadosomatic index) of reproductive active males was used as a proxy of sperm competition intensity following a review by Erisman *et al.* (2009). Mean I_G of breeding males was used to score the intensity of sperm competition, separated in four groups of increasing levels of sperm competition ranks (S_R) (Table 1).

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Table 1. I_G of breeding males, sperm competition ranks (S_R) and sexual pattern of groupers species according to review by Erisman *et al.* (2009).

Mean I_G	S_R	Sex Pattern
0.2 - 0.5	1	protogynous
0.6 - 2.0	2	protogynous
2.0 - 4.0	3	Protogynous or unconfirmed gonochorism
> 4	4	gonochorism

S_R (1), non aggregating species that spawn in pairs; S_R (2), aggregating species that spawn in pairs; S_R (3), aggregating species that spawn in pairs or groups; S_R (4), aggregating species that spawn only in groups.

A nonparametric Kruskal-Wallis ANOVA ($P < 0.05$) was used to examine differences in some analysis among gonadal stages of females and males (I_G , mesenteric fat, sizes distribution of gonadal stages). Spearman Rank correlation was used to analyze the relationship between I_G and mesenteric fat for mature females and males, and between I_G and size. A Chi-Square test (X^2) was used to compare sex ratio (mature females:mature males) between months of reproductive period.

Results

The total number of individuals collected from landings was 249, ranging from 12.2 to 25.8 cm L_T . The number of individuals analyzed per month varied between 9 and 22, depending on availability and period of the year. An additional sample of eight small juveniles (11.6 to 15.4 cm L_T) was collected in shallow reefs (3 m) of Tamandaré using fence nets between March 2009 and February 2010.

Sex determination was attempted from macroscopic observations only during the reproductive period. All gonads of females and males had an ovarian structure with a lumen and numerous lamellae protruding into the lumen from the dorsal and lateral walls. Six gonadal stages were histologically recognized in ovaries and four in the testes. Sex change was determined in juvenile and adult females presenting four stages, so the species was considered a protogynous hermaphrodite. Each gonad was assigned in one of the following phases: immature female; ovarian phase of resting, ripening, ripe and spent female; immature bisexual phase of females; transitional phase of resting, ripe

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

and spent female; testicular phase of ripening, ripe, spent and resting male. Table 2 lists these phases and their corresponding macroscopic and histological characteristics.

Table 2. Description of gonadal stages of *Alphestes afer*

Gonadal Stages	Macroscopic appearance	Histological appearance
F(Im) <i>Immature</i>	The ovaries in this stage were pink-translucent and small.	Ovaries were small in diameter and showed no evidence of prior spawning; the gonad wall was relatively thick; the lamellae was packed and filled with oocytes in early perinucleolus stage. Gonia and chromatin nucleus stage oocytes were abundant (Fig. 1a).
F <i>Resting</i>	Ovaries were larger than immature females and usually pale pink-yellow.	The lamellae presented oocytes in early and late perinucleolus stages; the presence of yellow-brown bodies was common. Also the presence of muscle bundles in this phase was used as an indicator for determining previous female function.
<i>Ripening</i>	Ovaries were pink yellow and larger than resting females.	Oocytes in vitellogenic stage, from yolk vesicle stage to the beginning of yolk globule stage.
<i>Ripe</i>	The ovaries were large, yellowish and had a granular appearance due to the presence of mature oocytes.	Ovaries presented oocytes in several stages of development, from yolk globule stages to hydrating stages (Fig. 1b).
<i>Spent</i>	The ovaries were flaccid, bloody, and pale yellow.	Lamellae were disrupted and follicular cells, remnants of pos-ovulatory follicles, were present throughout the gonad; vitellogenic oocytes were in several stages of atresia.
Fbi(Im)	Ovaries was similar to F(Im) . Ovarian wall was thinner.	Ovaries presented both previtellogenic oocytes and spermatogenic tissue. There was no evidence of prior spawning (Fig. 4a).
Tr(Re), (Rp), (Sp)	Macroscopic sex assignment was not possible in this phase.	Ovary showed degeneration of ovarian tissue and proliferation of testicular tissue (small crypts or group of spermatozoa) in females in resting, ripe and spent stage. (Fig. 4b, c).
M <i>Resting</i>	Macroscopic sex assignment was not possible in this phase.	Early stage of spermatogenesis with crypts of spermatogonia, and spermatocytes in first stage; dorsal sinus was present and filled with some spermatozoa.
<i>Ripening</i>	Macroscopic sex assignment was not possible in this phase.	Presence of crypts containing secondary spermatocytes, spermatides and spermatozoa; dorsal sinus was present and filled with spermatozoa.
<i>Ripe</i>	The testis was large, milky white due to the presence of milt filled with spermatozoa.	Crypts of spermatides and spermatozoa, ruptured and joined within the testicular lobules, forming large intralobular sinuses; dorsal sinuses developed and filled with abundant spermatozoa (Fig. 2a, b).
<i>Spent</i>	Macroscopic sex assignment was not possible in this phase.	Crypts of spermatogonia and spermatocytes in first stage beginning to appear, spermatozoa presence reduced to small amounts in intralobular and dorsal sinuses.
Mro	Macroscopic sex assignment was not possible to identify this phase.	Testicular phase of resting, ripening ripe and spent males with residual primary oocytes sometimes showing degeneration (Fig. 2c).

F (Im): immature female; F: female; Fbi(Im): immature bisexual phase of female; Tr(Re): transitional resting; Tr(Rp): transitional ripe; Tr(Sp): transitional spent; M: male; Mro: male with residual oocytes

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

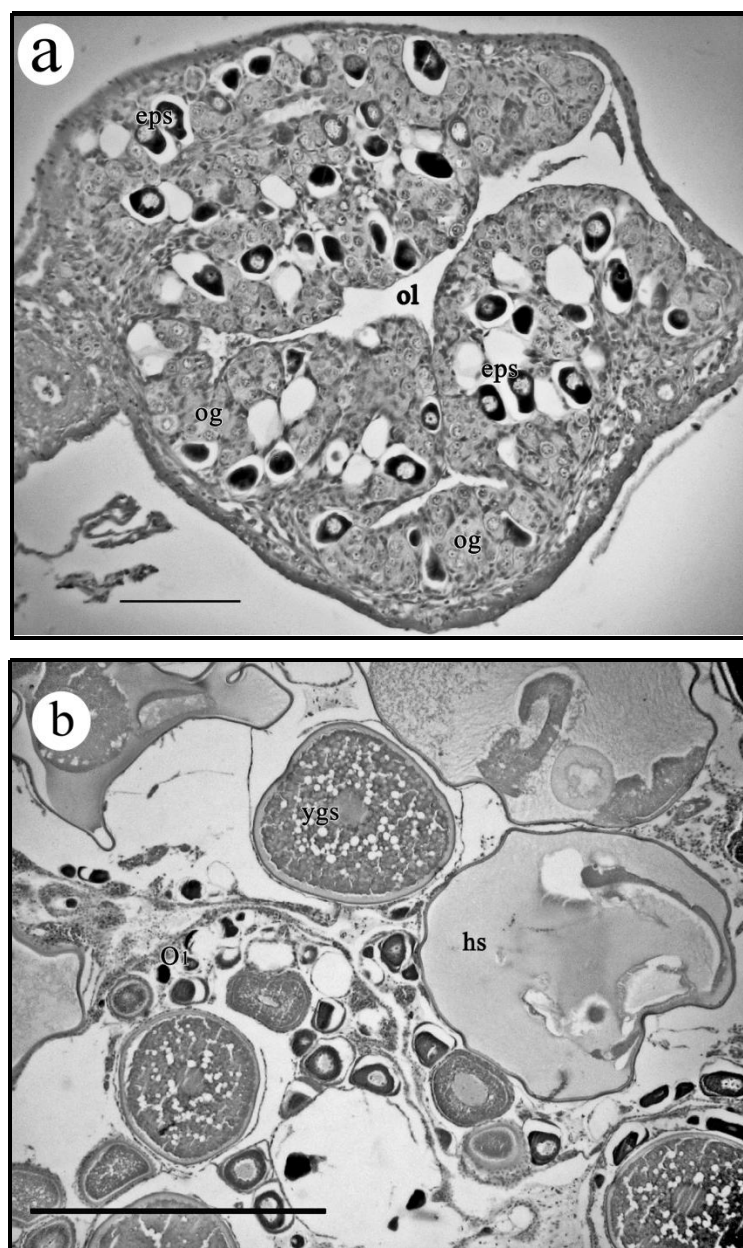


Fig.1. Photomicrographs of histological sections from females *Alphestes afer* gonads. (a) Section from an immature female (bar = 100µm) (11.6 cm T_L ; February 2010). (b) Section from a ripe female (bar = 500µm) (19.6 cm T_L ; October 2009). og = oogonium, eps = early perinucleolus stage, ygs = yolk vesicle stage, hs = hydrated stage, O₁ = primary growth stage oocyte.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

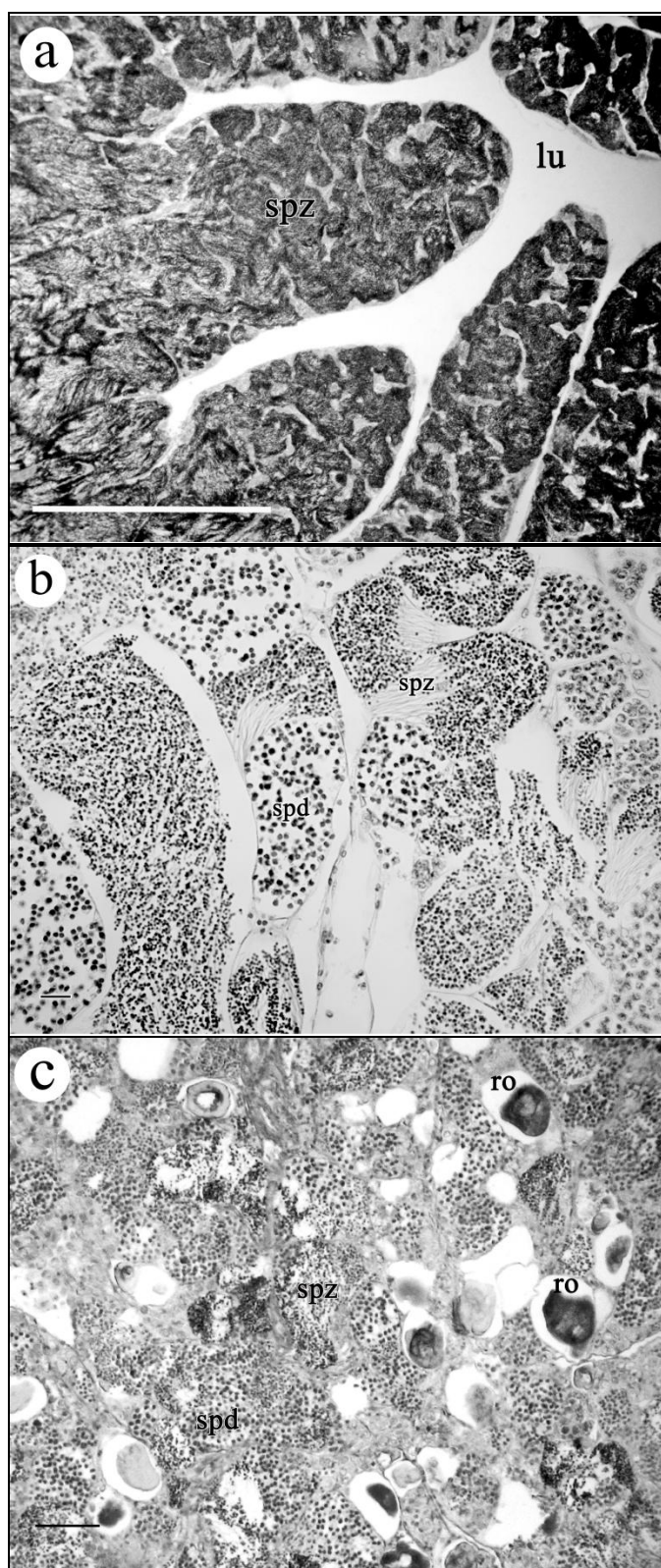


Fig.2. Photomicrographs of histological sections from males *Alphestes afer* gonads. (a), (b) Section from a ripe male (a - bar = 300µm, 15.1 cm T_L ; September 2008; b - bar = 37 µm, 19.0 cm T_L ; August 2009). (c) Section from a ripening male with residual previtellogenic oocytes (bar = 50µm; 21 cm T_L ; June 2009). lu = lumen, spz = spermatozoa; ro = residual oocytes.

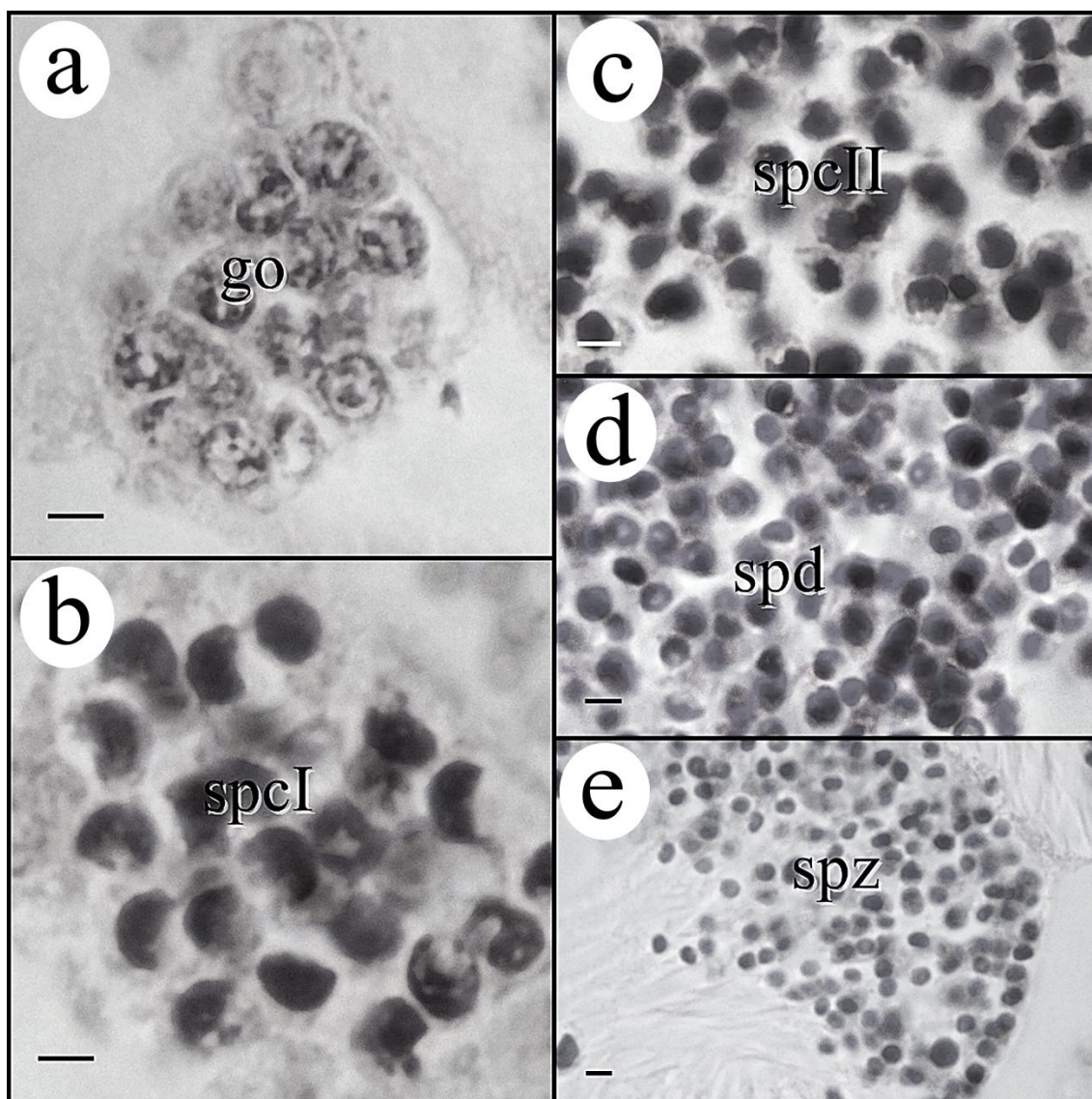


Fig.3. Photomicrographs of a histological section from male *Alphestes afer* spermatogenesis stages. (a), go = spermatogonias, (b), spcI = spermatocytes in first stage (bar = 5µm); (c), spcII = secondary spermatocytes (bar = 2.5µm); (d), spd = spermatides (bar = 2µm); (e), spz = spermatozoa (bar = 2µm) (18.6 cm T_L ; September 2009).

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

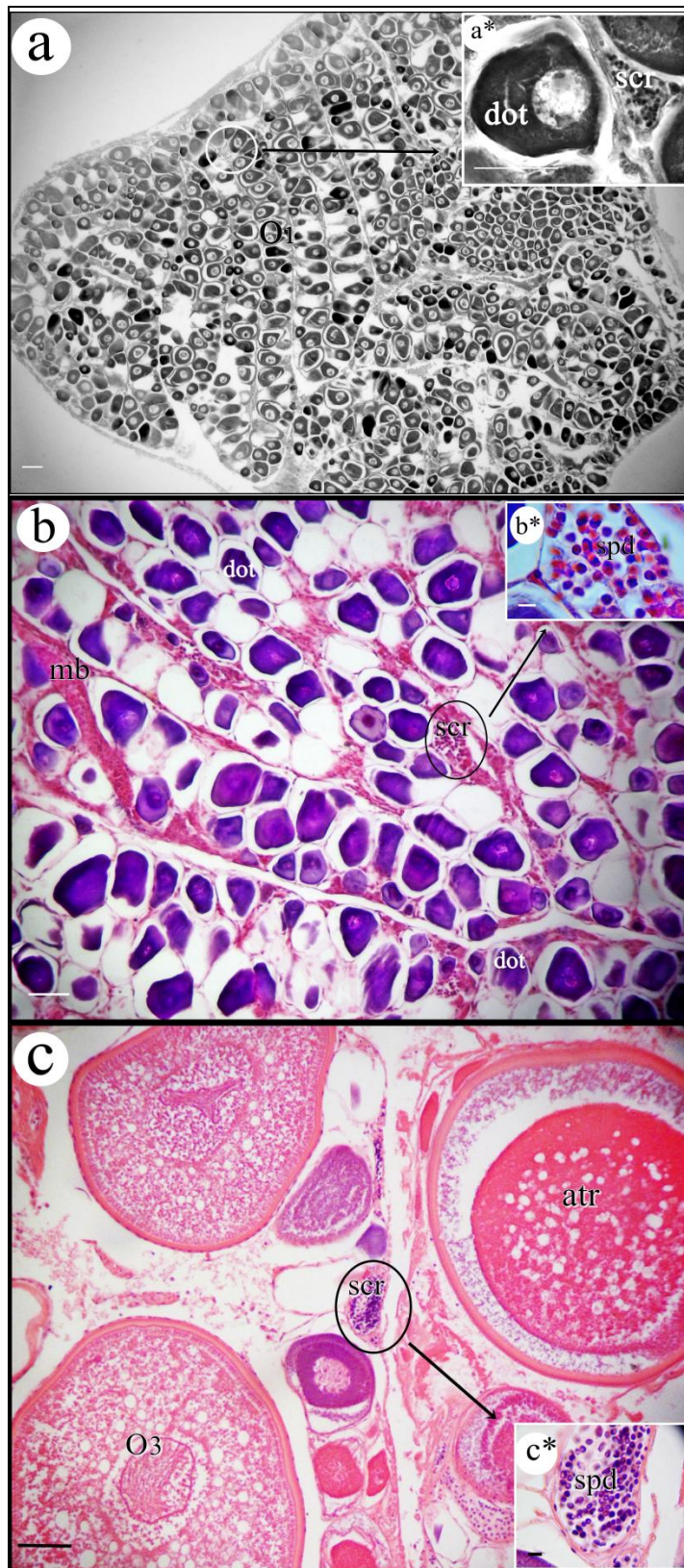


Fig.4. Females with bisexual and transitional phases in *Alphestes afer*. (a) Section showing a gonad in bisexual phase of immature female (bar = 50 μ m) (16.1 cm T_L ; May 2008). (a*) Detail of spermatocyst in major magnification of same specimen (1000x; bar = 20 μ m). (b) Section showing a gonad in transitional phase of resting female with sperm crypts spread among ovarian tissue (bar = 50 μ m) (19.8 cm T_L ; May 2009). (b*) Detail of spermatocyst (1000x; bar = 2 μ m). (c) Section of ovary showing transitional phase of spent female with sperm crypts around vitellogenic stage oocyte (bar = 50 μ m) (21.1 cm T_L ; October 2009). (c*) Detail of spermatocyst (1000x, bar = 2 μ m) O₁ = primary growth stage oocyte; dot = degenerating ovarian tissue, scr = sperm crypts; mb = muscle bundle; O₃ = vitellogenic stage oocyte; atr = atretic vitellogenic oocytes;

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Table 3. Gonads of *Alphestes afer* in bisexual phases according to histological criteria

Gonad phase	O1	O2	O3	MB	ST	SS	OD
F(Im)	+	-	-	-	-	-	-
F	+	+	+	+/-	-	-	+
Fbi(Im)	+	-	-	-	+	-	+
Tr(Re)	+	-	-	+/-	+	+/-	+
Tr(Rp)	-	+	+	-	+	-	+
Tr(Sp)	-	-	+	+	+	-	+
M	-	-	-	-	+	+	-

F(Im), immature female; F, ovarian phase of resting, ripening, ripe and spent female; Fbi(Im), immature bisexual phase of female; Tr(Re), transitional phase of resting female; Tr(Rp), transitional phase of ripe female; Tr(Sp), transitional phase of spent female; M, testicular phase of ripening, ripe, spent and resting male; O1, primary growth stage oocyte; O2, cortical alveolus stage oocyte; O3, vitellogenic stage oocyte; MB, muscle bundle; ST, spermatogenic issue; SS, sperm sinus; OD, degenerating ovarian tissue. +, present; - absent, +/-, present or absent.

During histological analysis, sex changing gonads were identified when sperm crypts appeared. These sperm crypts were confirmed comparing with the spermatogenesis stages of male *A. afer* (Fig. 3). Individuals with gonads containing previtellogenic oocytes and spermatogenic tissue without signs of previous female function were classified as immature bisexual (Table 2). Mature individuals showing both proliferation of testicular tissue and degeneration of ovarian tissue were considered transitional. Sex changing gonads presented spermatid crypts or groups with spermatides or spermatozoa, located near the edge of gonad wall and spread among ovarian tissue. Also oocytes (O1, O2 or O3) in these gonads showed signs of degeneration (Table 3). Muscle bundles (MB) were evident (Table 3; Fig. 4b). The presence of MB, surrounding the blood vessels, was most prominent after spawning in spent females and at the beginning of resting period of females. Sperm sinuses were observed only in transitional individuals on resting stage, and in those individuals larger proliferation of sperm crypts was also observed. Transitional individuals in other stages presented only few sparse sperm crypts (Table 3 and 4).

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Table 4. Classification of *A. afer* by gonad class and size from March 2008 until February 2010.

LT (cm)	F(Im)	F	Fbi(Im)	Tr(Re)	Tr(Rp)	Tr(Sp)	M
11 -12	2						
12 -13	2						3
13 -14	3						
14 -15	2						1
15 -16							4
16 -17	7	1	1				4
17 -18	1			1 (1**)			8
18 -19	3	17		5 (1*; 3**)	1		11
19 -20		34		4 (1*; 4**)			10
20 -21		46					9
21 -22		28			1	1	6
22 -23		19		1			1
23 -24		8				1	
24 -25		7				1	
25 -26		3					
Total	20	163	1	11	2	3	57

Fbi(Im), bisexual phase of immature female; F, ovarian phase of resting, ripe and spent female; Tr(Re), transitional phase of resting female; Tr(Rp), transitional phase of ripe female; Tr(Sp), transitional phase of spent female; M, testicular phase of ripe, spent and resting male; (*) individuals without MB; (**) individuals with spermatoc sinus (Total = 257).

Only ten males (21% of all examined individuals) presented residuals previtellogenic oocytes intermingled with testicular tissue (Fig. 2c). These residual oocytes were probably remains from the juvenile bisexual phase with no functional significance.

Size distribution of males and females and size of first maturity

Immature females measured from 11 to 18 cm L_T while mature females measured from 16 to 25 cm L_T . Immature bisexual present showed a size range of 16 to 17 cm L_T . Males, including the ones which had residual ovarian tissue, ranged from 12 to 22 cm L_T (Table 4).

A single small specimen of immature bisexual female Fbi(Im) was identified during May 2008 (Fig. 4a). This specimen did not exhibit any sign of previous female function, such as muscle bundles or later stage oocytes (O2, O3) (Tables 3, 4). Smaller

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

males (12 to 17 cm L_T) did not show evidence of first reproduction as previous females function. Among twelve resting transitional female Tr (Re), only two individuals (18 to 19 cm L_T ; June 2008 and June 2009) did not show presence of muscle bundle as evidence of previous female function (Table 4). Five individuals between 18 and 24 cm L_T of ripe and spent transitional females Tr(Rp) and Tr(Sp) showed ovarian tissue with evidences of previous female function (Table 3, Fig. 5). These transitionals individuals represented 2.7% of all females observed.

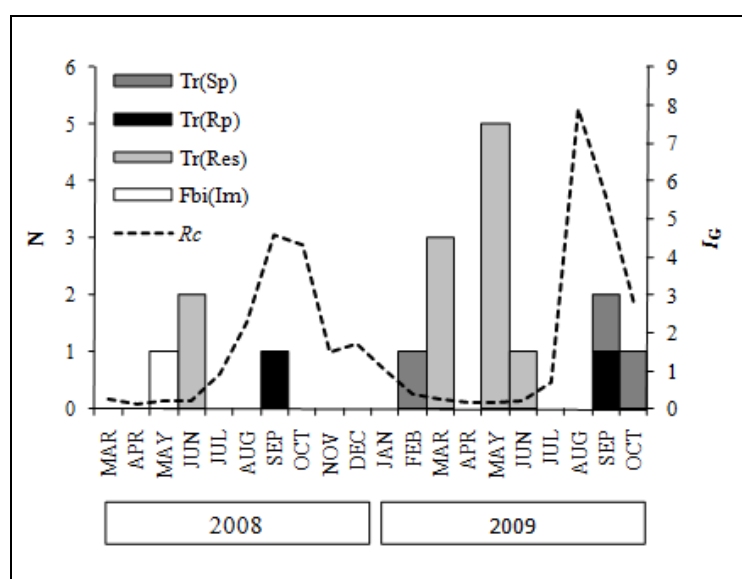


Fig. 5. Monthly distribution of number (N) of females of *Alphestes afer* in sex change during reproductive cycle (from March 2008 up to October 2009); I_G , gonadosomatic index. Fbi (Im), inactive bisexual phase of female; Tr(Re), transitional phase of resting; Tr(Rp), transitional phase of ripe; Tr(Sp), transitional phase of spent female; Rc, reproductive cycle ($n=17$).

The size of first reproduction (considered as the size in which 50% of individuals are reproductively active) was 18 cm L_T for females and 12 cm L_T for males, showing that reproductive males were smaller than females. The modal size of females was 22 cm L_T while for males was 20 cm L_T (Fig. 6). Average size of males and females was significantly different (t-test, $df = 62$, $P < 0.05$).

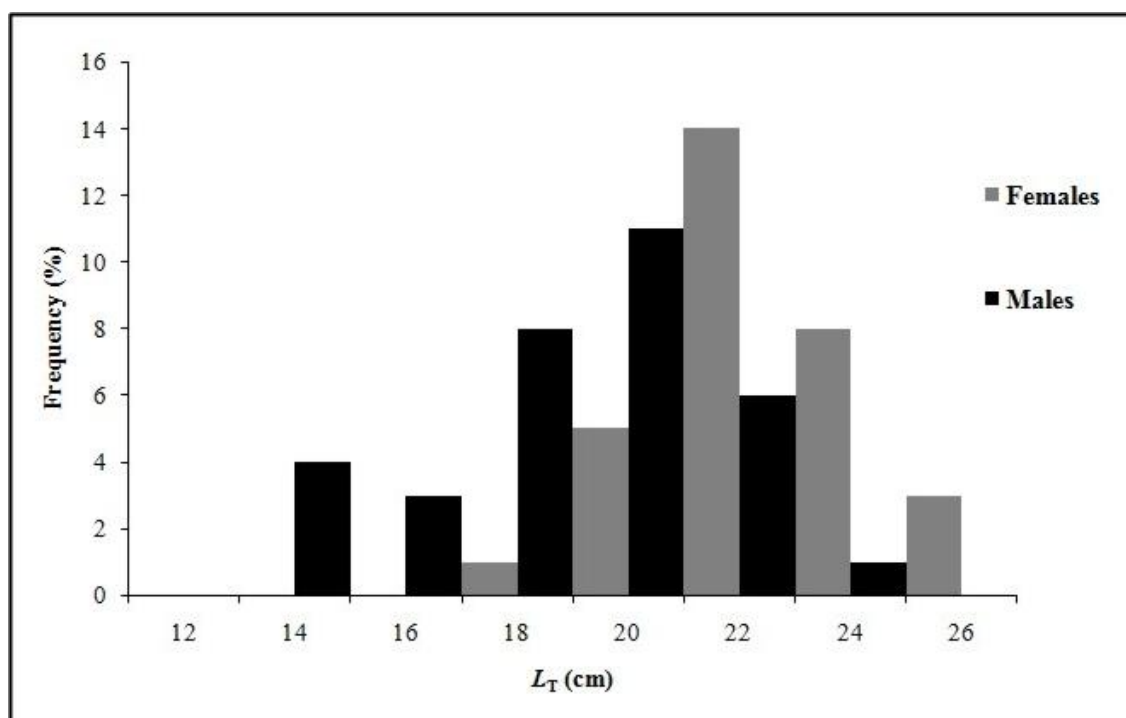


Fig. 6. Size distribution of mature females and males of *A. afer* during the reproductive period of 2008 and 2009. (Males, $n=33$; Females, $n=31$).

Seasonality and periodicity of spawning

Spawning period was evident from August to December 2008 and from August to October 2009 gonadal stages and I_G . The reproductive peak in August 2009 was more intense than that in August 2008 (Kruskal-Wallis Test, $df = 1$; $P < 0.05$). There were significant differences between I_G of months of resting period and months of reproductive period of 2008 and 2009 (Kruskal-Wallis Test, $df = 19$; $P < 0.05$). There were no significant differences between I_G values of mature females and males (Kruskal-Wallis, $df = 1$; $P = 0.0554$). Significant differences were identified in I_G values between months of reproductive peak of 2008 and 2009 (Kruskal-Wallis, $df = 5$; $P < 0.05$) (Fig. 7).

The amount of fat deposited in the mesenteries of males and females had significant differences between months (Kruskal-Wallis; $df = 19$; $P < 0.05$). From

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

January to June 2009, there was an increase in the amount of fat before the reproductive peak. The amount of mesenteric fat observed in September 2008 dropped to zero and remained so until December 2008, after the end of the reproductive period. The decrease of fat was also observed in September 2009 (Fig. 7). The variation in the amount of mesenteric fat was antiphasic to the variation observed in the I_G for males and females (Fig. 7), and the amount of fat was inversely correlated with gonad weight for mature females and males (Spearman rank $R_S = -0.254$; $P < 0.05$).

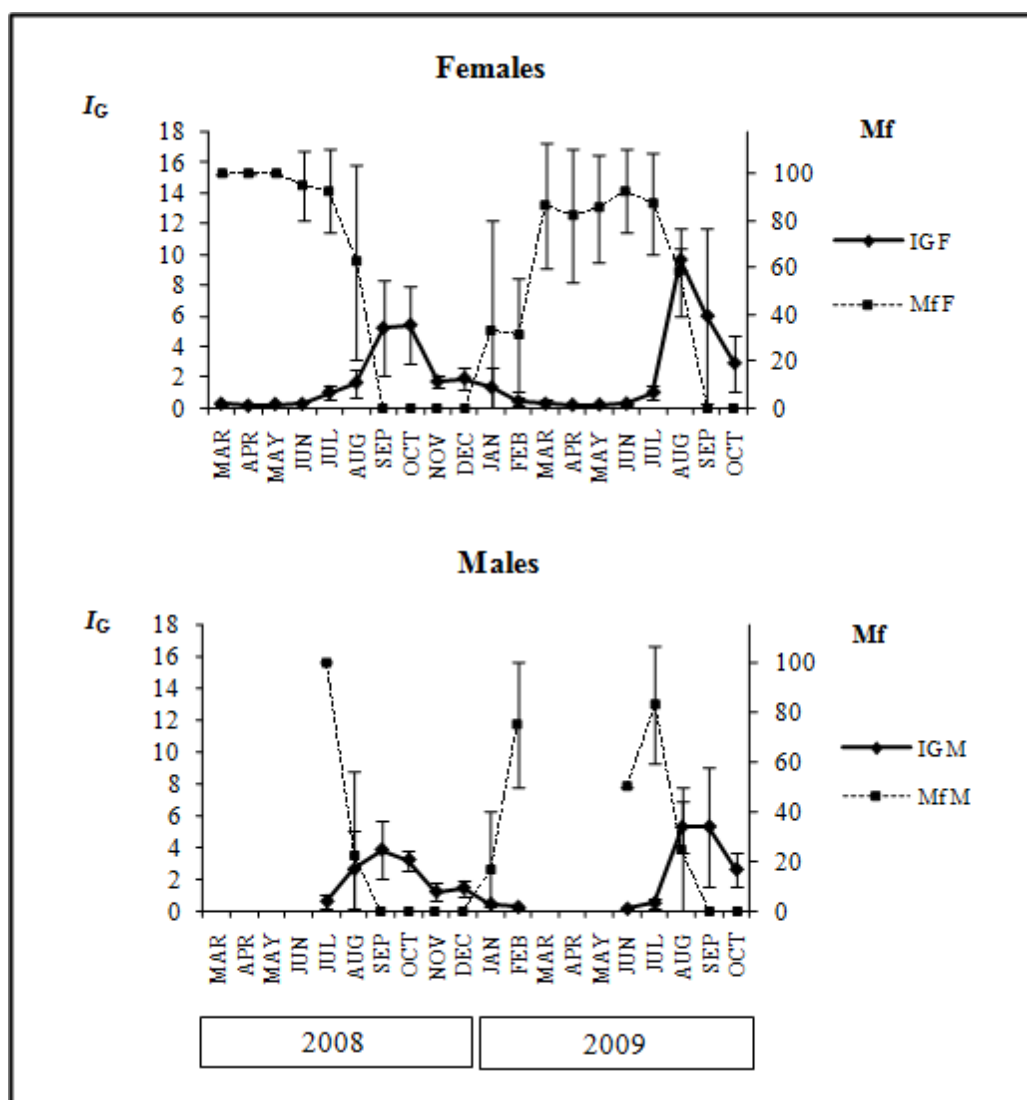


Fig.7. Monthly variation analysis of the gonadosomatic index (I_G) of Females (I_G F; $n=200$) Males (I_G M; $n=57$); and fat deposited in the mesenteries (Mesenteric fat – Mf F; Mf M) of *Alphestes afer* from Pernambuco coast. Error bars show standard deviation of original data.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Ripe females were found from August to December in 2008 and from July to October in 2009 (Fig. 8). Ovaries in this stage showed oocytes in maturation, mature and hydrated; previtellogenic oocytes in ripe female were also present (Fig. 1b).

Ripe males were found from July 2008 to February 2009 and from June to October 2009 (Fig. 8). Intense spermiogenesis and the presence of spermatozoa filled sinuses indicated that males could spawn several times. Since the end of reproductive period (December 2008) some mature males showed the beginning of spermatogenesis with emergence of spermatogonias and primary spermatocytes. During resting period of females, males were not found (March-June 2008; March-May 2009). Resting males were found only during January, February and June 2009 (Fig. 8). Immature males were not observed during the study.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

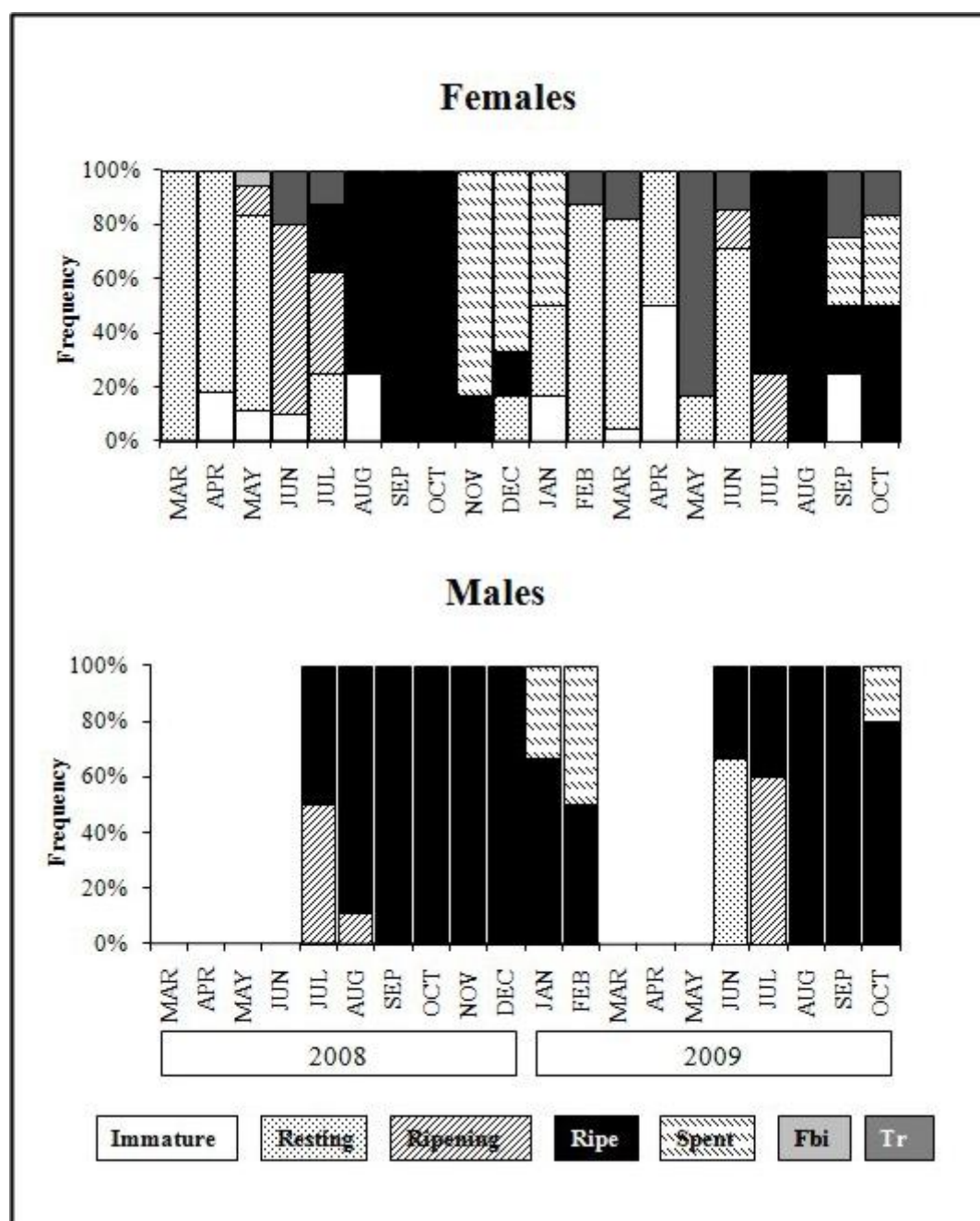


Fig. 8. Monthly distribution percentages of gonadal stages per females ($n = 183$), immature bisexual female (Fbi) ($n = 1$), transitionals (Tr) ($n = 16$) and males ($n = 57$) from Pernambuco coast.

The I_G was positively related to size for mature males (Spearman rank $R_s = 0.51$; $P < 0.05$) and was inversely and weakly related to size for mature females (Spearman rank $R_s = -0.14$; $P = 0.43$), during reproductive period from August to October in both

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

years. Some males were mature at 12 cm L_T but I_G started to increase after 15 cm L_T (Fig. 9).

There were significant differences among size classes in gonadal stages of females, males (immature, ripening, ripe, spent and resting), bisexuals females (immature) and transitional females (resting, ripe and spent) (Kruskal-Wallis, $P < 0.05$; $df = 9$).

Sex-ratio (females:males) was 0.94:1 during the spawning season period (August to October) and frequency distribution of males and females did not vary between 2008 and 2009 (X^2 ; $P = 0.589$). Sex ratio per size classes showed the trend observed in size frequency distribution (Fig. 6), with a clear tendency for males in smaller size classes and females in larger classes. Frequency of mature females and mature males also did not vary between classes where overlap occurred (18-23 cm L_T) (X^2 ; $P = 0.06$) (Table 5).

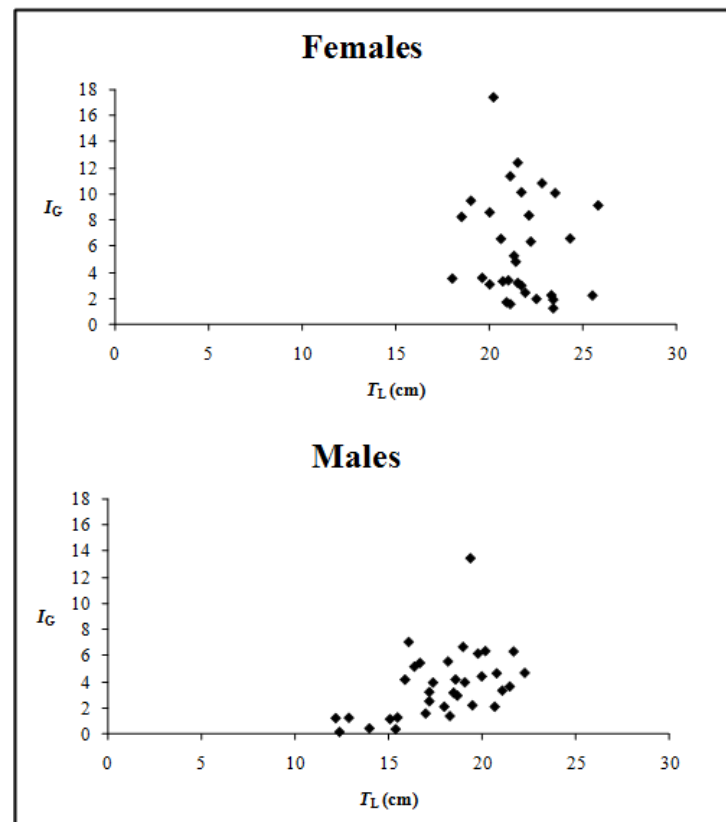


Fig. 9. Relationship between gonadosomatic index (I_G) and total length (T_L) of ripe females ($n = 31$) and males ($n = 33$) of *Alphestes afer* during the reproductive peak (August up to September 2008, 2009).

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

The I_G mean of breeding males was 3.8 and the *Alphestes afer* sperm competition rank was (3) indicating that it is an aggregating species that spawn in pair or groups. The category of sexual pattern was protogynous or unconfirmed gonochorism (Table 1).

Table 5. Number of females and males sampled and sex ratio (female : male) by size for *A. afer* during reproductive period in 2008 and 2009.

L_T (cm)	Females 2008	Males 2008	Sex Ratio 2008	Females 2009	Males 2009	Sex Ratio 2009
12 -13		3				
13 -14						
14 -15		1				
15 -16		2			1	
16 -17		3				
17 -18		3			1	
18 -19	2	2	1 : 1		4	
19 -20		2		2	3	0.66 : 1
20 -21	1			5	4	1.25 : 1
21 -22	6	1	6 : 1	4	2	2 : 1
22 -23	2			2	1	2 : 1
23 -24	1			3		
24 -25				1		
25 -26	1			1		
Total	13	17	0.76 : 1	18	16	1.12 : 1

Discussion

In low latitudes, grouper species spawn between early spring and summer (Shapiro, 1987; Ferreira, 1993; Heemstra & Randall, 1993). Gonadal stages and I_G of *Alphestes afer* in Brazilian reefs indicated that spawning activity occurred earlier, between late winter and spring. This periodicity was confirmed by histological evidence as well as I_G analysis. Multiple-spawning during this period was indicated by asynchronous oocyte development in females and continuous spermiogenesis in males, a pattern often observed in other epinephelids (Ferreira, 1995).

During the reproductive period in Brazilian reefs, running ripe *A. afer* females and males were observed, indicating that spawning occurred within the fishing area. Males were absent in samples collected from March to June 2008 and from March to May 2009, a period during which they were most likely in the resting phase as observed for females and males collected during June 2009. The absence of males may be the result of a spatial segregation of sexes during non active reproductive periods. Robertson & Choat (1974) noted that temporary territorial males of *Thalassoma lunare* (protogynous hermaphrodite) appeared only during the spawning season. Some species of groupers have also shown co-occurrence of males and females only during the reproductive period indicating spatial segregation with females in shallow water and males in deeper areas during the resting period (Coleman *et al.* 1996; Sadovy, 1994; Shapiro, 1987). However, the fishing area covered in this study was broad and reached the deeper limits of the species known depth distribution, if this movement occurs, it should be to shallower areas as traps start to be deployed at 30 m depth. It was observed that *A. afer* disappeared altogether from shallow reefs (3 m deep) located in Tamandaré (Pernambuco Coast, Brazil), during the spawning season but individuals were observed during remaining periods of the year. As their sex was not determined it is not possible to conclude if those individuals belonged to one or both sexes.

Pathways of protogynous hermaphroditism

A single previous, available study for *A. afer* is that of Smith (1959) who classified it as a protogynous hermaphrodite and reported females ranging from 13.2 to 23.5 cm L_T and a single male of 21.3 cm L_T . Our study from Brazilian reefs showed mature males from 12 to 22 cm L_T and mature females from 16 to 25 cm L_T , indicating that males are in average smaller than females. Also, first maturity size of males at 12 cm L_T was inferior to the size of first maturity of females at 18 cm L_T . Males smaller than 17 cm L_T were considered primary males because they did not show any signs of previous reproduction as females. The suggested reproductive pathways for *A. afer* are shown in Fig. 10. Reports of species, in which males are consistently smaller than females, have been related to the development of primary males that do not pass through a stage of functional, adult female, and develop through juvenile phase

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

(Munday *et al.*, 2006). This process, called juvenile sex inversion, has been previously reported for sparids (Francis & Pankhurst, 1988) as well as for serranids (Ferreira, 1995; Bhandari *et al.*, 2004; Liu & Sadovy, 2004). These males function only as one sex during their lifetime and are not functional sex-changers according to Sadovy & Shapiro (1987). They also exhibit the same testicular morphology as large males of the genera *Cephalopholis* and *Plectropomus* (Ferreira, 1993; Chan & Sadovy, 2002; Liu & Sadovy, 2004). One individual of *A. afer* presented degenerating tissue of primary oocytes as well as proliferation of spermatogenic tissue, and was considered an immature bisexual female (Fig. 10). This term has been used by several authors (Smith, 1965; Chan & Sadovy, 2002; Liu & Sadovy, 2004) when gonads present a combination of immature testicular tissue and immature ovarian tissue (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008).

Alphestes afer in Brazilian reefs showed functional sex change, that is, from functional female to male. Individuals considered to be secondary males presented developing sperm crypts in ovarian tissue classified as resting, ripe and spent, this last two showing evidences of previous vitellogenic activity. The transitional females showed degeneration of vitellogenic stage oocytes, the proliferation of testicular tissue and muscle bundles (Table 3). The presence of muscle bundle was also observed, what could be an additional evidence as those structures have been considered a reliable indicator for determining previous female function in *Cephalopholis boenak* (Liu & Sadovy, 2004). Males were always smaller than females, but some of the transitionals individuals presented sizes close to the maximum size observed for males. It was noted however, that those were apparently in early stages of transition, with few sparse sperm crypts (Nakamura *et al.*, 2007). A flexible mechanism that incorporates social signs about the size and abundance of conspecifics, as well as state-dependent information about the individual to achieve timing of sex change, has been proposed for hermaphroditic species as an adaptive advantage (Sattar *et al.*, 2008). This mechanism could also explain the wide range at which *A. afer* individuals may change sex from female to male.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

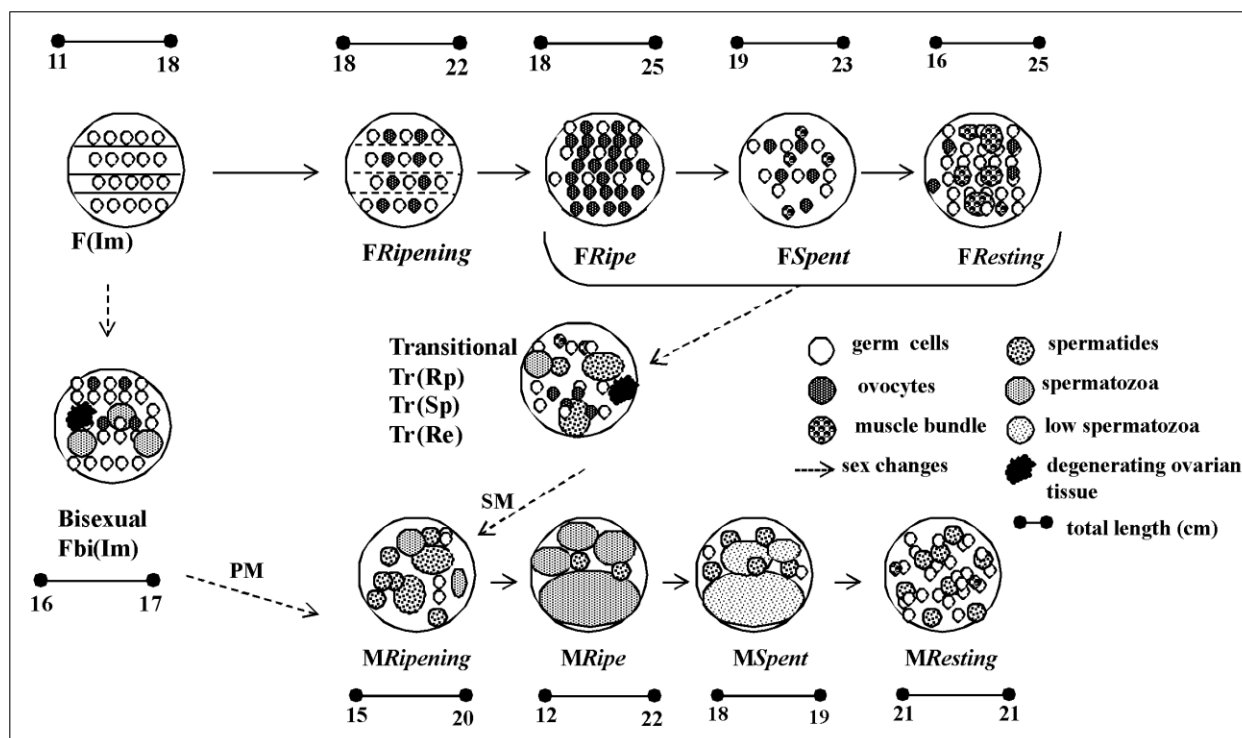


Fig. 10. Pathways of the reproductive cycle of *Alphestes afer* showing the steps of protogynous hermaphroditism according to histological evidences observed. The schematic figures represent a portion of the histological section observed in microscopic (magnification of 400x). Fbi (Im), immature bisexual female; Tr(Rp), transitional ripe; TR(Sp), transitional spent; TR(Re), transitional resting; PM, primary male; SM, secondary male.

Population structure and mechanisms of sex change

Size-advantage model proposes that selection for sex change exists when reproductive success increases with size or age more rapidly for one sex than for the other (Avise & Mank, 2009; Erisman *et al.*, 2009). Also, sex change is favored when an individual reproduces most efficiently as one sex when young or small, and most efficiently as the opposite sex when it gets older or larger (Shapiro, 1988; Munday *et al.*, 2006). The intensity of sexual selection for protogyny varies inversely with local population size and the ability of small males to access females in matings (Warner, 1982).

In mating with random pairing, it should be advantageous to be a male when small (thus mating with larger individuals) and female when large (high capacity for egg production) (Warner, 1984). Moreover, small males increase their reproductive

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

success by accessing females via group spawning (Erisman *et al.*, 2009). The mating pattern for *A. afer* is not known, but for the congener *A. immaculatus*, pair spawning has been reported by Erisman *et al.* (2009).

Erisman *et al.* (2009) proposed the sperm rank competition index (S_R) to evaluate intensity of sperm competition in groupers. They also suggested that higher indexes were observed for species with higher sperm competition, where gonochorism was progressively favoured against protogyny. For *A. afer*, S_R , determined by the relative testes weights, was 3.8; this is an index considered high and related to species that were protogynous or unconfirmed gonochorist (Table 1). Indexes higher than 4.0 have been found in gonochoristic species. According to this model, species with intense sperm competition have large testes and losses of sex change (shifts in sexual pattern from protogyny to gonochorism) are related to shift in the mating group structure from paired to group spawning (Erisman *et al.*, 2009).

For *A. afer*, the development of both primary and secondary males was found. However, males were consistently smaller than females and matured at smaller sizes. These characteristics, added to the high sperm competition index, suggest that this species, while retaining the option of a protogynous pattern, has a reproductive strategy similar to gonochorist epinephelids.

Generally, in protogynous hermaphrodites' populations bigger males represent older individuals while smaller females represent the youngest (Choat & Robertson, 2002; Shapiro, 1987). Sex related differences in growth rates have been reported for several species, and so it is possible that growth rates are reduced after sex change from female to male in *A. afer*. In this case, smaller males could represent older individuals for their size classes than females of the same size. Effects of fishing, truncating the size distribution, could also operate to reducing the maximum size of individuals in the population and also the size of sex transition, and thus increasing the size overlap of sexes (Sattar *et al.*, 2008).

Variants of developmental pathways within the same species are common among protogynous hermaphrodites (Muñoz & Warner, 2004; Rogers, 2003). This work showed that *A. afer* is a diandric protogynous hermaphrodite with two pathways, according to which male could have juvenile sex inversion (primary male) or sex

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

inversion by functional female to secondary male. Further studies of age structure as well as social and mating systems of *A. afer* could provide more insights on the strategies of reproduction and consequences of fishing on populations.

Acknowledgments

We wish to thank J. L. L. Filho for support of Laboratory of Immunopathology Keizo Asami and C. Lima for their assistance in the histological preparations (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE). We are grateful to fishers of Itamaracá, Recife, Tamandaré and São José da Coroa Grande for their help giving access to the landings and in collecting the samples. Special thanks to Instituto Chico Mendes - Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste (ICMBIO - CEPENE) for Laboratorial support. We also thank S. N. Leitão (UFPE) for use of laboratory facilities. Thanks to I. Estevão for help with samples. We thank Y. Sadovy de Mitcheson for her valuable comments and suggestions. This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ – 140166/2007-6).

Literature Cited

- Awise, J. C. & Mank, J. E. 2009. Evolutionary perspectives on hermaphroditism in fishes. *Sexual Development* 3: 152-163.
- Beçak, W. & Paulete, J. 1976. Técnicas de citologia e histologia. Ed. Livros Técnicos e Científicos S. A., São Paulo, 305p.
- Bhandari, R. K., Komuro, H., Higa, M. & Nakamura, M. 2004. Sex Inversion of Sexually Immature Honeycomb Grouper (*Epinephelus merra*) by Aromatase Inhibitor. *Zoological Science* 21: 305–310.
- Carvalho-Filho, A. 1999. Badejos, chernes, garoupas e mero. Pp. 97- 111. In: Carvalho-Filho, A. (Ed.). Peixes da Costa Brasileira. Melro, São Paulo, 320p.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Chan, S. T. H. & Yeung, S. B. 1983. Sex control and sex reversal in fish under natural conditions. Pp. 171-222. In: Hoar, W. S., D. J. Randal & E. M. Donaldson (Eds.). Fish Physiology. London, New York.

Chan, T. T. & Sadovy, Y. 2002. Reproductive biology, age and growth in the chocolate hind, *Cephalopholis boenak* (Bloch, 1790), in Hong Kong. Marine Freshwater Research 53: 791-803.

Choat, J. H. & Robertson, D. R. 2002. Age-based studies on coral reef fishes. Pp. 57-80. In Sale, P.F. (Ed.). Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem. Academic Press, San Diego, 549p.

Coleman, F. C., Koenig, C. C. and Collins, L. A. 1996. Reproductive styles of shallow water-groupers (Pisces: Serranidae) in the eastern Gulf of Mexico and the consequences of fishing spawning aggregations. Environmental Biology of Fishes 47: 129-141.

Craig, M. T., Bartsch, P., Wirtz, P. & Heemstra, P. C. 2006. Redescription and validation of *Alphestes afer* as an amphi-Atlantic grouper species (Perciformes: Serranidae). Cybium 30(4): 327-331.

Erisman, B. E., Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2009. A phylogenetic test of the size-advantage model: evolutionary changes in mating behavior influence the loss of sex change in a fish lineage. The American Naturalist 174(3): E83-E99.

Ferreira, B. P. 1993. Reproduction of the inshore coral trout *Plectropomus maculatus* (Perciformes: Serranidae) from the Central Great Barrier Reef, Australia. Journal of Fish Biology 42: 831-844.

Ferreira, B. P. 1995 Reproduction of the common coral trout *Plectropomus leopardus* (Serranidae: Epinephelinae) from the Great Barrier Reef, Australia. Bulletin of Marine Science 56(2): 653-669.

Ferreira, B. P. & Maida, M. 2006. Monitoramento dos recifes de coral do Brasil. MMA, Brasília, 120p.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Francis, M. P. & Pankhurst, N. W. 1988. Juvenile sex inversion in the New Zealand snapper *Chrysophrys auratus* (Bloch and Schneider, 1801) (Sparidae). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 39: 625-631.

Heemstra, P.C. & Randall, J.E. 1993. FAO species catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. FAO Fisheries Synopsis 125(16): 1-382.

Liu, M. & Sadovy, Y. 2004. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. *Journal of Fish Biology* 65: 987-1002.

Martins, A. S., Olavo, G. & Costa, P. A. S. 2005. A pesca de linha de alto mar realizada por frotas sediadas no Espírito Santo, Brasil. Pp 35-55. In: Costa, P. A., S. A. S. Martins & G. Olavo (Eds.). Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 247p.

Munday, P. L., Buston, P. M. & Warner, R. R. 2006. Diversity and flexibility of sex-change strategies in animals. *Trends in Ecology and Evolution* 21(1): 89-95.

Muñoz, R. C. & Warner, R. R. 2004. Testing a new version of the size-advantage hypothesis for sex change: sperm competition and size-skew effects in the bucktooth parrotfish, *Sparisoma radians*. *Behavioral Ecology* 15(1): 129-136.

Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. Pp. 223-275. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. & Donaldson, E. M. (Eds.). *Fish Physiology*, IX (Part A). London, Academic Press.

Nakamura, M., Alam, M. A., Kobayashi, Y. & Bhandari, R. K. 2007. Role of sex hormones in sex change of grouper. *Special Issue*: 23-27.

Robertson, D. R & Choat, J. H. 1974. Protogynous hermaphroditism and social systems in labrid fish. Pp. 217-225. In: Cameron, A. M., B. M. Cambell, A. B. Cribb, R.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Endean, J. S. Jell, O. A. Jones, P. Mather & F. H. Talbot (Eds.). Proceedings of the 2nd International Coral Reef Symposium. The Great Barrier Reef Committee, Brisbane, 744p.

Rogers, L. 2003. Odds-playing and the timing of sex change in uncertain environments: you bet your wrasse. *Behavioral Ecology* 14(3): 447-450.

Sadovy, Y. & Shapiro, D. Y. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia* 1: 136-156.

Sadovy, Y. & Colin, P. L. 1995. Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. *Journal of Fish Biology* 46: 961-976.

Sadovy, Y. 1994. Grouper stocks in the western central Atlantic: the need for management and management needs. *Proceeding of the Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 43: 43-64.

Sadovy de Mitcheson, Y. & Liu, M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9: 1-43.

Sattar, A. S., Jorgensen, C. & Fiksen, O. 2008. Fisheries-induced evolution of energy and sex allocation. *Bulletin of Marine Science* 83(1): 235-250.

Shapiro, D. Y. 1981. Size, maturation and the social control of sex reversal in the coral reef fish *Anthias squamipinnis* (Peters). *Journal of Zoology* 193: 105-128.

Shapiro, D. Y. 1987. Reproduction in groupers. Pp. 295- 327. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). *Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management*. Westview Press, Colorado, 602p.

Shapiro, D. Y. 1988. Behavioral influences on gene structure and other new ideas concerning sex change in fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 23(4): 283-297.

Smith, C. L. 1959. Hermaphroditism in some serranid fishes from Bermuda. *Michigan Academic of Science, Arts and Letters* 54: 111-119.

*Desenvolvimento sexual e padrão reprodutivo do sapé, *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae): um peixe recifal hermafrodita diândrico*

Smith, C. L. 1965. The patterns of sexuality and classification of serranid fishes. American Museum of Novitates 2207: 1-20.

Smith, W. M. L. & Craig, M. T. 2007. Casting the Percomorph Net Widely: the importance of broad taxonomic sampling in the search for the placement of serranid and percid fishes. Copeia 1: 35–55.

Warner, R. R. 1982. Mating systems, sex change and sexual demography in the rainbow wrasse, *Thalassoma lucasanum*. Copeia 1982(3): 653-661.

Warner, R. R. 1984. Mating behavior and hermaphroditism in coral reef fishes. American Scientist 72: 128-136.

Yamamoto, T. 1969. Sex Differentiation. Pp. 111-174. In: Hoar, W. S. & D. J. Randal (Eds.). Fish Physiology. London, New York, 485p.

Capítulo 3.

IDADE E CRESCIMENTO DE UMA PEQUENA GAROUPA, *ALPHESTES AFER* (TELEOSTEI: EPINEPHELIDAE)



Resumo

A idade e o crescimento da garoupa sapé *Alphestes afer* foi estudada a partir de amostras coletadas no litoral de Pernambuco entre Março 2008 e Fevereiro 2009. Otólitos sagittae inteiros e seccionados apresentaram um padrão alternado de bandas opacas e translúcidas. As leituras dos otólitos inteiros tenderam à subestimativa da idade dos peixes mais velhos quando comparados com as leituras dos otólitos seccionados. A periodicidade da formação do anel foi validada através da marcação com tetraciclina de peixes mantidos em cativeiro. A análise dos otólitos dos peixes marcados mostrou que uma banda opaca, ou anel de crescimento, é formada por ano, depositada entre os meses de Maio e Dezembro. O indivíduo mais velho examinado foi uma fêmea de 13 anos. O modelo de crescimento de von Bertalanffy (VGBF) foi ajustado para os dados de comprimento e idade para fêmeas e machos e os melhores resultados foram obtidos quando o valor de t_0 foi fixado em zero. Os resultados dos parâmetros do VGBF foram: para fêmeas $L_\infty = 21.48$ cm L_T , $K = 0.50$ e para machos $L_\infty = 20.83$ cm L_T , $K = 0.42$. Distribuições de tamanho e idade por sexo apresentaram machos em média menores que as fêmeas de mesma idade. O tamanho (L_{m50}) e idade (A_{m50}) de primeira maturação para fêmeas foi 21 cm T_L e 7 anos. A variação da idade e tamanho para a mudança de sexo foi 16 – 24.9 cm L_T e 4-12 anos. Após a mudança de sexo, o crescimento dos machos foi reduzido, e sua idade máxima registrada foi 10 anos. A taxa de mortalidade total (Z) foi estimada em 0.58. A combinação da mudança de sexo e também a distribuição dos sexos também pode estar relacionada com a exposição à pesca ou à predação. Este estudo mostrou que embora a espécie seja protogínica diândrica, os machos atingiram menores tamanhos com menores taxas de crescimento, um padrão observado para epinefelídeos que desovam em grupo. Cuidados especiais devem ser atendidos para as consequências da exploração da pesca em populações com estas características.

Age validation and growth of a small grouper, the Mutton hamlet *Alphestes afer* (Teleostei: Epinephelidae)**Abstract**

The age and growth of mutton hamlet *Alphestes afer* was studied from samples collected in the Pernambuco Coast (Brazil) between March 2008 and February 2009. Sagittae otoliths presented alternated pattern of opaque and translucent bands and were used whole and sectioned to determine fish age. Whole otoliths readings tended to underestimate age of older fishes when compared with sectioned otoliths. The periodicity of formation of the annulus was validated through tetracycline labeling of fishes kept in captivity. Otoliths of marked fishes showed that one opaque band, or annulus, is formed per year, and that annulus was most probably laid between May and December. The oldest individual examined was a 13 years old female. The von Bertalanffy growth (VBGF) model was adjusted to length at age data for females and males and best results were obtained when t_0 value was fixed to zero. The resulting from VBGF parameters were: for females $L_\infty = 21.48$ cm L_T , $K = 0.50$ and for males $L_\infty = 20.83$ cm L_T , $K = 0.42$. Size and age distributions by sex presented males reaching smaller sizes than females and also at the same age of larger females. The size (L_{m50}) and age (A_{m50}) at sexual maturity for females was 21 cm T_L and 7 years. The size and age range for sex change was 16 – 24.9 cm L_T and 4 -12 years. Males showed slower growth after sex change, and maximum age registered for them was 10 years. The total rate of mortality (Z) was estimated to be 0.58. The combination of sex change and also possibly sex may be related with higher exposition to fisheries or predation. This study shows that although the species is a protogynous diandric, males reach smaller sizes at slower growth rates, a pattern observed for gonochoristic group spawning epinephelids, and thus possibly are differently affected by fisheries. Special care should be paid to the consequences of fishery exploitation in such populations.

Keywords: Age, otolith, sex change, Epinephelidae

Introduction

Fishing has been the most exploratory human activity on coral reefs and caused, above all, a decrease in the stock of many populations and communities of reef fishes (Russ 1991). Groupers (Epinephelidae), with about 160 species, have been one of the major groups of tropical marine fishes exploited by fisheries (Sadovy, 1994; Morris et al., 2000; Sadovy, 2007). Although the concentration of grouper fishery occurs on larger species, smaller species have replaced the larger fish species in multispecies artisanal fisheries (Craig et al., 1999; Choat & Robertson, 2002; Araújo & Martins, 2006; Erisman *et al.* 2010). Groupers present slow growth and late maturation, which make many species of Epinephelidae exploited by fisheries more vulnerable. The growth and mortality rates of exploited grouper species have great variation and the assessment of these factors is necessary for management and conservation of tropical fishes (Choat *et al.*, 2006).

The sagittal otoliths, inorganic structures composed of CaCO₃, have presented very important information about the life cycle and age of fish species. The first year of life and the longevity are key information to assess the rates of growth, mortality and productivity, in particular of exploited species (Campana, 2001). Thus, estimations of growth and age of first maturity, for example, become a minimum requirement for effective fisheries' management of a single species (Thorrold & Hare, 2002).

Alphestes afer (Bloch, 1973) is a small reef grouper, reaching 30 cm of maximum size that occurs mainly in reefs cavities covered with algae at depths between 2 and 50 m. This species is registered for the Atlantic, from Bermuda to southeastern Brazil (Carvalho-Filho, 1999) having been recently recorded in the Gulf of Guinea, West Africa (Craig et al., 2006). There are also some records of fishery landings of *A. afer* in Bermuda, Martinique and St. Croix (Ferreira *et al.*, 2008). In the Brazilian coast, this species is considered common at the north coast and rare between Bahia and Rio de Janeiro (Ferreira *et al.*, 2008).

A. afer is a protogynous hermaphroditic species (Smith, 1959; Marques & Ferreira, 2011a). Other information on the life history of this species and related genera

are scarce. Only one study in the Caribbean has presented a characterization of ring formation on scales of *A. afer* (Munro, 1983). Currently, there is no information about age and growth of this species, which has been intensely exploited by trap fisheries on the northeastern coast of Brazil (Marques & Ferreira, 2011b).

The purpose of this paper is to validate estimations of the age of *A. afer* to assess the longevity, growth and population structure of this species that is commonly caught in reef environments. For this, we aimed at achieving the following objectives: (1) to estimate the age by reading the growth rings on otoliths, (2) to validate the periodicity of formation of growth ring in otoliths, (3) to determine the size and age of first maturity and of sex change, (4) to determine the growth parameters, (5) to estimate the mortality rate of the population.

Material and Methods

Samples of *A. afer* were obtained monthly in three localities on the coast of Pernambuco State: Itamaracá (7°44'S, 34°49'W), Recife (8°04'S, 34°52'W), Tamandaré (8°45'S, 35°05'W) and São José da Coroa Grande (8°53'S, 35°08'W) between March 2008 and February 2010. Samples of fishes were mostly obtained from trap fisheries operating over the continental shelf in depths between 30 to 50 meters. Smaller fishes were obtained from shallow reefs (depths of 3 to 5 meters) of Tamandaré using fence nets. All fishes were measured as total length (L_T) and data of their sex and size of first maturity were extracted from Marques & Ferreira (2011a). In the mutton hamlet, the sagittae are the largest of the three pairs of otoliths and was chosen for readings. The pairs of sagittae otoliths were removed, cleaned, weighed and stored dry.

Age estimation

Otoliths were read as described by Ferreira & Russ (1992). Left otoliths were read whole under reflected light with a dissecting microscope at 16x magnification. The otoliths, with the concave side up, were placed in a black container filled with alcohol 40°. Right sagittal otoliths was embedded in resin and a transverse section (0.3 mm thick) taken through the core of the otolith, using Buehler Isomet low speed saw. Sections were ground on water sand paper (1200, 2000 grade) on both sides, polished

with alumina micropolish and mounted on a glass microscope slide under a cover slip. The slide was viewed under a dissecting microscope using reflected light against a black background. Sagittae otoliths presented alternated pattern of opaque and translucent bands. Opaque zones, or annulus, were counted from the core to the proximal surface of the sagittae along the ventral margin of the sulcus acousticus.

A subsample of 20 whole and sectioned otoliths from smaller to bigger size class of *A. afer* were read by two different observers to record the number and pattern of opaque and translucent zones. After the first reading of subsample all whole and sectioned otoliths were read at least 3 times to estimate the number of opaque zones by one observer. The precision of age estimates was calculated with the Index of Average Percent Error (IAPE) (Beamish and Fournier, 1981). Results obtained from whole and sectioned otoliths were compared by plotting the difference between readings obtained from sectioned and whole otoliths (Section Age – Whole age) against Section Age (Ferreira & Russ, 1994). The results of this comparison indicated that whole otolith readings tended to be lower than readings from sectioned otoliths when more than six rings occurred in the otolith.

Ages were assigned based on opaque zones counts, knowledge of spawning season, the type of otolith margin (opaque or translucent band) and the month of capture. The frequency of opaque and translucent margins were plotted by month. The periodicity of annulus formation was determined with the use of tetracycline labeling.

Validation of ageing method

To examine otolith growth and the timing of opaque zone formation and appearance in the otolith of *A. afer*, a tetracycline labeling (OTC) was used to mark the otoliths of fishes. Six individuals of *A. afer* were caught in shallow reefs of Tamandaré using fence nets between March and June of 2009. These fishes caught remained for a few days for acclimation in an aquarium (60 l) or tank (500 l), according size class. After acclimation, fishes were marked with OTC. Fishes were measured before and after the treatment of OTC (T_L cm). Fishes larger than 12.5 cm (T_L) were injected in the celomic cavity with a dosage of 50 mg of OTC kg⁻¹ at a concentration of 50 mg of OTC ml⁻¹ sterile saline solution (Ferreira & Russ, 1994). Individuals smaller than 12.5 cm

(T_L) were marked by immersing fish in solution of tetracycline and seawater. The concentration used in the immersion was 300 mg l^{-1} and fishes were kept in this solution for 12 h in dark container at night period (Schwamborn & Ferreira, 2002). Fishes marked with OTC were kept in the aquarium and tank with sea water at ambient temperature ($27\text{-}30^\circ\text{C}$) and salinity, and were fed once each day with shrimp or slice of fishes.

The otoliths from all fishes marked with OTC were removed in the end of experiment. The experiment was terminated in July 2010 and the otoliths removed were sectioned as describe above and observed under a compound microscope with an ultraviolet light source (Leica DMRB Photomicroscope). The number of bands between the fluorescent mark and the edge was determined observing the otolith section under an external light source together with the ultraviolet light of the compound microscope (Schwamborn & Ferreira, 2002).

Determination of the age of first annuli formation

To determine time of formation of first annuli, opaque and translucent zones between events for which time of occurrence were recorded (between OTC band and the edge of the otolith). The relative positions of the translucent and opaque zones to OTC band were plotted (Ferreira & Russ, 1994). The position of OTC was used to support the interpretations of what constituted the first annulus. The real measures were standardized to allow comparisons between fish of different ages.

Growth model

The von Bertalanffy growth function (VBGF) was fitted to the size-at-age data of females and males of *A. afer*: $L_t = L_\infty [1 - e^{-k(t-t_0)}]$; where L_t is the L_T at age t , L_∞ is the asymptotic L_T , k is the rate at which the curve approaches the L_∞ and t_0 is the hypothetical age of the fish at zero length. To evaluate the effects absence of juveniles on line and trap fishing, the von Bertalanffy growth equation was fitted first to length at age data without fixed at zero ($t_0 = 0$) for females and males and second to the same data to length at age data fixed at zero (Gwinn *et al.*, 2010). The mean sizes of males and females in different age classes were compared using t -tests.

Size and age at sexual maturity and sex change

The size at sexual maturity (L_{m50}) estimated for females by Marques & Ferreira (2011a) was fitted by a logistic function to the proportion (P_o) of mature fish in size categories (L_T): $P_o = \{1 + [-r(L_{smid} - L_{m50})]\}^{-1}$, where L_{smid} is the midpoint of the L_T class, L_{m50} is the mean L_T at sexual maturity and r is a constant that increases in value with the steepness of the maturation (King, 1997). The same procedure was used to estimate the age at sexual maturity (A_{m50}) using the proportion of mature females in each age class. The size at sex change was estimated from the size ranges of transitional fish and at sex change was also estimated from two rates (Erisman *et al.*, 2010): size range of transitional fish divided by maximum size of fish in samples; and range of overlap in size of males and females divided by maximum size of fish in samples.

Mortality

An estimate of total mortality Z was obtained by using the age-based catch-curve method of Beverton and Holt (1957). The natural logarithm of the number of fishes in each age class (N_t) was plotted against their corresponding age (t), and Z was estimated from descending slope, b .

Results

Two hundred fifty three otoliths from muttom hamlet, ranging from 11.6 to 25.8 cm L_T were collected from landings and shallow reefs. It was registered females from 11 to 26 cm L_T and males from 12 to 22 cm L_T .

Otolith morphology and age estimation

Whole otoliths of *A. afer* are laterally flat structures with a long rostrum and oval shape. The anterior and posterior region showed rounded shape. The distal and proximal faces showed respectively convex and concave shape. The *rostrum* had rounded form, long and prominent and the *anti-rostrum* was small and indented from the *rostrum* (Fig. 1).

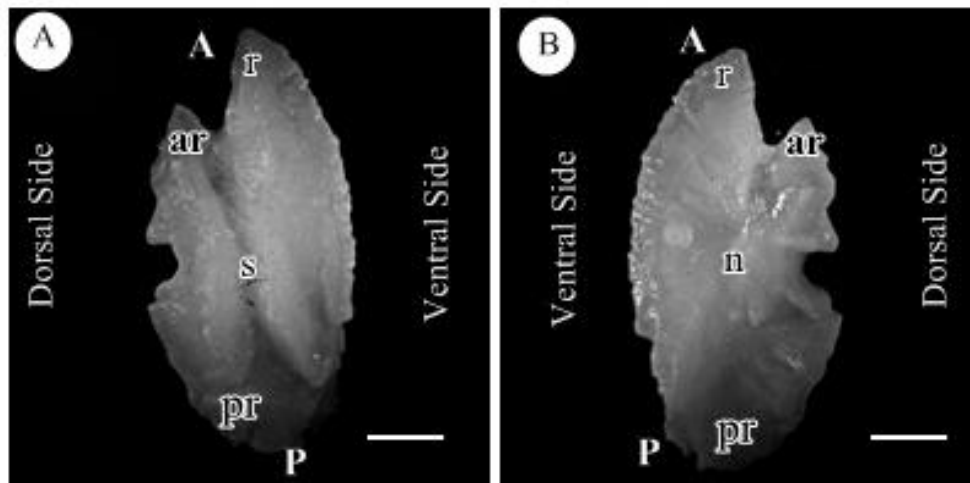


Fig. 1. Whole otolith in face proximal (A) and face distal (B) margins of an 13 years old *A. afer*, under reflected light with black background; A = anterior; P = posterior; s = sulcus acousticus; r = rostrum; ar = antirostrum; pr = post rostrum; n = nucleous. Scale bar = 1 mm.

In the *A. afer*, the sagittae presented a pattern of alternating translucent annuli and wide opaque annuli (zones) with distinguishable, although not sharp, contrast between zones (Fig.2). The first annuli presented the same thickness than the subsequent ones in sectioned otoliths.

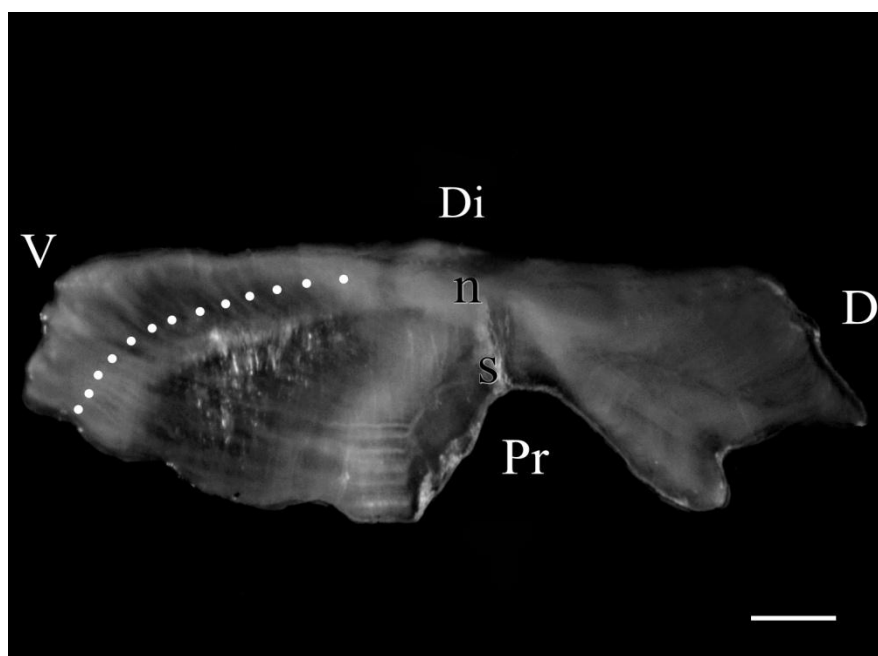


Fig. 2. Sectioned otolith of an 13 years old *A. afer* showing alternating pattern of translucent and opaque zones (white circles); D = dorsal; V = ventral; Di = distal face; Pr = proximal face; S = sulcus acousticus; n = nucleus. Scale bar = 1 mm.

Annuli in whole otoliths of *A. afer* were counted along the ventral and dorsal side, where up to 10 rings were counted in some otoliths. The readings from whole otoliths tended to be lower than readings from sectioned otoliths when more than three rings were present, and this tendency increased with the mean number of rings after 6 rings (Fig.3). A comparison between results of counting realized on whole and sectioned otoliths showed that the Index Average Percent Error (IAPE) of Beamish and Fournier (1981) was major for counts performed on whole (15.6%) than for counts performed on sectioned otoliths (9.9%).

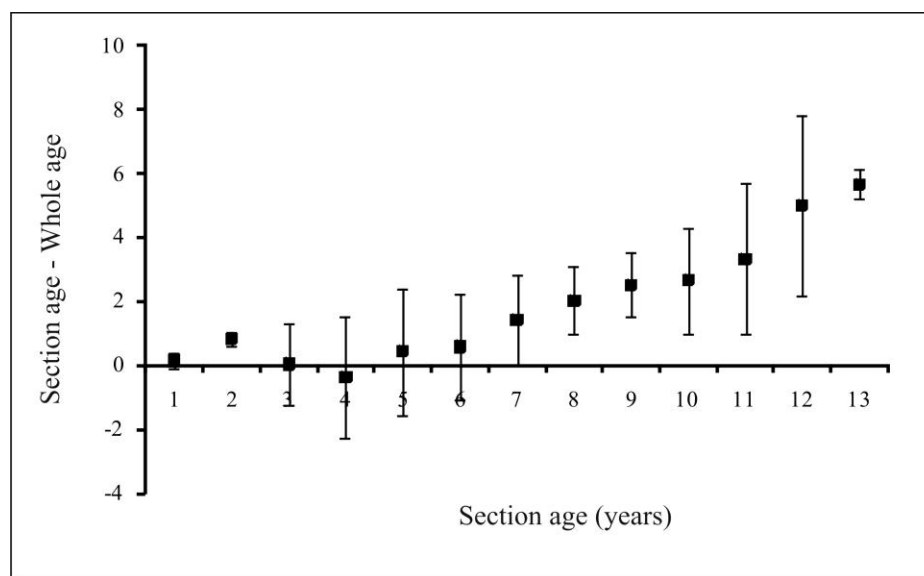


Fig. 3. Average difference between counts obtained from sectioned and whole otoliths of *A. afer*, plotted against section age. Error bars show standard error.

The analysis of the type of margin (opaque or translucent) present on sectioned otoliths of *A. afer* was grouped bimonthly and showed a repeated seasonal pattern of more opaque zones observed during months of winter to beginning of spring (May-September) and more translucent zones during the summer to beginning of winter (January-April) (Fig.4).

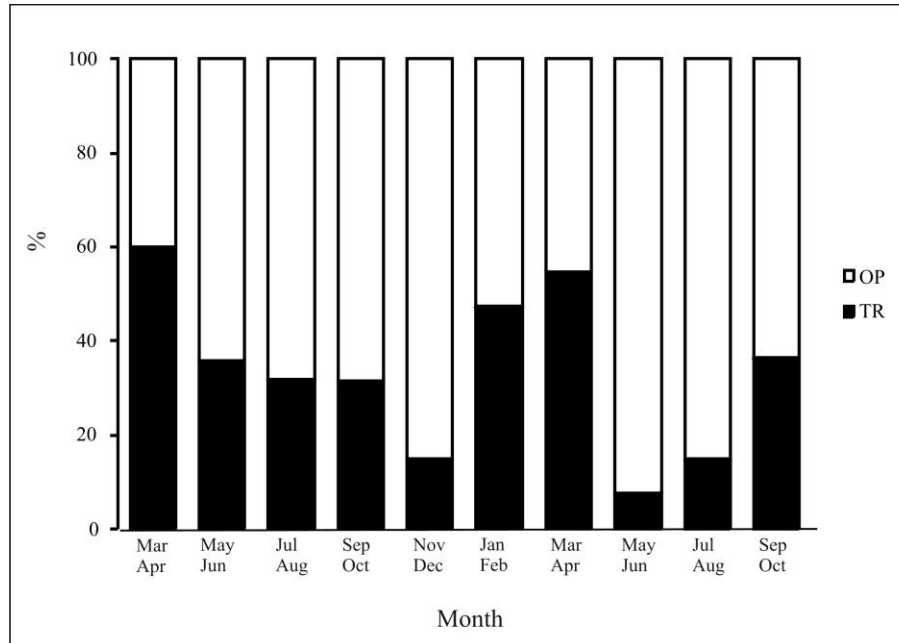


Fig. 4. Bimonthly variation of otolith margin (opaque or translucent margin) of *A. afer* between March 2008 and October 2009.

Validation and annuli formation

Fishes grew up from 1 to 2 cm (127-365 days). A single fish, larger than 20 cm L_T , grew up 0.9 cm in 238 days (Table 1).

Table.1. Summary of age validation experiments in aquaria for *A. afer*.

Code	L_{T1} (cm)	L_{T2} (cm)	$L_{T1} - L_{T2}$	Time Experiment (days)	Age (years)
1	14.2	15.4	1.2	185	3+
2	12.4	14	1.6	196	1+
3	11.0	11.9	0.9	141	1+
4	12.5	13.5	1	127	1+
5	22.0	22.9	0.9	238	6
6	18.0	20.6	2.6	365	6+

L_{T1} , total length before treatment with OTC; L_{T2} , total length after treatment with OTC.

All fishes treated with tetracycline displayed fluorescent marks in their otoliths (Fig.5A). The results obtained for captive fish, ranging in age from one to six years, showed that annuli are formed once per year (Fig.5B, 6). The relative and observed position of opaque and translucent bands, determined by tetracycline labeling and observation of type of margin was represented in Fig. 6. The formation of translucent band was observed in March for Fish 1 (OTC mark) and Fish 5 (margin type) (Fig. 6).

The position of translucent zone in otoliths of all experimental fishes was thus aligned in March as a supposed period of occurrence for schematic representation purposes (Fig. 6). The formation of the opaque band was observed to occur between May and December (M-D), as observed for Fishes 2 to 6 (Fig. 6), by OTC marks and margin types.

The first ring is formed in the otoliths of the juvenile *A. afer* during the first year of life. After deposition of an opaque nucleus, a translucent band is laid, followed by an opaque band totally formed by their first anniversary. Thus, juvenile fishes with 1 year in 2009 probably were born after reproductive period of 2007 (August-September) and settled by the end of 2007 (Fig.6). The first of January was thus adopted as the 1st of January for ageing purposes (Fig.6).

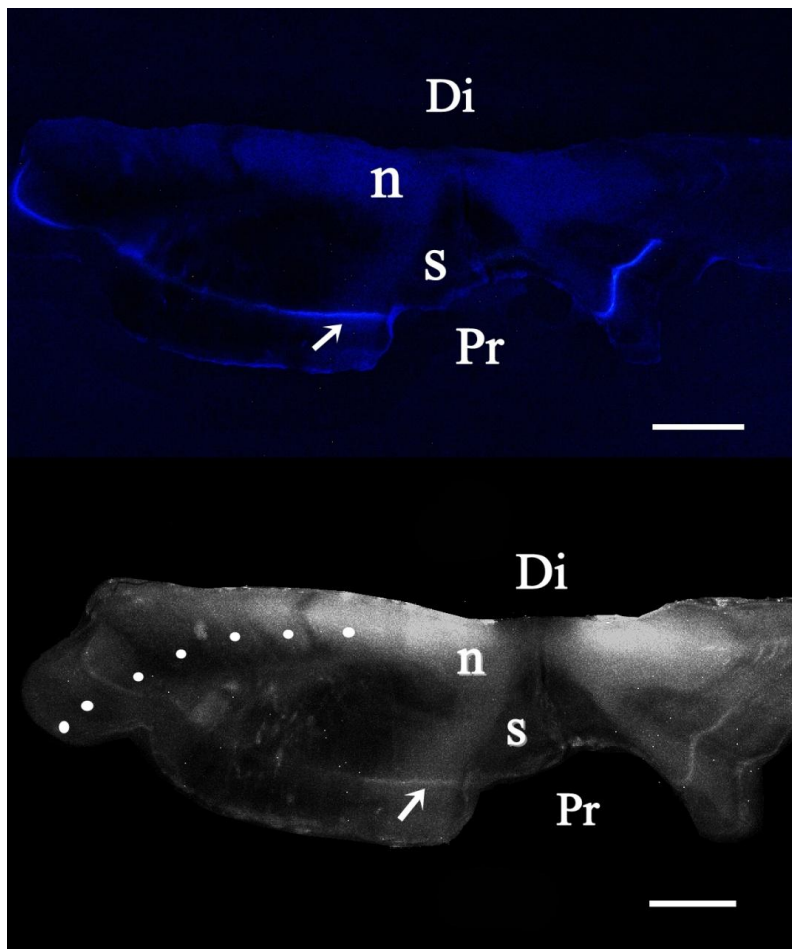


Fig. 5. Sectioned otolith of an experimental individual of 6 years old *A. afer*, showing fluorescent band (arrows); (A) = otolith observed under a compound microscope with an ultraviolet light, Scale Bar = 2.4 μm ; (B) = otolith observed under an external light together with the ultraviolet light of the compound microscope. Scale Bar = 2.4 μm ; Di = distal; Pr = proximal; S = sulcus acousticus; n = nucleus. This otolith corresponds a fish number 6 of Fig. 6.

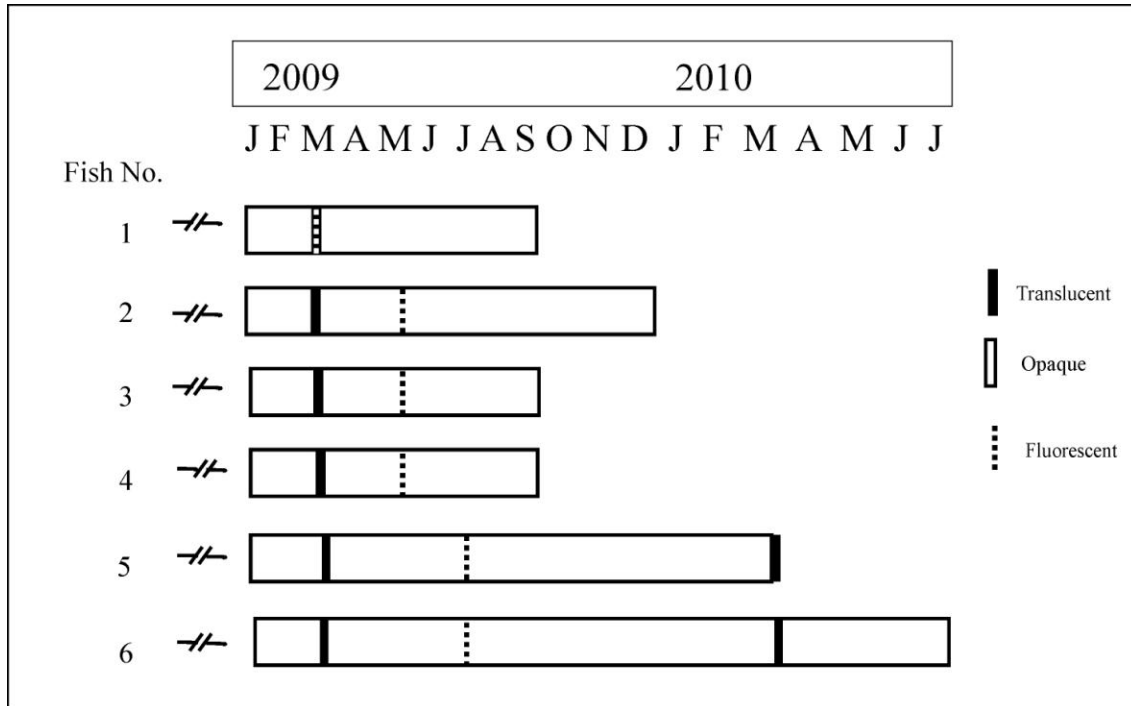


Fig. 6. Diagrammatic representation of otoliths of tetracycline treated *A. afer*, showing relative positions of the fluorescent band, otolith margin, translucent and opaque zones observed along the margin of the sulcus acousticus. Time of tetracycline treatment and time of death (end of bars) are assigned to the months indicated in the top. Time of formation of opaque or translucent zones between this period was assumed. The (-/-) symbol represents otolith region before the experiment.

Growth Model

Only individuals larger than 10 cm T_L were captured by trap fishery. Consequently, the 0 age class was not represented in this sample and the age 1 year class (11-13 cm T_L) was represented by only three individuals collected in additional samples using fence nets (Fig. 8).

The VBGF without $t_0 = 0$ was much slower for males than females' classes, as indicated by the growth coefficient K . Consequently, the estimated L_∞ of males was larger and the estimated t_0 also was larger. The resulting growth model was (Fig. 8A)

$$(\text{Females}) L_t = 23.74 [1 - e^{-0.23(t-2.03)}] r^2 = 0.75$$

$$(\text{Males}) L_t = 31.04 [1 - e^{-0.07(t-5.83)}] r^2 = 0.64$$

The VGBF for females and males with curve fitted to length at age data fixed at zero ($t_0 = 0$), in form of a von Bertalanffy model, was (Fig. 8B)

$$(\text{Females}) L_t = 21.48 [1 - e^{-0.50(t-0)}] r^2 = 0.71$$

$$(\text{Males}) L_t = 20.83 [1 - e^{-0.42(t-0)}] r^2 = 0.59$$

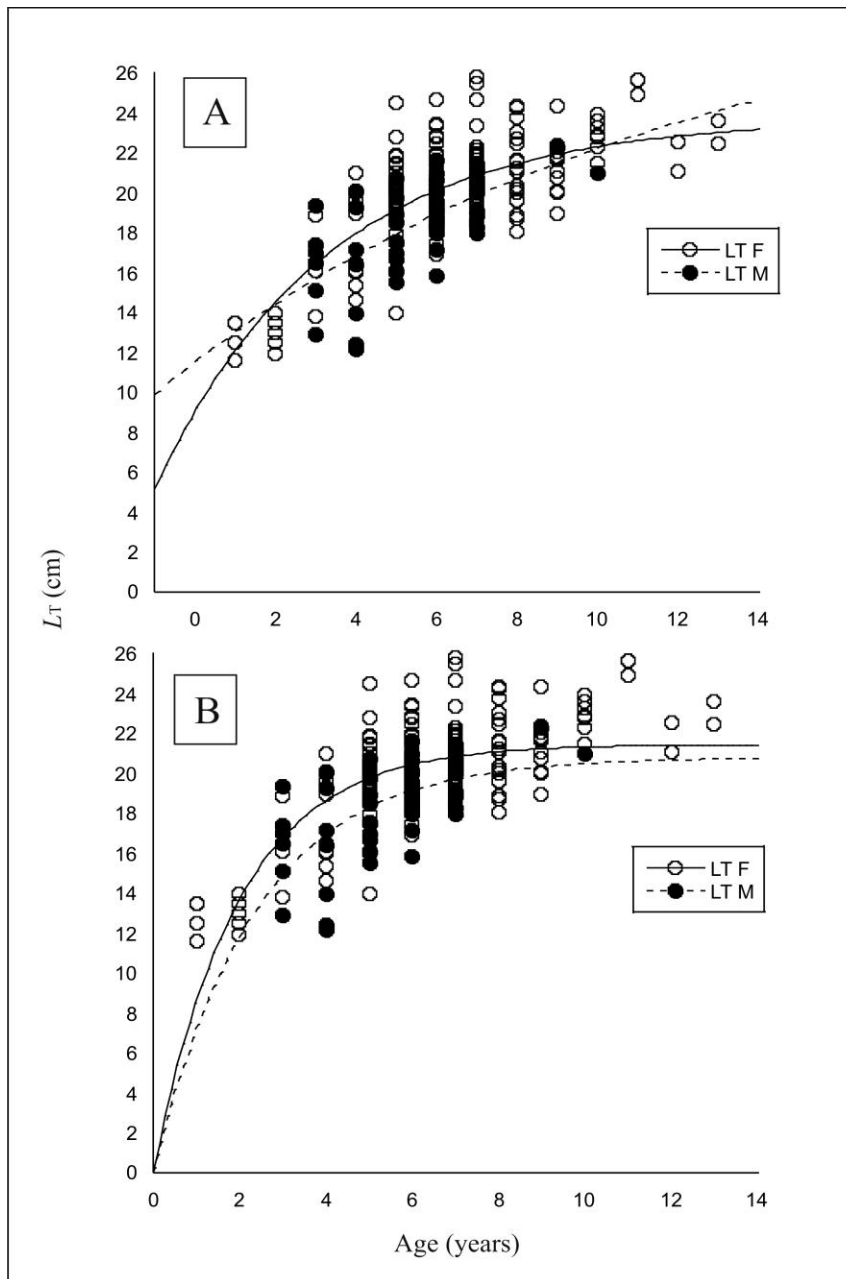


Fig. 8. von Bertalanffy growth curve fitted to length at age data of females (LTF; n=197) and males (LT M; n=56) of *A. afer*. (A) curve fitted to length at age data without fixed at zero; (B) curve fitted to length at age data fixed at zero ($t_0 = 0$).

The age-at-length results for *A. afer* showed that the larger individuals (26 cm) were younger (11 years) than smaller individuals (13 years, 21-22 cm). Juvenile females (1-3 years) grew faster, and the older showed slower growth. Males were smaller (12-21 cm L_T) than females (11-26 cm L_T). The smaller males had the same age of larger females showing they have slower growth after sex change (Fig.8). The juvenile males less than 11 cm L_T were not captured from trap fishing and fence nets. The sizes of males and females in different age classes showed significant differences (t -test, $P < 0.05$) (Fig. 9).

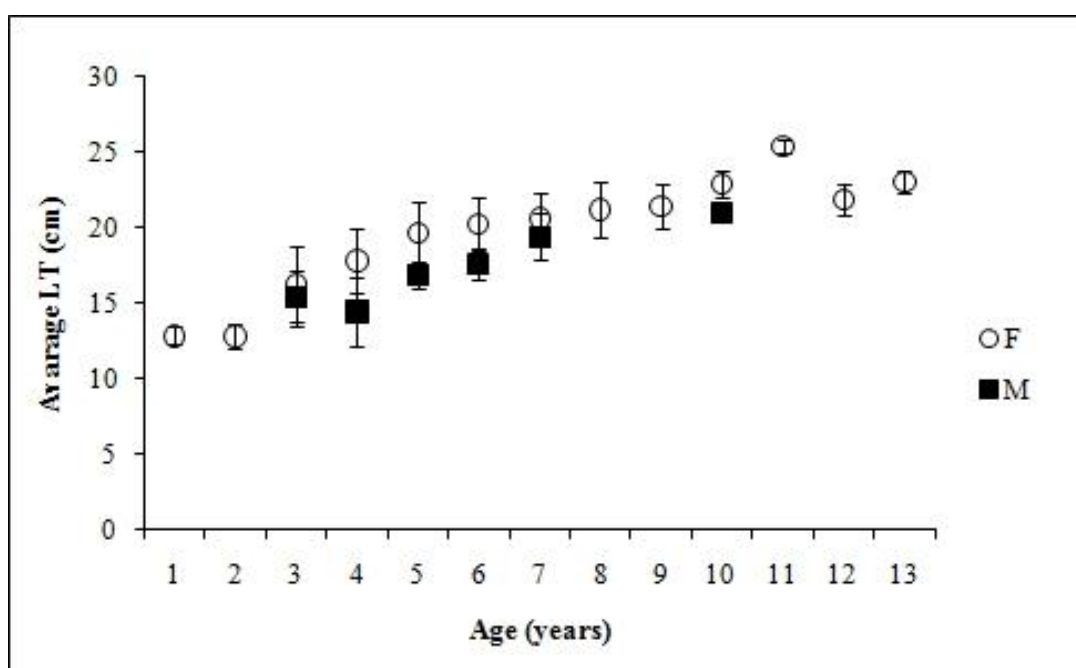


Fig. 9. Average of total length (LT) by age group of females (F) and males (M) of *Alphestes afer*. Error bars show standard error.

Size and age at maturity and sex change

All males were sexually mature by 12 cm L_T (4 years) and were smaller and younger than mature females (Fig. 9A). The single largest male found was by 22 cm T_L with 9 years. Only one male of *A. afer* larger than 22 cm were captured by fishing traps in Itamaracá. The modal size of females of *A. afer* (22 cm L_T) was larger than males (18 cm L_T) (Fig.9B). The L_{m50} and A_{m50} at sexual maturity for females were 18 cm T_L and

approximately 6 years (Fig.10). All females above 22 cm T_L were sexually mature by 7-8 years.

The estimated size range for sex change was 16 – 24.9 cm L_T from the lengths of bisexual and transitional, and 18 – 21.7 cm L_T from size overlap of males and females mature, which equates to 62 – 97% of maximum body size. The sixteen transitional females found were from 17-25 cm and 5-11 years of age (Fig.10), which equates to 38 - 85% of maximum age. The estimated age range for sex change was 4 -12 years from the age overlap of males and females or 31 – 92% of maximum age. These estimated age showed close to the age of transitional found. Only one immature bisexual was collected with 16 cm T_L and 4 years.

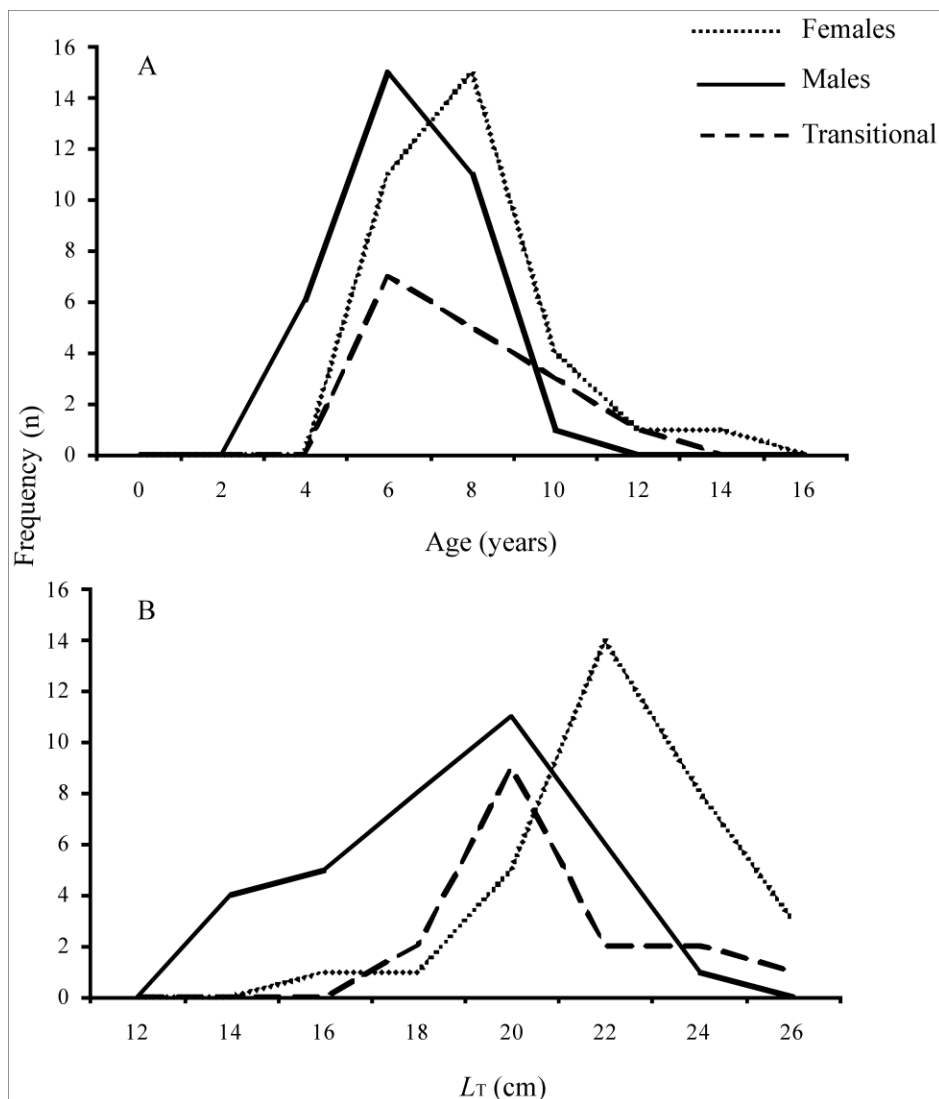


Fig. 10. Age (A) and size (B) distribution of females, males and transitional of *A. afer* (n=253).

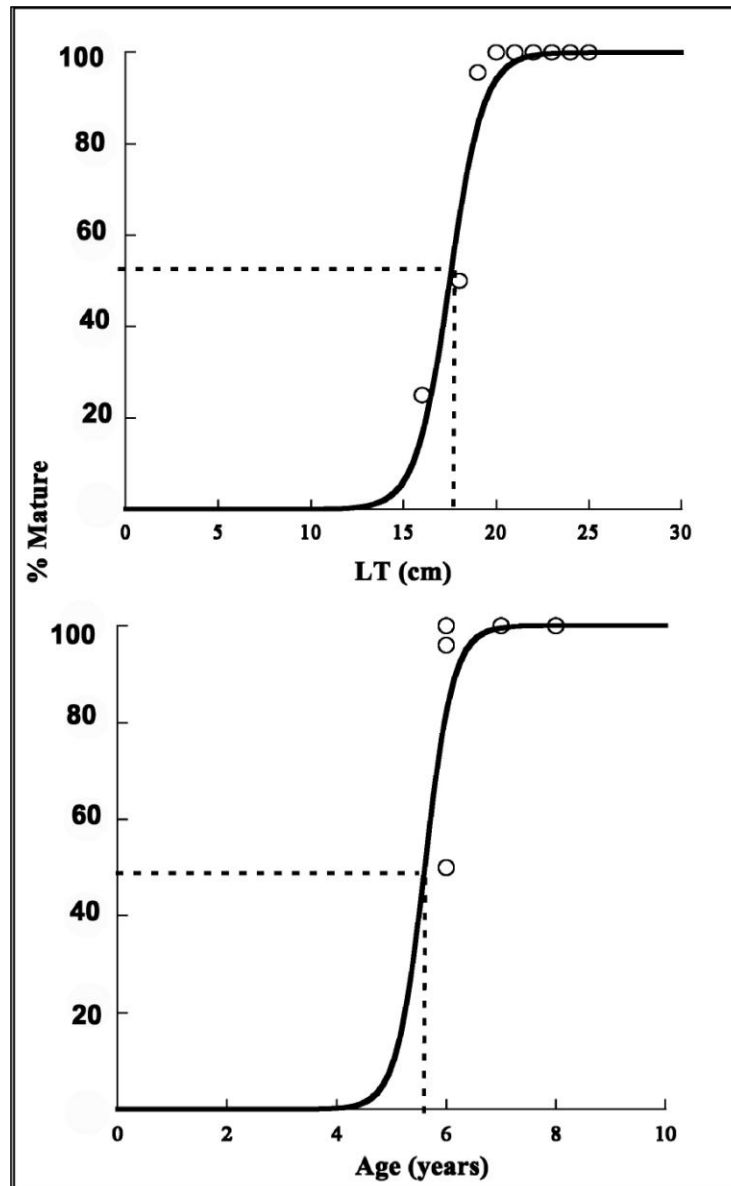


Fig. 11. Logistic maturation curves for female *A. afer* showing (A) the mean total length (LT) at first sexual maturity and (B) the mean age at first sexual maturity, and the mean size (Lm50) and age (Am50) at 50% sexual maturity (n=197).

Mortality

The total rate mortality Z of *A. afer* estimated using ages from 6 to 13 years, was $0.58.\text{yr}^{-1}$ which is equivalent to 45%, representing a survivorship of approximately 55% (Fig.12). Younger fish from 1 to 5 years were not fully recruited in sampled population and were excluded from the mortality estimates.

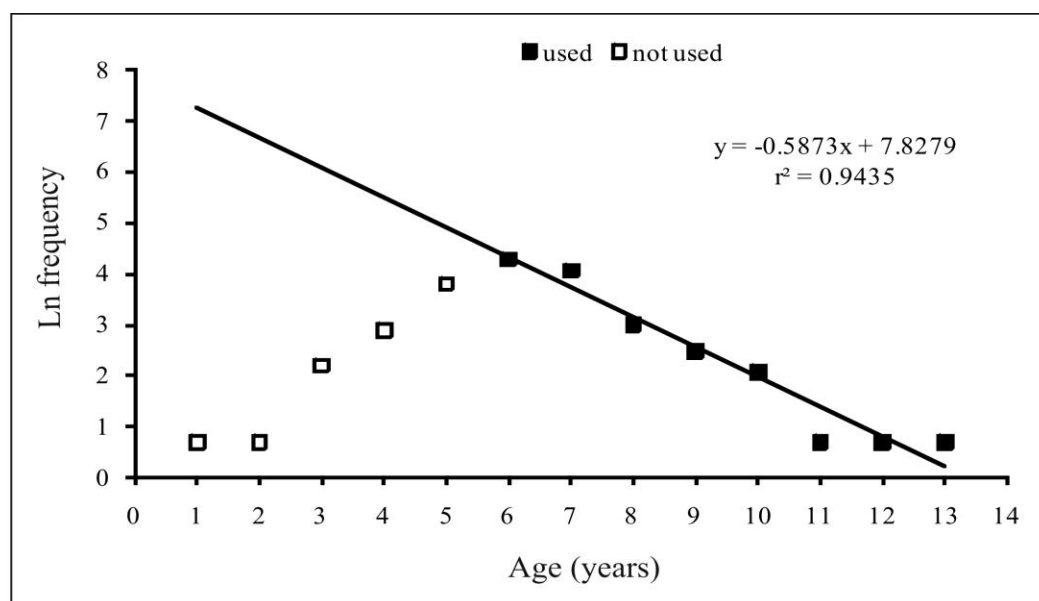


Fig. 12. Catch curve based on observed age of *A. afer* (n=253).

Discussion

Age estimation and periodicity of annuli formation

The age estimation on the surface of otoliths involves an external and detailed examination of whole otoliths (Campana, 2001) and this estimation is closely related to the type of growth of the otolith. The otoliths generally have asymmetrical and radial growth, thus reading sectioned otoliths has shown more details of the growth rings making it more real than reading whole otoliths (Fujiwara & Hankin, 1988). The otolith growth of *A. afer* was asymmetric, and the last rings of older individuals (> 7 years) were not observed during the readings of whole otoliths. The pattern and accuracy of sectioned otoliths readings of *A. afer* was better than the reading pattern of the whole otoliths as confirmed by the IAPE (Beamish & Fournier, 1981; Campana, 2001).

Several factors may act synergistically in the formation of otoliths rings of fish, among them are metabolism (Campana & Neilson, 1985), water temperature, photoperiod, feeding rate, reproductive period (Manooch, 1987; Schwamborn & Ferreira, 2002; Villamil *et al.*, 2002). The seasonal pattern of ring formation in marine fishes has showed variations between tropical (Stewart & Huges, 2007) and subtropical regions (Reñones *et al.*, 2007). In epinephelids of tropical regions, some species showed seasonality pattern of ring formation records ranging from the winter (Araújo & Martins

2006) to spring (Ferreira & Russ, 1992; Ferreira & Russ, 1994). The marginal zone of sectioned otoliths of *A. afer* showed a pattern of seasonal formation. The opaque zone was formed mainly during winter and early summer (May to December) when the fish were between the resting and post spawning phase; translucent zone was identified during summer (January to March) when individuals were at the beginning of resting period (Marques & Ferreira, 2011a).

The long period of opaque zone formation could be associated with larger period of feeding when fishes accumulate energy and the short period of translucent zone formation could be associated with short period of physiologic stress during reproductive period (Villamil *et al.*, 2002). During the main period of opaque zone formation, *A. afer* showed larger amount of mesenteric fat stored and this energy was reduced during reproductive period (Marques & Ferreira, 2011a). The growth of fish otoliths may be related more to chemical process that are directly affected by temperature than metabolic process that affect protein anabolism (Ferreira & Russ, 1992).

Plot of margin types observed for *A. afer* suggests that both opaque and translucent bands can be under formation in some individuals in any given month of the year, although their probability showed a clear trend. Sometimes seasonality of opaque zone determination could be difficult because little variations in the environmental conditions can generate misinterpretations (Bustos *et al.*, 2009). Another possible factor generating lack of a distinct pattern in type of margin analysis could be the difficulty of determining the type of margin, since the opaque band is wider and their boundaries are not sharp, thus allowing for error in the interpretation of margin types especially at the onset of their formation. Therefore, direct validation, such as the use of OTC labeling, seems to be the best option for determining periodicity of annulus formation.

The identification of the first growth annuli is an important component of any study of age validation. For most species of reef fish, the validation of age with chemical marks has been a trivial recommendation to obtain the precise age (Campana, 2001; Choat & Robertson, 2002). However, in many taxa the estimation of the frequency of annual growth marks has not been validated (Campana, 1984). Thus, the

imprecise use of age has caused serious errors in management and ecological knowledge of the fished species (Beamish & McFarlane, 1983; Campana, 2001). The juveniles of *A. afer* marked with OTC showed similar pattern of the marginal zone of adults indicating that the formation of each opaque zone was observed between the winter and in early summer (May to December) and the presence of translucent ring was observed in the end of summer (March). This pattern also confirmed the formation of one opaque and translucent ring per year.

The period of larval life of epinephelids occurs between 3 weeks and 2 months after spawning (Colin *et al.*, 1987) and the period of recruitment has been reported for some species groupers of tropical region during the summer months (January-March) (Ferreira & Russ, 1992). The spawning period of *A. afer* in northeastern Brazil occurs between the end of winter and the beginning of spring (August-October) (Marques & Ferreira, 2011a). Therefore it is likely that settlement of *A. afer* in the reefs occurs during the summer months (December-March) and the formation of the first ring (opaque increment) happens in winter-summer (May-December), around 9 months of age.

Growth Model

As often is the case for samples obtained from fishery landings, only the part of the population fully recruited to the fisheries are well represented (Ferreira & Russ, 1992; Gwinn *et al.*, 2010). To counter balance the selectivity of fishing against smaller sizes and the effects of their absence on the estimates of growth parameters obtained from length at age data, Gwinn *et al.* (2010) suggests setting t_0 age at zero. For *A. afer* individuals smaller than 11 cm L_T and at age class 0 were not represented in the sample, so setting t_0 at zero was considered the best strategy to obtain L_∞ and K parameters had best represented the fish population. In general, the t_0 values obtained in VBGF, and other studies carried out on groupers, are negative (Díaz-Urbe *et al.*, 2001; Chan & Sadovy, 2002; Bustos *et al.*, 2009). Related to this, the negative values of t_0 are frequent between species with rapid growth in their first phases of life (Bustos *et al.*, 2009). *A. afer* showed t_0 negative when the VBGF was not fixed t_0 at zero and absence of smaller sizes at age class 0 indicated rapid growth during this phase of life.

Size and age at maturity and sex change

The growth differences between sexes of protogynous species and the mechanisms of sex change have important implications for management (Armsworth, 2001; Choat & Robertson, 2002). Generally the population structure of groupers species of smaller classes is dominated by females and larger classes are dominated by males, indicating hermaphroditism. Therefore, larger males represent the older components of a population, while smaller females represent the younger components (Sadovy & Colin, 1995; Choat & Robertson, 2002). The results of *A. afer* showed a different population structure than presented for protogynous groupers, with males smaller and younger than females. These juvenile males reached the size of first maturity with only 12 cm L_T and 4 years old. Unlike the males, the females reached sexual maturity at older age and larger class sizes (18 cm L_T , 6 years).

The sex change during juvenile phase of groupers in their natural habitat has been recorded in diandric protogynous hermaphroditic species in which sex change occurs in two ways with males originated from immature females (primary males and juveniles) and mature females (older secondary males) (Liu & Sadovy, 2004a, b; Siau, 2005; Liu & Sadovy de Mitcheson, 2010). Recent studies indicated that *A. afer* is a diandric protogynous hermaphroditic species with primary and secondary males (Marques & Ferreira, 2011a). The results of transitional females of *A. afer* (5-11 years) and of the estimated age of sex change (4-12 years) confirmed that sex change occurs in juvenile and adult females.

Studies on the evolution of hermaphroditism in reef fish species suggest that sex change in the juvenile phase is a secondary development from the ancestral of diandric protogynous hermaphroditism toward gonochorism (Alekseev, 1983; Francis & Pankhurst, 1988). Although most species of the Epinephelidae family are hermaphrodites, some species of this family have shown a gonochorism behavior (*Parablax clathratus*, *P. nebulifer*, *Epinephelus striatus*) (Sadovy & Colin, 1995; Hovey *et al.* 2002; Erisman & Allen, 2006). Studies of *E. striatus* (previously thought to be hermaphrodite by Smith, 1959) indicated gonochorism with reports of smaller and younger males than females (Colin, 1992; Sadovy & Colin, 1995). Currently *E. striatus* is a case of functional gonochorism with some smaller and younger males derived

directly from juvenile bisexual females (Sadovy & Colin, 1995). For *A. afer*, the presence of smaller immature females and larger mature females with sperm crypts (Marques & Ferreira 2011a) showed a similar pattern of diandric protogynous as described for species like *Epinephelus coioides* (Liu & Sadovy de Mitcheson, 2009; Liu & Sadovy de Mitcheson, 2010) and *Cephalopholis boenak* (Liu & Sadovy, 2004; Chan & Sadovy, 2002). Chan & Sadovy (2002) observed juvenile males of *C. boenak* between 1 and 4 years and older males with 11 years. However all males of *A. afer* were smaller and younger (3-10 years) than females (1-13 years) and sex change in juvenile phase suggest this species has a reproductive strategy similar to gonochorist epinephelids (Erisman *et al.*, 2009; Marques & Ferreira, 2011a).

Records from other protogynous hermaphroditic reef fish species have cited sex change in immature females due to the absence of males within the group (Warner, 1984). Several experimental studies in captivity also tested the sex change of protogynous hermaphrodite epinephelids investigating the influence of sexual factors on sex change of females (Shapiro, 1981; Mackie, 2003; Liu & Sadovy, 2004b). According to Liu & Sadovy (2004b), the experiment in captivity with *C. boenak* showed that isolated juvenile individuals without sexual differentiation change sex from females to males and from males to females (bidirectional). Thus, sexual differentiation in adult and juvenile phases is influenced by social factors of a protogynous hermaphrodite population according to the absence of males and also with the absence of females. The juvenile *A. afer* in experiments with OTC for validation of age were kept isolated or in pairs (11-22 cm T_L) for a period of 127 to 196 days; after the experiments their gonads were histologically examined indicating only immature females. The rule of sex determination of *A. afer* during their growth is not known, but is strongly driven by sexual differentiation in the juvenile phase. Further investigation of the social structure of their populations is required. The record of sex change in *A. afer* in the juvenile phase and in the lower classes of adult females showed the sexual plasticity of this species.

Mortality

To understand the exploitation of the stocks of protogynous reef fish is necessary to investigate various causes to determine possible consequences. Several lines of research are based on monitoring populations of caught protogynous species for evaluating various impacts on: the sex ratio of males and females, sex change in different size classes, and the spawning aggregation (Levin & Grimes, 2002). According to the fishing traps exploitation on the coast of Pernambuco in the last years (Marques & Ferreira, 2011b) is likely that populations of *A. afer* have suffered various effects on their spatial distribution by size class, age and sexual structure. The effect of fishing traps on the population of *A. afer* males may have limited the replacement of stocks in the short term due to the slow growth of males after sex change in the juvenile phase and the smaller classes of adult females. Another possibility is that these older and larger females occur in different habitats and depths (Coleman *et al.*, 1996) than the mainly exploited locals by fishing traps.

Mortality estimations of the population of a protogynous species in fishery are important tools to analyze the loss of larger females and consequently the reduction of size classes of secondary and older male (Ferreira & Russ, 1992). The estimation of Z (0.58) with the older ages of 6-13 years of *A. afer* may indicate the absence of larger and older individuals in the samples. This situation is expected in fish stocks that are suffering fishing pressure (Russ, 1991). Also the combination of sex change and possibly sex related higher exposition to fisheries or predation.

Fisheries and Conservation

A. afer is a common species that inhabits shallow waters and has wide distribution in western Atlantic. This species is not a main target of any fisheries but is caught often on multispecies fisheries in Brazil. On the northeastern coast of Brazil, small species of groupers have been frequently caught in fishing and have rarely been represented in fishery statistics as a separate category (Ferreira & Maida, 2006) but have been included in classes with other reef fish families (IBAMA, 2005, Martins *et al.*, 2005). In this study, *A. afer* was captured in northeastern Brazil with high frequency in

fishing traps in the coastal reefs and the continental shelf (Marques and Ferreira, 2011a).

Recent evaluations by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) classified *A. afer* with a status of least concern as the species is common species and not a target in any region (Ferreira *et al.*, 2008). However it was also noted the shallow distribution in heavily fished areas, such as in Northeastern Brazil and the paucity of landings data was reason for concern, especially considering. For these reasons, the species warrants close scrutiny, as it could become threatened in the future. This present study concludes that the fished populations of *A. afer* (juveniles and adults), with maximum longevity of 13 year and late maturity of females, may become vulnerable if fishing of reef fishes in northeastern Brazil remains uncontrolled. These threats are primarily aimed at sex and age structure of the population that may be modifying their reproductive pattern as well as reducing the size classes of the older individuals of the population. Monitoring the effects of fishery on sizes and age classes of female and males is urgently needed to help the management plans and the conservation of the stocks of this species.

Acknowledgments

We wish to thank to fishers of Itamaracá, Recife, Tamandaré and São José da Coroa Grande for their help giving access to the landings and in collecting the samples. We also thank to fisher Erivan da Silva Bandeira for help with samples in shallow reefs of Tamandaré. We wish to thank José Luiz de Lima Filho for support of Laboratory of Immunopathology Keizo Asami and Carmelita de Lima for their assistance in the histological preparations (Universidade Federal de Pernambuco - UFPE). Special thanks to Instituto Chico Mendes - Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste (ICMBIO - CEPENE) for Laboratorial support. Also special thanks to Dr. Marcelo dos Santos Guerra Filho of Laboratory of Cytogenetics for use Leica DMRB Photomicroscope equipped with ultraviolet light and Leica DC 300F video camera. Thanks to Inês Estevão for help with samples and maintenance of fishes in aquariums and tanks. This work was supported by grants from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ – 140166/2007-6).

References

- Alekseev, F. E. 1983. Hermaphroditism in porgies (Perciformes, Sparidae). II. Sexual structure of the populations, mechanism of its formation and evolution in sups, *Pagrus pagrus*, *P. orphus*, *P. ehrenbergi*, and *P. auriga*. *Journal of Ichthyology* 23: 61-73.
- Araújo, J. N. & Martins, A. S. 2006. Age and growth of coney (*Cephalopholis fulva*), from the central coast of Brazil. *Journal of Marine Biology* 86: 4946/1-5.
- Armstrong, P. R. 2001. Effects of fishing on a protogynous hermaphrodite. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58: 568-578.
- Beamish, R. J. & Fournier, D. A. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 982-983.
- Beamish, R. J. & McFarlane, G. A. 1983. The forgotten requirement for age validation in fisheries biology. *Transactions of the American Fisheries Society* 112: 735-743.
- Beverton, R. J. H. & Holt, S. J. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. Fishery Investigations Series II No. 19. 533 pp.
- Bustos, R.; Luque, A. & Pajuelo, J. G. 2009. Age estimation and growth pattern of the island grouper, *Mycteroperca fusca* (Serranidae) in an island population on the northwest coast of Africa. *Scientia Marina* 73(2): 319-328.
- Campana, S. E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* 59: 197-242.
- Campana, S. E. & Neilson, J. D. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal Fish Aquatic Science* 42: 1014-1032.
- Campana, S. E. 1984. Comparison of age determination methods for the Starry Flounder. *Transactions of the American Fisheries Society* 113: 365-369.
- Carvalho-Filho, A. 1999. Badejos, chernes, garoupas e mero. Pp. 97- 111. In: Carvalho-Filho, A. (Ed.). Peixes da Costa Brasileira. Melro, São Paulo, 320p.

Chan, T. C. & Sadovy, Y. 2002. Reproductive biology, age and growth in the chocolate hind, *Cephalopholis boenak* (Bloch, 1790), in Hong Kong. *Marine and Freshwater Research* 53: 791-803.

Choat, J. H.; Davies, C. R.; Ackerman, J. L., Ackerman & Mapstone, B. D. 2006. Age structure and growth in a large teleost, *Cheileinus undulatus*, with a review of size distribution in labrid fishes. *Marine Ecology Progress Series* 318: 237-246.

Choat, J. H. & Robertson, D. R. 2002. Age-based studies on coral reef fishes. Pp. 57-80. In Sale, P.F. (Ed.). *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem*. Academic Press, San Diego, 549p.

Coleman, F. C., Koenig, C. C. & Collins, L. A. 1996. Reproductive styles of shallow water-groupers (Pisces: Serranidae) in the eastern Gulf of Mexico and the consequences of fishing spawning aggregations. *Environmental Biology of Fishes* 47: 129-141.

Colin, P. L. 1992. Reproduction of the Nassau grouper, *Epinephelus striatus* (Pisces: Serranidae) and its relationship to environmental conditions. *Environmental Biology of Fishes* 34: 357-377.

Colin, P. L., D. Y. Shapiro, & D. Weiler. 1987. Aspects of the reproduction of two species of groupers. *Epinephelus guttatus* and *E. striatus* in the West Indies. *Bulletin of Marine Science*. 40(2): 220-230.

Craig M. T., Pondella, D. J. & Hafner, J. C. 1999. Analysis of age and growth in two eastern pacific groupers (Serranidae: Epinephelinae). *Bulletin of Marine Science* 65(3): 807-814.

Craig M. T., Bartsch, P., Wirtz, P. & Heemstra, P. C. 2006. Redescription and validation of *Alphestes afer* as an amphi-Atlantic grouper species (Perciformes: Serranidae). *Cybiu* 30(4): 327-331.

Díaz-Urbe, J. G.; Elorduy-Garay, J. F. & González-Valdovinos, M. T. 2001. Age and growth of the leopard grouper, *Mycterperca rosacea*, in the Southern Gulf of California, México. *Pacific Science* 55(2): 171-182.

Erisman, B. E.; Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2010. Reproductive biology of the Panama graysby *Cephalopholis panamensis* (Teleostei: Epinephelidae). *Journal of Fish Biology* 76: 1312-1328.

Erisman, B. E., Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2009. A phylogenetic test of the size-advantage model: evolutionary changes in mating behavior influence the loss of sex change in a fish lineage. *The American Naturalist* 174(3): E83-E99.

Erisman, B. E. & Allen, L. G. 2006. Reproductive behavior of a temperate serranid fish, *Paralabrax clathratus* (Girard), from Santa Catalina Island, California, USA. *Journal of Fish Biology* 68: 157-184.

Ferreira, B. P. & Maida, M. 2006. Monitoramento dos recifes de coral do Brasil. Brasília: MMA. 250pp.

Ferreira, B. P. & Russ, G. R. 1994. Age validation and estimation of growth rate of the coral trout, *Plectropomus leopardus*, (Lacepede 1802) from Lizard Island, Northern Great Barrier Reef. *Fishery Bulletin* 92: 46-57.

Ferreira, B. P. and Russ, G. R. 1992. Age, growth and mortality of the inshore coral trout, *Plectropomus maculatus* (Pisces: Serranidae) from the Central Great Barrier Reef, Australia. *Australian Journal Marine and Freshwater Research* 43: 1301-1312.

Francis, M. P. and Pankhurst, N. W. 1988. Juvenile sex inversion in the New Zealand snapper *Chrysophrys auratus* (Bloch and Schneider, 1801) (Sparidae). *Australian Journal Marine and Freshwater Research* 39: 625-631.

Fujiwara, S. and Hankin, D. G. 1988. Aging Discrepancy related to asymmetrical otolith growth for sablefish *Anoplopoma fimbria* in Northern California. *Bulletin of the Japanese Society of Fisheries Oceanography* 54(1): 27-31.

Gwinn, D. C.; Allen, M. S. and Rogers, M. W. 2010. Evaluation of procedures to reduce bias in fish growth parameter estimates resulting from size-selective sampling. *Fisheries Research* 105(2): 75-79.

Hovey, C. Y. B., Allen, L. G. and Hovey, T. E. 2002. The reproductive pattern of barred sand bass (*Paralabrax nebulifer*) from southern California. *California Cooperative Oceanic Fisheries Investigations* 43: 174-181.

IBAMA. 2005. Monitoramento da atividade pesqueira no litoral do Brasil – Projeto Estatpesca. Brasília: SEAP/IBAMA/PROZEE. 328 pp.

King, M. 1997. Fisheries biology, assessment and management. United Kingdom, Blackwell Science, 340p.

Levin, P. S. and Grimes, C. B. 2002. Reef fish ecology and grouper conservation and management. Pp. 377-389. In Sale, P.F. (Ed.). Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem. Academic Press, San Diego, 549p.

Liu, M. and Sadovy de Mitcheson, Y. 2010. The influence of social factors on juvenile sexual differentiation in a diandric protogynous grouper *Epinephelus coioides*. *Ichthyological Research* 57: 9-18 DOI: 10.1007/s10228-010-0187-x

Liu, M. and Sadovy de Mitcheson, Y. 2009. Gonad development during sexual differentiation in hatchery-produced orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) and humpback grouper (*Cromileptes altivelis*) (Pisces: Serranidae, Epinephelinae) *Aquaculture* 287 (1-2): 191-202.

Liu, M. & Sadovy, Y. 2004a. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. *Journal of Fish Biology* 65: 987-1002.

Liu, M. & Sadovy, Y. 2004b. The influence of social factors on adult sex change and juvenile sexual differentiation in a diandric, protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak* (Pisces, Serranidae). *J. Zool. Lond.* 264: 239-248.

Mackie, M. 2003. Socially controlled sex change in the half moon grouper, *Epinephelus rivulatus*, at Ningaloo Reef, Western Australia. *Coral Reefs* 22: 133-142.

Manooch, C. S. 1987. Age and growth of snappers and groupers. Pp. 327-374. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management. Westview Press, Colorado, 602p.

Marques, S. & Ferreira, B. P. 2011a. Sexual development and reproductive pattern of the Mutton hamlet, *Alphestes afer*, (Teleostei: Epinephelidae): a dyandric, hermaphroditic reef fish. *Neotropical Ichthyology* (in press).

Marques, S. & Ferreira, B. P. 2011b. Composição e características da pesca de armadilhas no litoral Norte de Pernambuco – Brasil. *Boletim Técnico-Científico do CEPENE* (in press).

Martins, A. S., Olavo, G. & Costa, P. A. S. 2005. A pesca de linha de alto mar realizada por frotas sediadas no Espírito Santo, Brasil. Pp. 35-55. In: Costa, P. A., S. A. S. Martins & G. Olavo (Eds.). Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Rio de Janeiro: Museu Nacional, 247p.

Morris, A. V., Roberts, C. M. and Hawkins, J. P. 2000. The threatened status of groupers (Epinephelinae). *Biodiversity and Conservation* 9: 919–942.

Munro, J. L. 1983. Caribbean coral reef fisheries resources. ICLARM Studies and Reviews 7. International Center for Living Aquatic Resources Management: Philippines. 276p.

Reñones, O.; Piñeiro, C.; Mas, X. and Goñi, R. 2007. Age and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) in an exploited population of the western Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology* 71: 346-362.

Russ, G. R. 1991. Coral Reef Fisheries: Effects and Yields. In: Sale, P. S. (ed.). The ecology of fishes on coral reefs. Academic Press: California. 601-634.

Sadovy, Y. & Colin, P. L. 1995. Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. *Journal of Fish Biology* 46: 961-976.

Sadovy, Y. 1994. Grouper stocks in the western central Atlantic: the need for management and management needs. Proceeding of the Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute 43: 43-64.

Sattar, A. S.; Jorgensen, C. & Fiksen, O. 2008. Fisheries-induced evolution of energy and sex allocation. *Bulletin of Marine Science* 83(1), 235-250.

Schwamborn, S. H. L. & Ferreira, B. P. 2002. Age structure and growth of the dusky damselfish, *Stegastes fuscus*, from Tamandaré reefs, Pernambuco, Brazil. *Environmental Biology of Fishes* 63: 79-88.

Shapiro, D. Y. 1981. Behavioural changes of protogynous sex reversal in a coral reef fish in the laboratory. *Animal Behaviour* 17: 424-433.

Siau, Y. 2005. Population structure, reproduction and sex-change in a tropical East Atlantic grouper. *Journal of Fish Biology* 44(2): 205-211.

Smith, C. L. 1959. Hermaphroditism in some serranid fishes from Bermuda. *Michigan Academic of Science, Arts and Letters* 54: 111-119.

Stewart, J. & Hughes, J. M. 2007. Age validation and growth of three commercially important hemiramphids in south-eastern Australia. *Journal of Fish Biology* 70: 65-82.

Thorrold, S. R. & Hare, J. A. 2002. Otolith applications in reef fish ecology. In: Sale, P. F. (ed.) *Coral reef fishes*. Academic Press: California. 243-264.

Villamil, M. M.; Lorenzo, J. M.; Pajuelo, J. G.; Ramos, A. & Coca, J. 2002. Aspects of the life history of the salema, *Sarpa salpa* (Pisces, Sparidae), off the Canarian Archipelago (central-east Atlantic). *Environmental Biology of Fishes* 63: 183-192.

Warner, R. R. 1984. Mating behavior and hermaphroditism in coral reef fishes. *American Scientist* 72: 128-136.

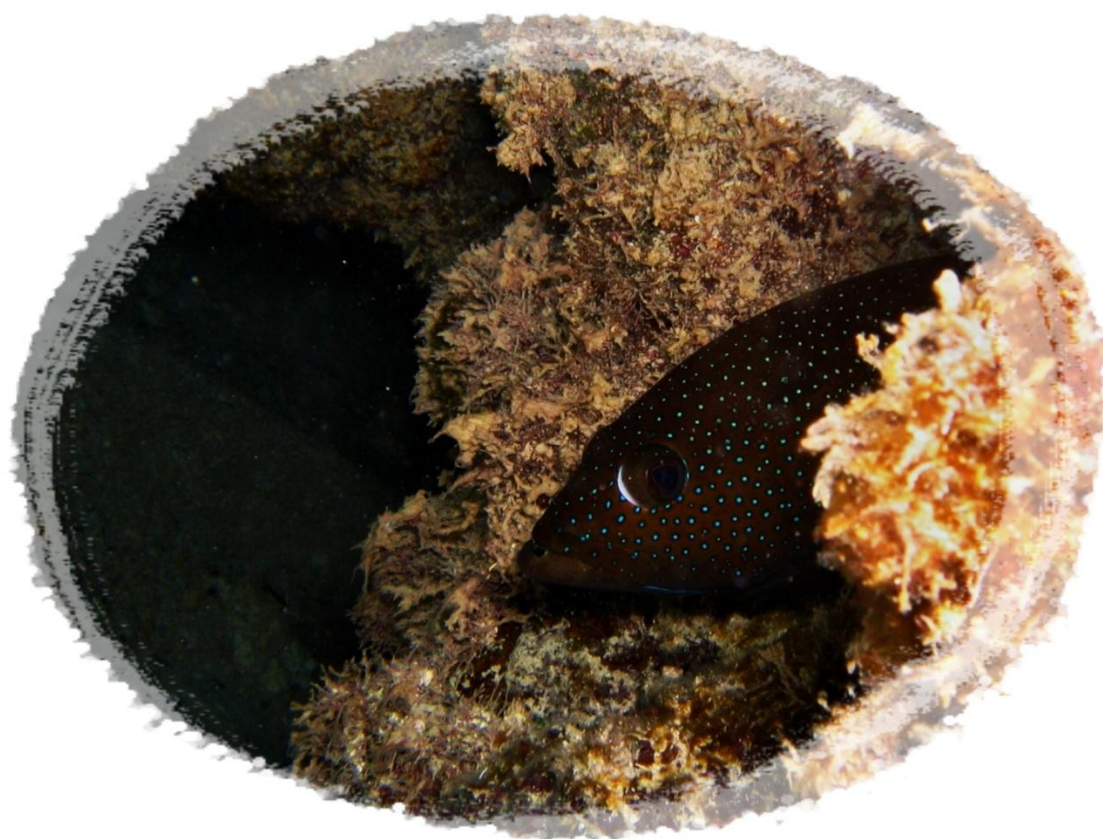
Electronic Reference

Ferreira, B.P., Marques, S., Choat, J.H., Sadovy, Y., Craig, M.T., Bertoncini, A.A. & Rocha, L. 2008. *Alphestes afer*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Available at <http://www.iucnredlist.org>

Sadovy, Y. 2007. *Workshop for Global Red List Assessments of Groupers, Family Serranidae; Subfamily Epinephelinae: Final report*. Available at [http://www.hku.hk/ecology/GroupersWrasses/iucnsg/Docs/Final Report Workshop 2007.pdf](http://www.hku.hk/ecology/GroupersWrasses/iucnsg/Docs/Final%20Report%20Workshop%202007.pdf)

Capítulo 4

Reprodução, idade e crescimento da piraúna *Cephalopholis fulva* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco



Resumo

Na costa nordeste do Brasil *Cephalopholis fulva* é freqüentemente capturada pela pesca artesanal e estudos sobre idade e crescimento bem como sua biologia reprodutiva ainda não foram realizados nessa região. O principal objetivo desse estudo foi investigar os principais parâmetros biológicos de idade, crescimento e reprodução dessa espécie na costa nordeste do Brasil para avaliar sua estrutura populacional e criar bases de informações úteis para sua conservação e manejo. Esse estudo indicou que as populações de *C. fulva* exploradas pela pesca no nordeste brasileiro são hermafroditas protogínicas com baixa longevidade (11 anos). As amostras biológicas de otólitos e gônadas foram obtidas de coletas realizadas em desembarques pesqueiros no litoral de Pernambuco entre Março de 2008 a Outubro de 2009. Amostras biológicas adicionais de três peixes juvenis vivos foram obtidas para experimento de validação com tetraciclina (TC) em aquários. Entre os três peixes marcados com TC apenas um indivíduo terminou a formação do primeiro anel entre os meses de Maio 2009 e Janeiro-Fevereiro 2010 indicando que *C. fulva* forma um anel por ano. Os machos foram peixes mais velhos da população com 11 anos de idade atingindo 36.8 cm de comprimento total (CT). Para *C. fulva* o modelo da curva de crescimento de von Bertalanffy apresentou o L_{∞} (31.86 cm CT) próximo dos comprimentos mais capturados na pesca (18-28 cm CT). A distribuição de comprimento e idade por sexos mostrou que a maioria dos machos foram maiores que as fêmeas. O tamanho (L_{m50}) e idade (A_{m50}) de primeira maturação para fêmeas foram 18 cm CT e 3 anos de idade. A variação do tamanho e idade de mudança de sexo dos peixes transicionais foram 20-27.1 cm CT e 4-7 anos respectivamente. A taxa de mortalidade total na pesca (Z) estimada pela curva de captura foi 0.46. Estudos de monitoramentos dos estoques explorados dessa espécie no nordeste se fazem necessários para a manutenção do seu status de conservação.

Palavras chave: idade, crescimento, reprodução, mudança de sexo

Introdução

Espécies de peixes da família Epinephelidae têm sido categorias alvos principais da pesca em diversas regiões do Atlântico (Coleman *et al.*, 2000), Caribe (Sala *et al.*, 2001) e Indo-Pacífico (Colin *et al.*, 2003). No Brasil muitas dessas espécies hermafroditas de pequeno a médio porte (garoupas e budiões) são capturadas pela pesca artesanal de armadilhas como fauna acompanhante (Marques & Ferreira, 2011a). A estratégia da mudança de sexo dessas espécies é bastante complexa e geralmente enganos nas análises da biologia reprodutiva (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008) e determinação da idade (Campana, 2001) podem afetar futuros planos de manejo de espécies vulneráveis a diversas artes de pesca (Levin & Grimes, 2002).

Os padrões de idade e crescimento das populações de epinefelídeos indicam peixes com crescimento lento e maturação tardia (Choat & Robertson, 2002). Esses parâmetros são fundamentais para avaliar a estrutura e a seletividade das populações mais vulneráveis à pesca (Gwinn *et al.*, 2010). Muitas espécies de garoupas apresentam um padrão claro de hermafroditismo protogínico monândrico em que os machos funcionais são provenientes de fêmeas maduras maiores mudando de sexo de acordo com a estrutura social das populações durante o ciclo reprodutivo (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008; Erisman *et al.*, 2010). Algumas espécies de garoupas de pequeno a médio porte como *Cephalopholis boenak* (Liu & Sadovy, 2004), *Cephalopholis panamensis* (Erisman *et al.*, 2010) e *Alphestes afer* (Marques & Ferreira, 2011b) tem mostrado um padrão de hermafroditismo protogínico diândrico com machos primários originados de fêmeas imaturas e também com machos secundário (funcionais) originados de fêmeas maduras.

Cephalopholis fulva (Linnaeus, 1758), conhecida como piraúna no nordeste e catuá no sudeste brasileiro, ocorre em áreas recifais e costões rochosos do Atlântico Oeste das Bermudas e Flórida até o sudeste do Brasil (Heemstra & Randall, 1993; Carvalho-Filho, 1999). Ilhas oceânicas do nordeste brasileiro (Fernando de Noronha e Atol das Rocas) também têm apresentado alta abundância dessa espécie (Carvalho-Filho, 1999; Ferreira & Maida, 2006). Na região do nordeste do Brasil *C. fulva* é comum em ambientes rasos com piscinas naturais interconectadas por cavernas (2-20m)

e profundos (30-100 m) onde são freqüentemente capturadas pela pesca artesanal de armadilhas e linha. Essa espécie é classificada como hermafrodita protogínica monândrica (Smith, 1959) podendo atingir 41 cm de comprimento com longevidade de até 28 anos (Trott, 2004).

Populações de *C. fulva* tem sido amplamente exploradas pela pesca nas regiões das Bermudas (Trott, 2004), Florida (Potts & Manooch, 1999) e Atlântico Sul (Araújo & Martins, 2009; Freitas *et al.*, 2011). Estudos de idade e crescimento de Trott (2004) e de Potts & Manooch (1999) indicam que as populações pescadas de *C. fulva* têm apresentado maior captura sobre as classes mais jovens (6-11 anos) (Trott, 2004). Já na costa central do Brasil estudos de idade e crescimento realizados por Araújo & Martins (2009, 2006) apontam classes de idade-comprimento mais velhas nas populações dessa espécie onde registrou-se a idade máxima de 25 anos. Na costa nordeste do Brasil *C. fulva* é freqüentemente capturada principalmente pela pesca artesanal de armadilhas e ao longo dos últimos anos essa espécie tem sido bastante valorizada para exportação (Marques & Ferreira, 2011a). Estudos sobre idade e crescimento e biologia reprodutiva dessa espécie na região nordeste do Brasil ainda não foram realizados. Para avaliar a estrutura populacional de *C. fulva* no nordeste do Brasil e criar bases de informações úteis para futuros planos de manejo e conservação, o principal objetivo desse estudo foi investigar os principais parâmetros biológicos de idade, crescimento e reprodução dessa espécie.

Material e Métodos

Exemplares de *C. fulva* foram coletados mensalmente nos principais pontos de desembarques da costa de Pernambuco entre Março 2008 e Outubro 2009. Os peixes foram comprados durante os desembarques de pescarias artesanais dos seguintes municípios: Itamaracá (7°44'S, 34°49'W), Recife (8°04'S, 34°52'W), Tamandaré (8°45'S, 35°05'W) e São José da Coroa Grande (8°53'S, 35°08'W). Os principais artefatos de pesca utilizados nas capturas de *C. fulva* foram pesca de linha nos recifes rasos (2-30 m) e pesca de linhas e armadilhas nos recifes profundos (30-100m). Peixes menores foram obtidos dos recifes rasos de Tamandaré em profundidades média de 3 metros com utilização de redes de cerco (1 cm entre nós). Todos os peixes foram

medidos com o comprimento total (CT, centímetros) e pesados (PT, gramas). As gônadas de cada indivíduo foram removidas, pesadas (gramas) e fixadas em FAAC (formaldeído 4%, ácido acético 5%, cloreto de cálcio 1.3%) (Ferreira, 1993). O par de otólitos sagittae de cada peixe foi removido, limpo com água e armazenado a seco.

Reprodução

O sexo e estágios de maturação dos peixes foram determinados por análise histológica das gônadas seccionadas transversalmente a 4-5 μm e coradas com hematoxilina-eosina. As classificações de ovogênese e espermatogênese foram baseadas em Nagahama (1983) e os estádios de desenvolvimento sexual seguiram Liu & Sadovy (2004) e Ferreira (1993, 1995).

O período de desova foi determinado através das análises histológicas e do índice gonadosomático (IG). O IG foi calculado com:

$$IG = W_{Go} / W_t \times 100$$

em que:

W_{Go} = peso gonadal;

W_t = peso total.

A quantidade de gordura depositada nos mesentérios foi indicada para avaliar a variação da gordura armazenada durante o ciclo reprodutivo. A gordura do mesentério foi estimada seguindo uma escala relativa de 1 a 3, em que cada escala indicava a proporção de gordura cobrindo a víscera (1: nenhuma gordura visível; 2: gordura cobrindo as vísceras parcialmente; 3: gordura cobrindo completamente as vísceras). A estimativa foi feita sempre pelo mesmo observador. Essa escala foi transformada em percentagem para comparar com o IG. A análise não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA ($P < 0.05$) foi usada para examinar diferenças entre: IG de fêmeas e machos; IG entre os meses de 2008 e 2009; gordura mesentérica entre machos e fêmeas e durante os meses; entre os tamanhos de fêmeas e machos maduros. Correlação de Spearman foi usada para analisar a relação entre IG e a gordura mesentérica para fêmeas e machos maduros, e entre peso gonadal e tamanho.

Fêmeas e machos maduros foram incluídos no cálculo da proporção sexual somente no período reprodutivo. O teste qui-quadrado (X^2) foi usado para comparar a proporção sexual (fêmeas maduras: machos maduros) entre os meses do período reprodutivo.

Tamanho e idade de maturação e mudança de sexo

O tamanho de primeira maturação sexual (L_{50}) de *C. fulva* foi estimado para fêmeas pelo ajuste de uma função logística (King, 1997) para a proporção de peixes maduros (P_o) nas categorias de tamanho:

$$(LT): P_o = \{1 + [-r(L_{smid} - L_{50})]\}$$

em que:

L_{smid} = ponto médio da classe de tamanho L_T ;

L_{50} = média do L_T da maturação sexual;

r = constante que aumenta no valor com a declividade da maturação.

O mesmo processo foi usado para estimar a idade da maturação sexual (A_{50}) usando a proporção de fêmeas maduras em cada classe de idade. O tamanho de mudança de sexo foi estimado da variação do tamanho dos peixes transicionais e a mudança de sexo também foram estimadas de duas razões: variação do tamanho de peixes transicionais dividido pelo tamanho máximo coletado; variação da sobreposição nos tamanhos de machos e fêmeas divididos pelo tamanho máximo coletado (Erisman *et al.*, 2010).

Leitura dos otólitos

Otólito sagittae direito de cada peixe foi embebido em resina e uma secção transversal (0.3 mm) foi feita através do centro (núcleo) do otólito, usando uma serra metalográfica Buehler Isomet de baixa velocidade. As secções foram polidas em ambos os lados com o uso de lixas d'água (1200, 2000) e em seguida foram montadas lâminas

histológicas dessas secções com entelan e lamínulas. Otólitos sagittae inteiros não foram utilizados, devido às baixas estimativas de idade nos indivíduos mais velhos.

As lâminas foram observadas em estereomicroscópio usando luz refletida com fundo preto. As zonas opacas observadas nos otólitos seccionados foram escolhidas nas leituras para a estimativa da idade. Durante as leituras as zonas opacas completas foram contadas da região do núcleo até a região da borda ao longo da face ventral e dorsal do otólito próximo à margem do sulcus acusticus. As zonas opacas incompletas não foram consideradas durante a leitura dos otólitos. Os otólitos de *C. fulva* foram lidos 2 vezes pelo mesmo leitor com intervalo de 10 dias entre as leituras. A precisão da estimativa da idade foi calculada com o Índice da Média de Erro em Percentagem (IAPE) (Beamish and Fournier, 1981).

Para determinar quais foram os períodos de maior formação das zonas opacas e translúcidas nos otólitos de *C. fulva* foram realizadas classificações do tipo de borda dos otólitos (opaca ou translúcida). As distribuições dos tipos de bordas foram analisadas bimestralmente.

Periodicidade de formação dos anéis

A periodicidade da formação dos anéis em *C. fulva* foi determinada com o uso da tetraciclina (TC) em otólitos de peixes experimentais. Exemplares vivos de juvenis de *C. fulva* foram capturados nos recifes rasos de Tamandaré usando redes de cerco e puçás entre Março e Abril de 2009. Os peixes capturados foram aclimatados em aquários (60L) por alguns dias antes de serem marcados com TC. Antes e após o experimento, todos os indivíduos foram medidos com o comprimento total (CT, cm). Todos os peixes foram marcados por imersão em solução de TC e água salgada. A concentração usada na imersão foi 300 mg l⁻¹ e os peixes foram mantidos nessa solução por 12 h em recipientes escuros durante o período noturno (Schwamborn & Ferreira, 2002). Os peixes marcados com TC foram mantidos em aquários (60L) com água salgada em temperatura (27-30°C) e salinidade ambientes, e alimento (camarão ou pedaços de peixes) foi oferecido uma vez por dia.

Após o término do experimento dos peixes marcados com TC os otólitos sagittae foram removidos. Os otólitos direitos marcados com TC foram selecionados para serem seccionados. A metodologia de corte foi a mesma descrita anteriormente. Os otólitos marcados com TC seccionados foram lidos e fotografados em microscópio composto com fonte de luz fluorescente (Leica DMRB Photomicroscope). O número de bandas opacas e translúcidas entre a marca fluorescente (TC) e a borda foi determinado observando a secção do otólito com fonte de luz externa branca junto com a luz ultravioleta do microscópio (Ferreira & Russ, 1994).

Determinação da idade pela formação do primeiro anel

Para determinar o tempo de formação das bandas translúcidas e opacas entre a marca TC e a borda do otólito, as distâncias entre elas foram registradas e comparadas com o intervalo de tempo correspondente. A posição relativa das bandas translúcidas e opacas das marcas TC foram plotadas (Ferreira & Russ, 1994). A posição dessas marcas foi usada para dar suporte na interpretação do que constitui a formação do primeiro anel (banda opaca e translúcida). As medidas reais foram padronizadas para permitir comparações entre os peixes marcados com diferentes idades.

Modelo de crescimento

A função do crescimento de von Bertalanffy (VBGF) foi ajustada aos dados de comprimento e idade de *C. fulva* para fêmeas e machos separados e juntos:

$$L_t = L_{\infty} [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

Onde,

L_t = comprimento total (cm) dos indivíduos na idade t ;

L_{∞} = comprimento total máximo assintótico de L_T ;

K = taxa de crescimento (ano^{-1}) na qual a curva se aproxima do L_{∞} ;

t_0 = idade hipotética do peixe no comprimento zero.

A média dos tamanhos de machos e fêmeas em diferentes classes de idade foi comparada usando teste t.

Mortalidade

A estimativa da mortalidade total Z foi obtida usando a idade baseada no método de curvas de capturas que se fundamenta na análise gráfica da regressão linear entre o logaritmo natural do número de peixes das capturas por classe de comprimento e sua respectiva idade (Beverton & Holt, 1957). O logaritmo natural do número de peixes em cada classe de idade (N_t) foi plotado contra a idade correspondente (t) e Z foi estimado da inclinação descendente, b .

Resultados

Composição das capturas

Foram coletados 228 indivíduos de *C. fulva*, variando de 9.5 a 36.8 cm CT nos desembarques de pesca no litoral de Pernambuco entre Março 2008 a Outubro 2009 (Fig. 1). O número de indivíduos analisados por mês variou entre 9 a 17 de acordo com a disponibilidade e o período do ano.

A pesca de armadilha em recifes profundos (30-60m) compreendeu 80% dos peixes coletados enquanto que a pesca de linha nos recifes rasos (2-30m) compreendeu apenas 20% dos peixes coletados. Apesar da captura de *C. fulva* ser maior na pesca de armadilhas, as classes de tamanho dos peixes coletados nos recifes profundos e rasos não foram significativamente diferentes (Kruskal-Wallis ANOVA, $df = 1$, $P = 0.29$; Fig. 1).

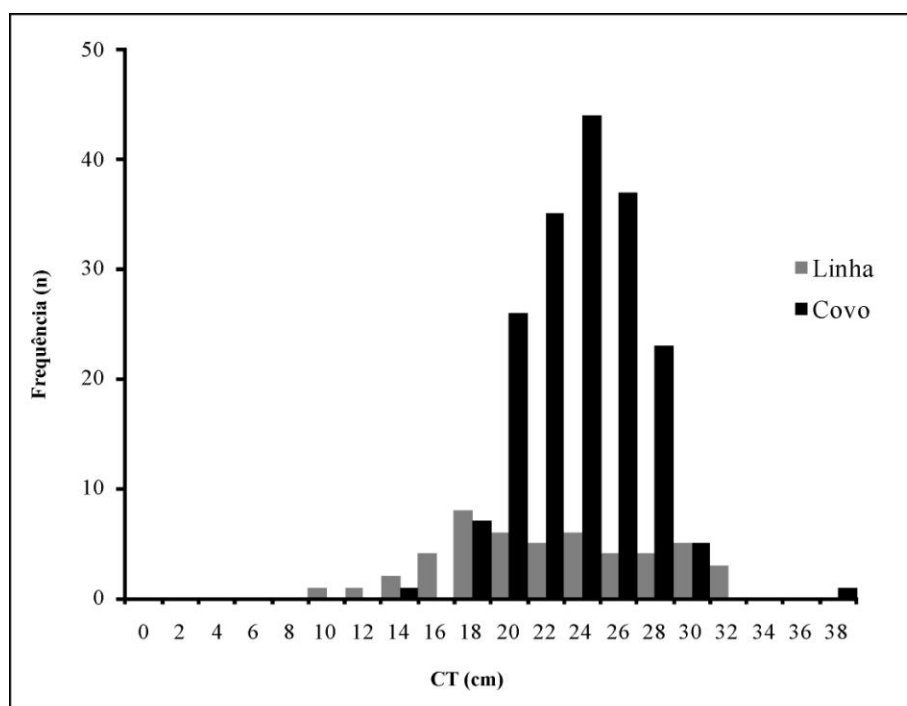


Fig. 1. Distribuição das classes de tamanho de *Cephalopholis fulva* coletadas na pesca no litoral de Pernambuco (n=228).

Três exemplares juvenis vivos de *C. fulva* entre 8 e 10 cm CT foram capturados nos recifes rasos de Tamandaré (2-3m) entre Março 2009 e Abril 2009 para o experimento com TC. Após a aclimação em aquários todos os peixes foram marcados com TC.

Reprodução

Foram analisadas lâminas histológicas de gônadas de 223 peixes de *C. fulva*. Os estádios reprodutivos observados do desenvolvimento sexual de fêmeas, machos e peixes em reversão sexual (transicionais) estão classificados e descritos na Tabela 1.

Reprodução, idade e crescimento da piraúna Cephalopholis fulva (Teleostei: Epinephelidae)
do litoral de Pernambuco

Tabela 1. Estádios reprodutivos de fêmeas, machos e transicionais de *Cephalopholis fulva*

Análises histológicas		
Estádios reprodutivos	Fêmeas	Machos
Imaturo	Ovários pequenos em diâmetros sem evidência de desova; parede gonadal fina; lamelas cheias de ovócitos em estágio inicial perinuclear (Fig.2a).	Não foram encontrados machos imaturos; apenas indivíduos transicionais mudando de sexo.
Em repouso	Ovócitos em estágio inicial perinuclear; presença de corpúsculos marrons; presença de feixes musculares (MB) também usados como indicadores de determinação da desova anterior (Fig.2b).	Estágio inicial de espermatogênese com criptas de espermatogonia e espermatócitos em primeiro estágio; sinus dorsal presente com alguns espermatozóides (Fig.3d).
Em maturação	Ovócitos em estágio (vesículas lipídicas) com o início do estágio de formação de vesículas globulares.	Presença de criptas contendo espermatócitos, espermátides e alguns espermatozóides; sinus dorsal com espermatozóides (Fig. 3a).
Maduro	Ovários com ovócitos em vitelogênese completa e ovócitos hidratados (Fig. 2c).	Sinus dorsal e intralobulares repletos de espermatozóides (Fig.3b).
Esgotado	Lamelas interrompidas com células foliculares, remanescentes de folículos pós-ovulatórios e ovócitos vitelogênicos em vários estágios de atresia.	Poucos espermatozóides nos sinus. Sinus intralobulares com criptas de espermatogônias. Espermatócitos em primeiro estágio começando a aparecer (Fig. 3c).
Transicional	Ovário mostrou degeneração de tecido ovariano e proliferação de tecido espermático com pequenas criptas ou grupos de espermatozóides em fêmeas no estágio de repouso e em maturação (Fig. 2d). Verificou-se que as fêmeas transicionais em repouso tiveram desova prévia pela presença de feixes musculares.	

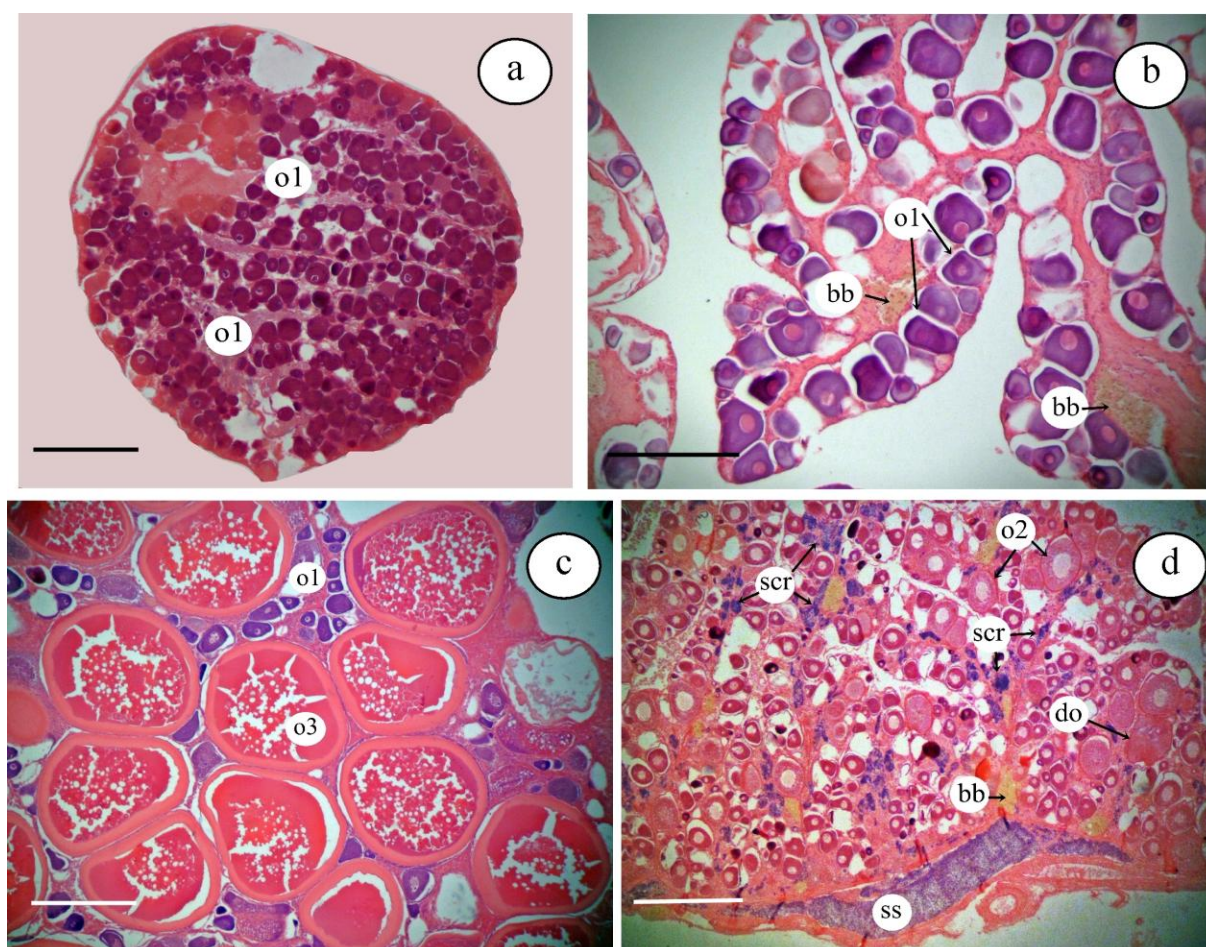


Fig. 2. Fotomicrografias de seções histológicas de ovários de *Cephalopholis fulva*. (a) Fêmea imatura (escala = 100 μ m) (13 cm CT). (b) Fêmea em repouso (escala = 200 μ m) (24 cm CT). (c) Fêmea madura (escala = 200 μ m) (24.5 cm CT). (d) Fêmea transicional (escala = 100 μ m) (27.1 cm CT). o1 = ovócito primário em estágio inicial perinuclear, o2 = ovócito em estágio vitelogênico, o3 = ovócito com vitelogênese completa, bb= corpúsculos marrons, scr = cripta espermática, do = ovócito em degeneração, ss = sinus espermático.

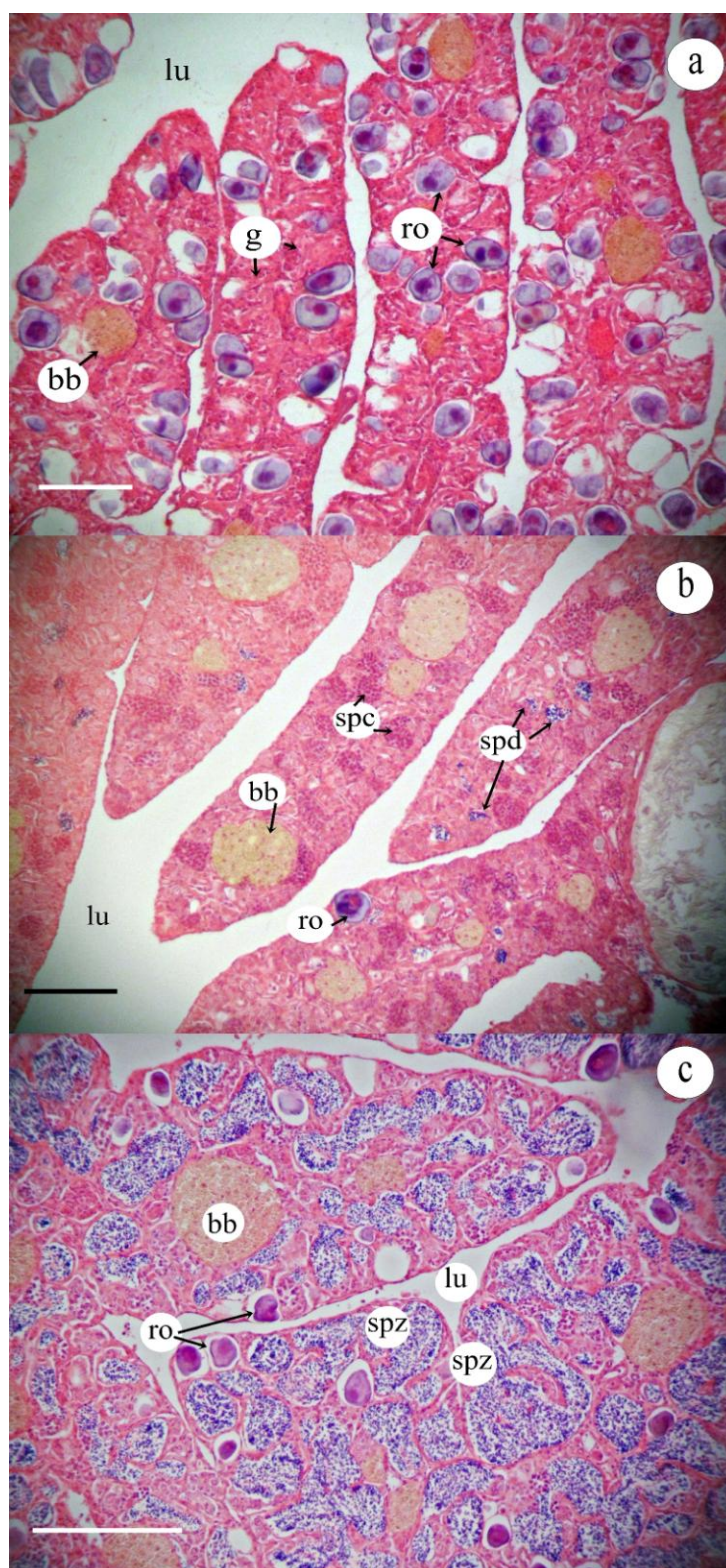


Fig. 3. Fotomicrografias de seções histológicas de testículos de *Cephalopholis fulva*. (a) Macho em repouso (escala = 50 μ m) (27 cm CT). (b) Macho em maturação (escala = 50 μ m) (25.5 cm CT). (c) Macho maduro (escala = 100 μ m) (25.7 cm CT). spc = espermatócito, spd = espermátide, spz = espermatozóide, ro = ovócito residual, lu = lúmen, g = espermatogônia, bb = corpúsculo marrom.

Sazonalidade e período da desova

O período de desova de *C. fulva* ocorreu entre Agosto e Outubro em 2008 e 2009 para fêmeas indicado pelos altos IGs. Os machos apresentaram IG médio (0.27) menor que as fêmeas (0.66) durante o período de desova com o pico reprodutivo no mesmo período. Em 2009 o início do pico reprodutivo dos machos foi em Setembro apresentando também baixo IG quando comparado com as fêmeas do mesmo período (Fig. 4). Foram identificadas diferenças significativas entre os IGs de fêmeas e machos (Kruskal-Wallis, $df = 1$; $P < 0.05$) e dos IGs entre os período de repouso e picos reprodutivos ((Kruskal-Wallis, $df = 19$; $P < 0.05$). Diferenças significativas das percentagens de gorduras mesentéricas armazenadas em fêmeas e machos também foram identificadas entre os períodos de repouso e reprodução (Kruskal-Wallis, $df = 19$; $P < 0.05$). As variações de gorduras mesentéricas foram antifásicas em relação aos IGs de machos e fêmeas (Fig. 4), e inversamente correlacionada com o peso gonadal para machos (Spearman rank $R_s = -0.50$; $P < 0.05$) e fêmeas (Spearman rank $R_s = -0.43$; $P < 0.05$) maduros.

Fêmeas e machos maduros de *C. fulva* foram observados entre os meses de Agosto e Outubro de 2008 e 2009. Alguns machos maduros também foram observados em Julho de 2009 (Fig. 5). Durante o pico reprodutivo as fêmeas apresentaram ovócitos maduros e hidratados e os machos apresentaram o sinus espermático dorsal e intralobular repletos de espermatozóides (Figs. 2c e 3c). Ovócitos em estágio de desenvolvimento inicial também foram observados nas fêmeas maduras. Fêmeas transicionais ($n=6$) foram observadas no período de repouso (Janeiro e Abril 2009) e também durante o período reprodutivo (Julho, Agosto 2008 e Setembro 2009). Machos foram ausentes durante o período de repouso em 2009 nos meses de Março e Maio (Fig. 5).

A proporção sexual de fêmeas e machos maduros de *C. fulva* foi 1 : 1 (fêmeas : machos) durante o período reprodutivo de 2008 e 2009. A frequência de distribuição das fêmeas e machos maduros não foi significativa entre Agosto e Outubro de 2008 e 2009 (X^2 ; $P = 0.831$).

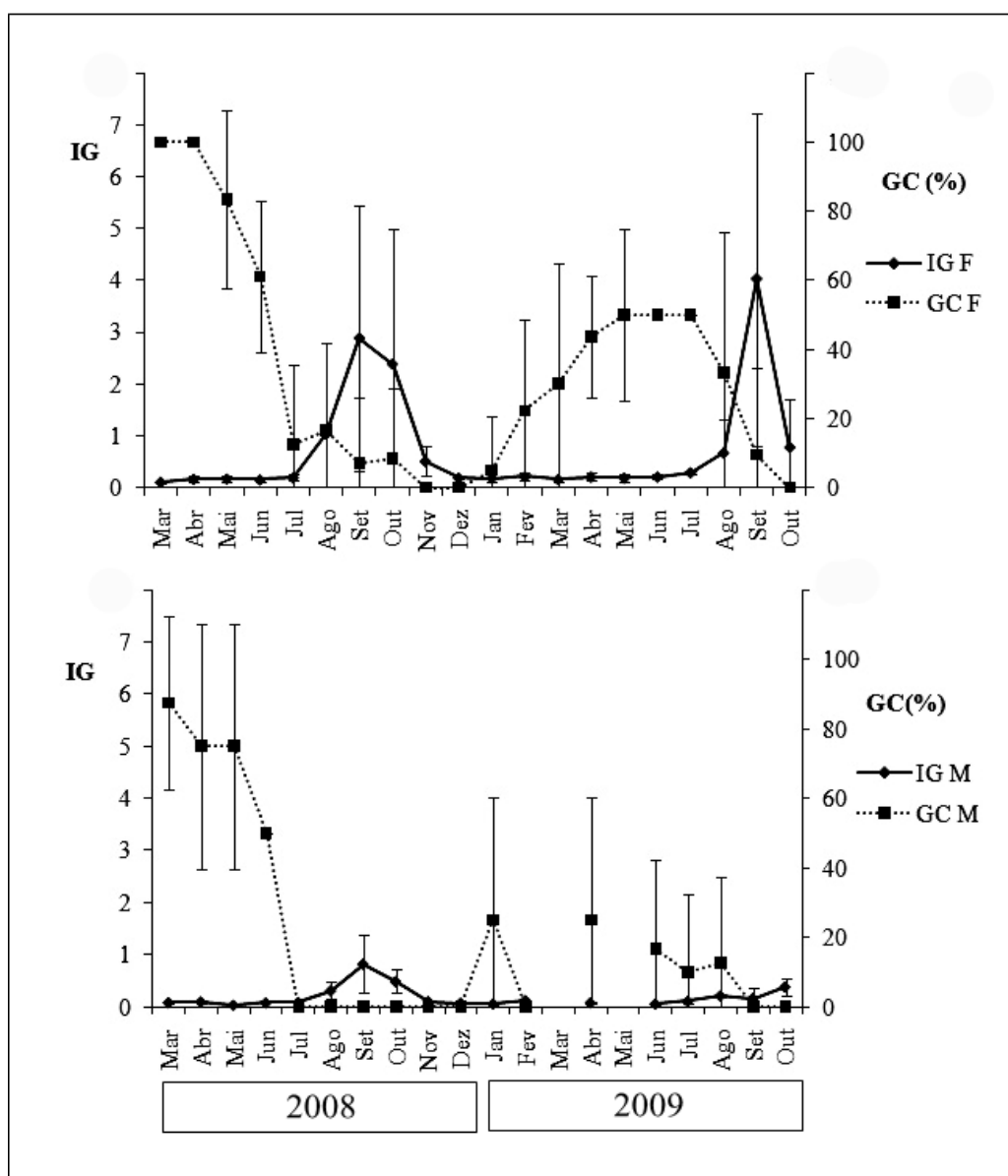


Fig. 4. Variação mensal da análise do índice gonadosomático (IG) de fêmeas (IG F; n = 160), machos (IG M; n = 60); e gordura celomática (GC – GC F; GC M) de *Cephalopholis fulva*. Barras de erro mostram o desvio padrão dos dados originais.

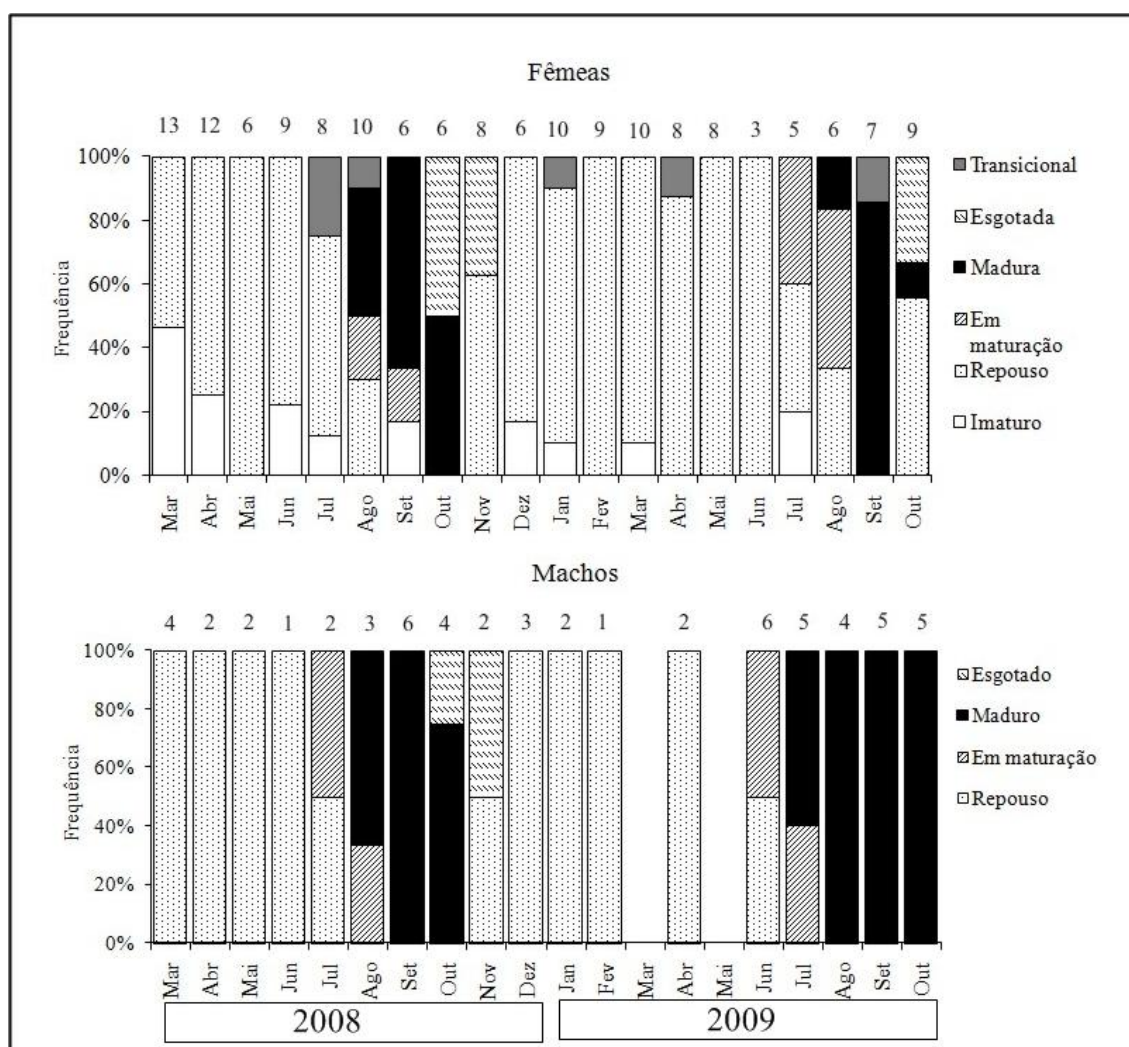


Fig. 7. Distribuição mensal da frequência dos estádios gonadais de fêmeas (n = 154), transicionais (n = 6) e machos (n = 59) de *Cephalopholis fulva*.

Tamanho e idade de maturação e mudança de sexo

As fêmeas apresentaram duas classes modais próximas de 24 e 26 cm CT enquanto os machos apresentaram a classe modal de 26 cm CT (Fig. 6A). Foram observados somente dois machos menores que 20 cm (15 -19 cm CT) (Fig. 6A). A distribuição da idade de *C. fulva* mostrou que a maioria das fêmeas tinha 6 anos e os machos 8 anos de idade e a sobreposição dos sexos ocorreu entre 2 e 10 anos (Fig. 6B).

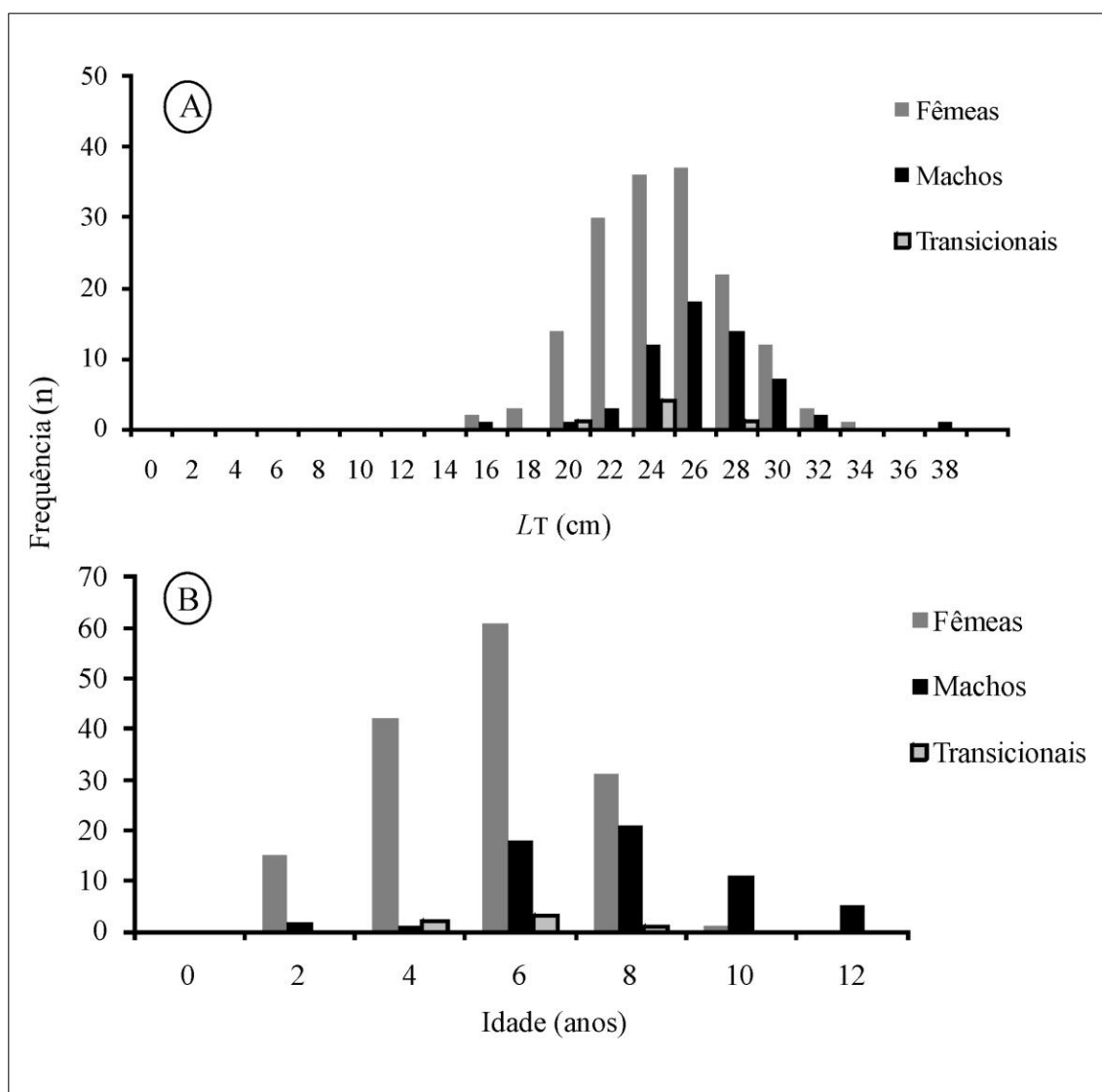


Fig. 6. Distribuição de tamanho (A) (n = 219) e idade (B) (n = 198) de fêmeas, machos e transicionais de *Cephalopholis fulva*.

O tamanho (L_{50}) e idade (A_{50}) de primeira maturação das fêmeas foi de 18 cm CT e 3 anos de idade (Fig. 7). Foram identificados machos juvenis (2 anos) com tamanho mínimo de maturação sexual a partir de 15 cm CT. O tamanho da mudança de sexo dos peixes transicionais variou de 20-27.1 cm CT equivalendo a 54-73% do tamanho máximo corporal. A estimativa da mudança de sexo baseando-se na sobreposição entre machos e fêmeas maduros foi de 20-30 cm CT equivalendo a 54-81% do tamanho máximo corporal registrado no presente estudo. A variação da idade dos 6 peixes em fase de transição foi entre 4 e 7 anos correspondendo 36.3-63.6% da idade máxima registrada (11 anos). A sobreposição das idades de machos e fêmeas

apresentou variação entre 2 a 10 anos equivalendo a 18.1-90.9% da idade máxima registrada (Fig. 7B).

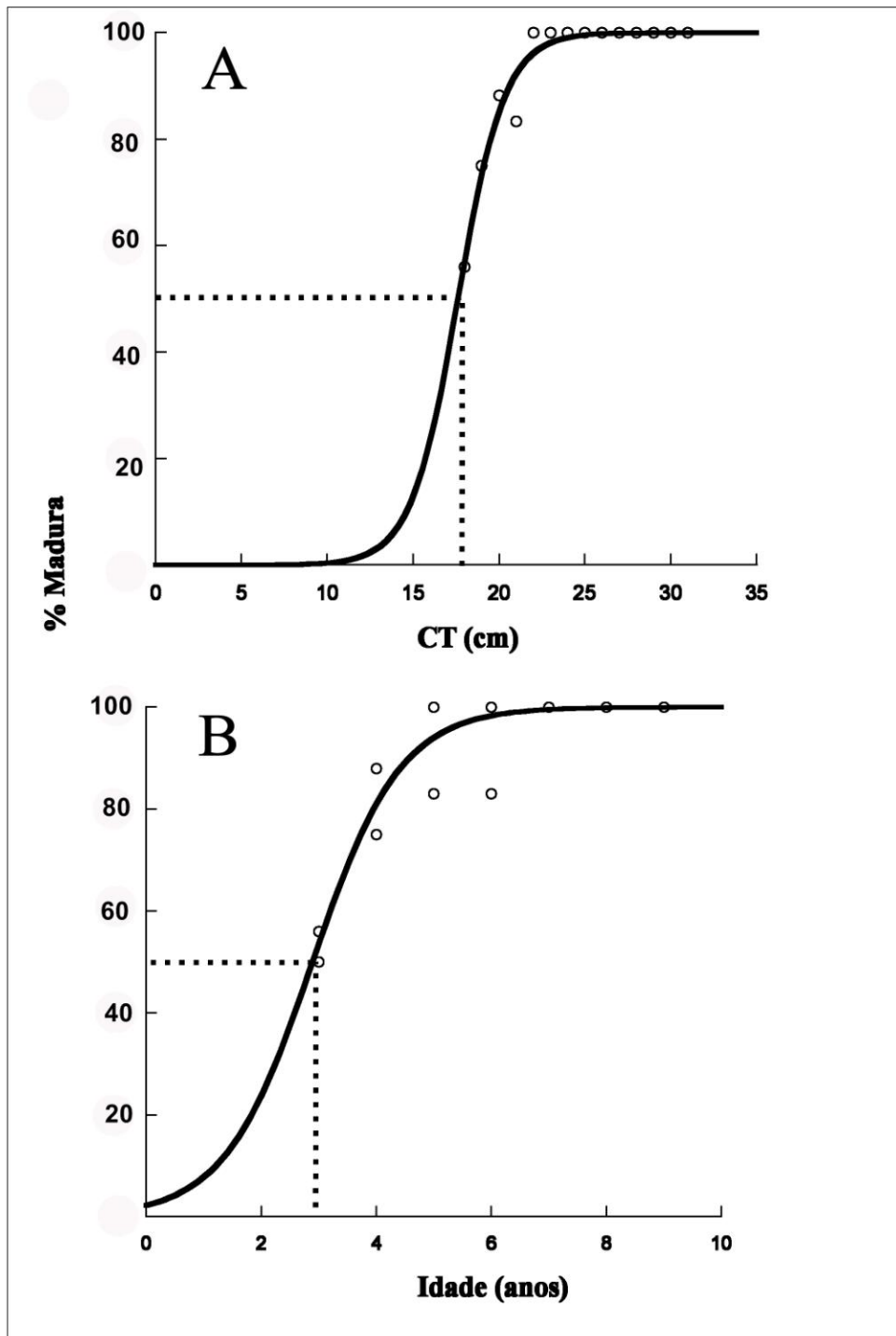


Fig. 7. Curva logística de maturação para fêmeas de *Cephalopholis fulva*. (A) comprimento total (CT) na primeira maturação sexual (n= 123) e (B) idade da primeira maturação (n = 110), o tamanho (L_{50}) e idade (A_{50}) de 50% foram obtidos de fêmeas maduras.

Leitura dos otólitos

Os otólitos sagittae de *C. fulva* apresentaram um padrão de anéis translúcidos alternando com os anéis opacos com contrastes bem definidos entre os anéis (Fig.8). As estimativas das idades baseadas pela contagem das zonas opacas foram realizadas por 2 leituras em 194 otólitos seccionados. O IAPE de Beamish & Fournier (1981) foi reduzido, apresentando apenas 4.22% de erro.

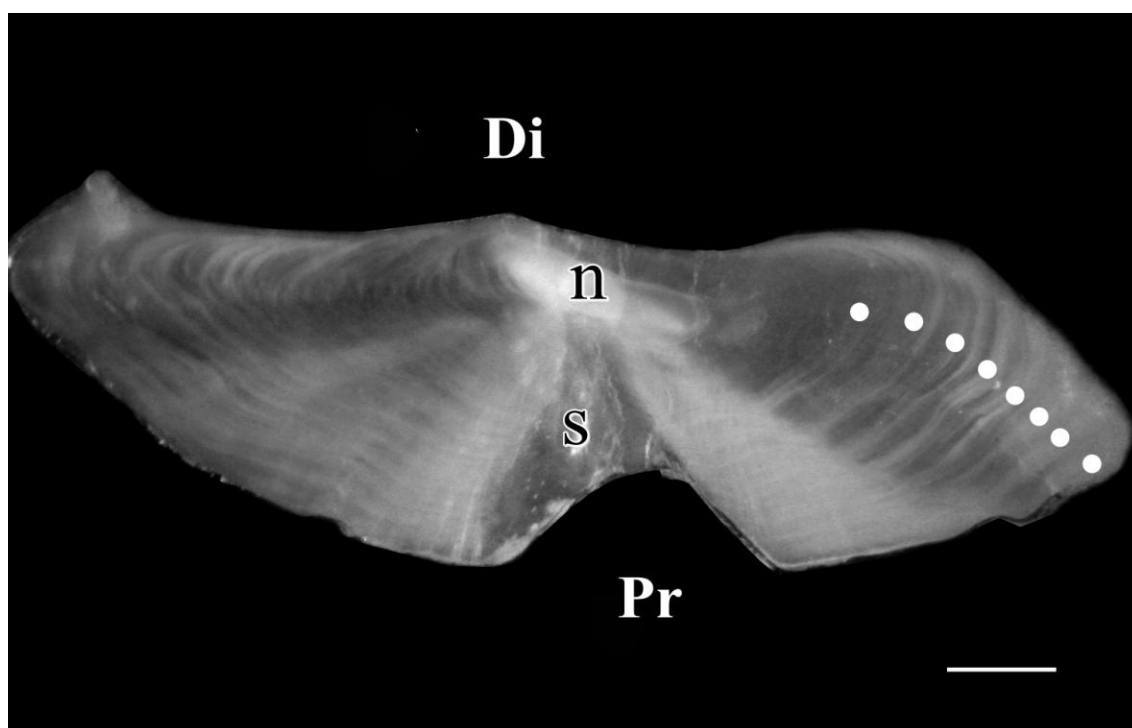


Fig. 8. Otolito seccionado de um macho de *Cephalopholis fulva* com 8 anos (27 cm L_T) mostrando o padrão de bandas translúcidas e opacas (círculos brancos); Di = distal; Pr = proximal; S = sulcus acústicus; n= núcleo. Escala = 1 mm.

As análises bimestrais dos tipos de borda dos otólitos seccionados de *C. fulva* capturados na pesca mostraram que as bandas translúcidas apresentaram maior formação durante os meses Janeiro-Fevereiro de 2009 (verão). O padrão da formação das bandas opacas foi maior durante os meses de Março-Agosto (inverno) de 2008 e 2009 (Fig.9).

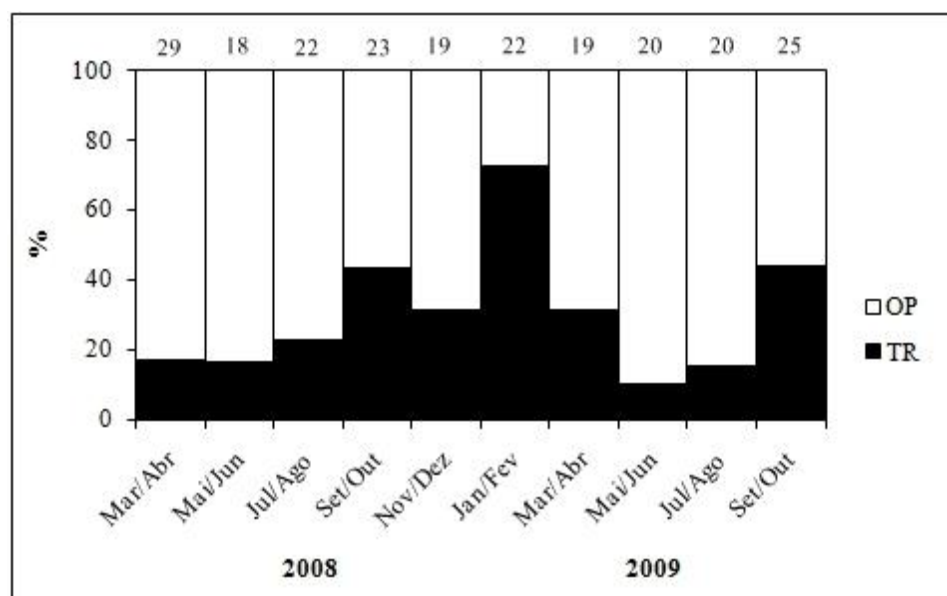


Fig. 9. Variação bimestral do tipo de borda (OP = borda opaca ou TR = translúcida) nos otólitos de *Cephalopholis fulva* entre Março de 2008 e Outubro de 2009 (n= 218).

Periodicidade de formação dos anéis

Os peixes juvenis de *C. fulva* marcados com TC por imersão foram medidos antes do tratamento com TC e após a morte. Esses peixes experimentais tiveram o crescimento mínimo de 1.2 cm após a marcação (Tab. 2).

Tabela 2. Sumário dos experimentos de validação da idade em aquários para *Cephalopholis fulva*

Peixe no.	CT1 (cm)	CT 2 (cm)	CT1 – CT 2 (cm)	Tempo de experimento (dias)	Idade (anos)
1	8	10	2	43	0+
2	10	11.2	1.2	62	0+
3	8.5	10	1.5	300	1+

CT 1, comprimento total antes do tratamento com TC; CT 2, comprimento total após o tratamento com TC.

As marcas fluorescentes de TC observadas nos otólitos foram bem tênues nos 3 indivíduos. As posições das bandas fluorescentes, em relação à borda dos otólitos indicaram que as bandas opacas encontravam-se em formação em todos os peixes antes do tratamento com TC. Somente o peixe no. 3, com 300 dias de experimento após a marcação com TC terminou de formar o primeiro anel. Provavelmente o peixe no. 3 assentou no início de 2009 entre Janeiro e Fevereiro (J-F) quando verificou-se a posição relativa da deposição da banda translúcida (Fig. 10; 11). Os peixes no. 1 e 2 não

completaram a formação do 1º anel pois tiveram duração de apenas 43 e 62 dias após a marcação com TC (Tab. 2; Fig. 11).

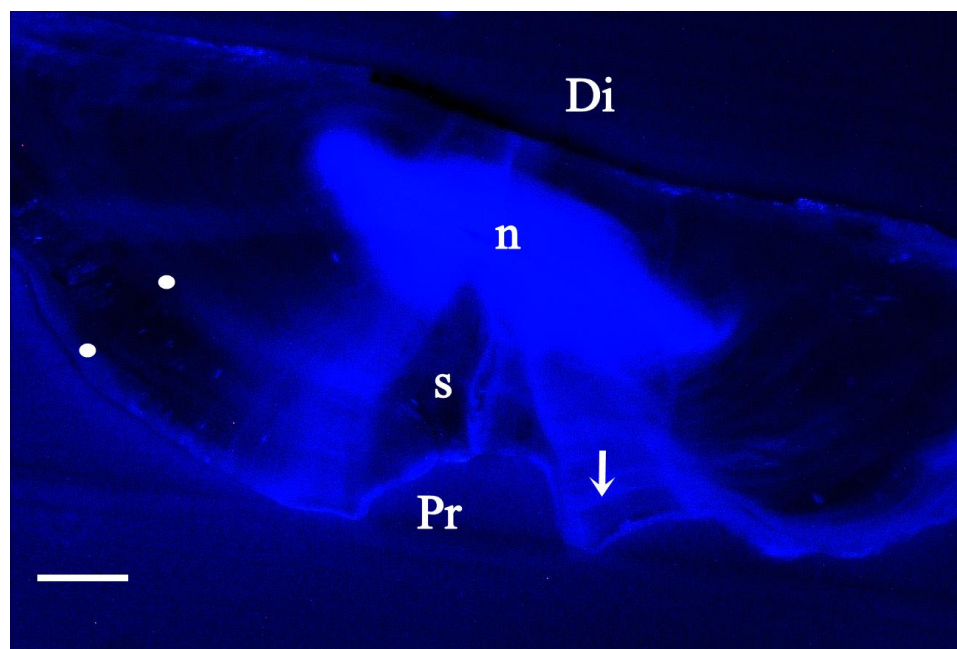


Fig. 10. Otólito seccionado *Cephalopholis fulva* marcada com TC. Peixe no.3 (1 ano, 10 cm); observação em microscópio feita com a combinação de luz branca e UV. Escala = 7µm; Di = distal; Pr= proximal; S= sulcus acústicus; n = núcleo; seta = banda fluorescente.

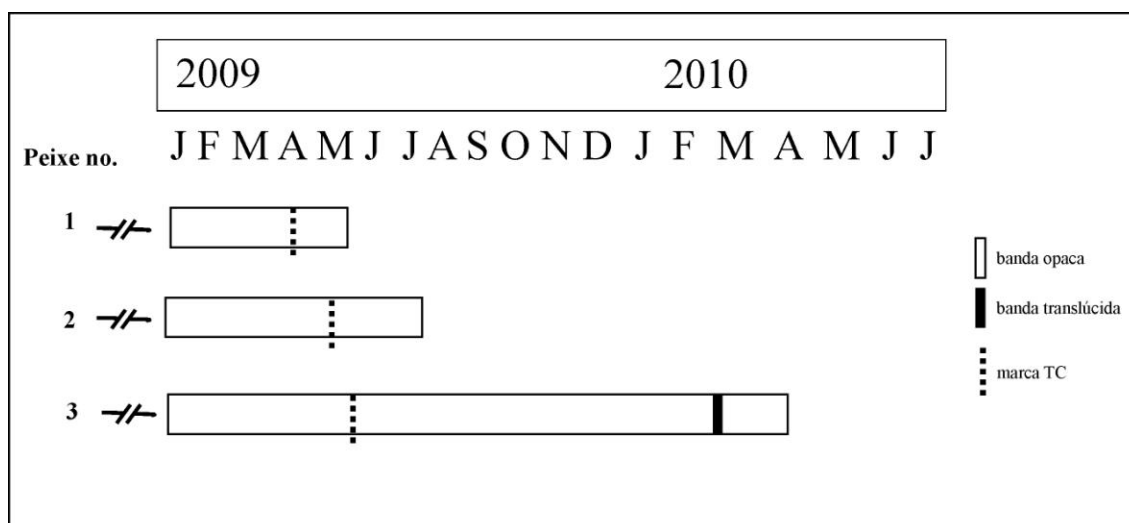


Fig. 11. Representação diagramática dos otólitos marcados com tetraciclina de *Cephalopholis fulva*, mostrando as posições relativas da banda fluorescente, margem do otólito, zonas translúcidas e opacas ao longo do sulcus acusticus. O período entre o tratamento com a tetraciclina e a morte dos peixes (final das barras) está representado em meses no topo. O tempo de formação das zonas opacas ou translúcidas foi assumido durante o experimento. O símbolo (-/-) representa a região do otólito antes do experimento.

Modelo de Crescimento

Nas análises de crescimento de *C. fulva* os dados de comprimento-idade dos indivíduos juvenis e adultos capturados em Itamaracá, Recife, Tamandaré e São José de Coroa Grande foram analisados em conjunto. Os resultados do VGBF estão representados na Fig. 12.

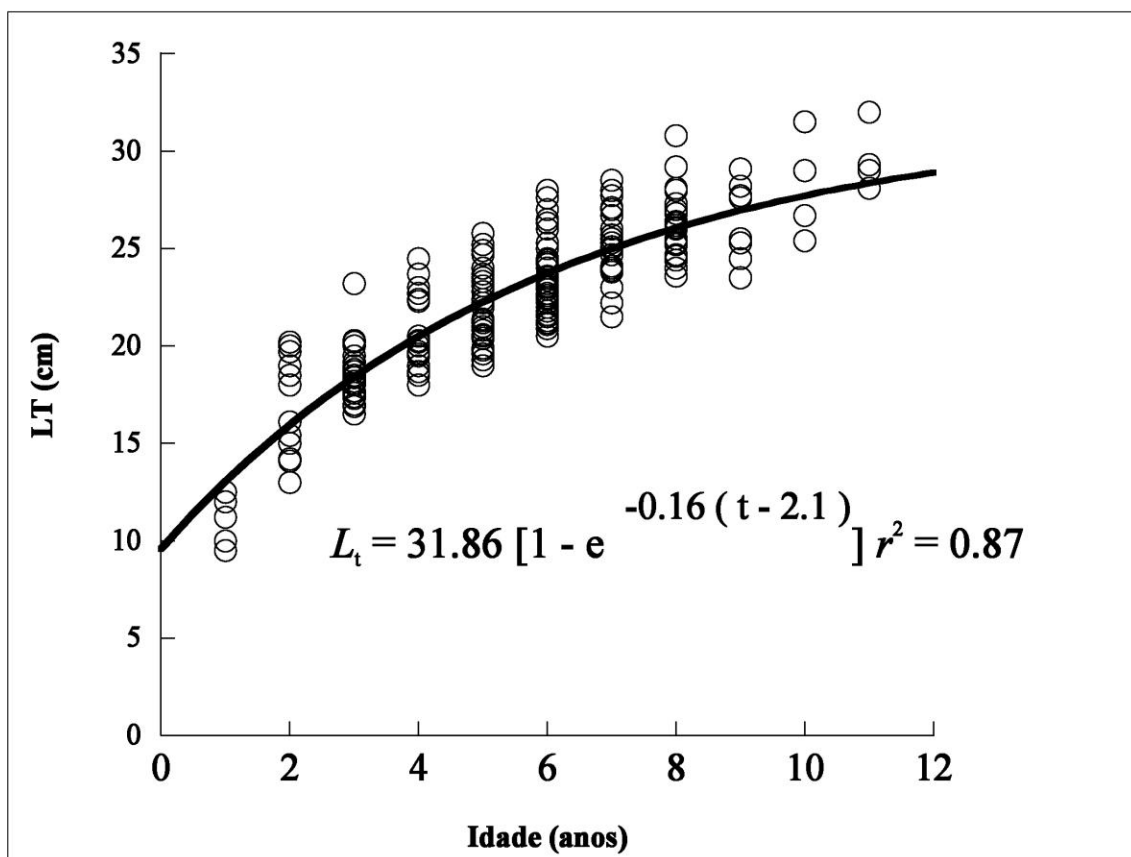


Fig. 12. Curva de crescimento von Bertalanffy ajustada para todos peixes de *Cephalopholis fulva* capturados na pesca no litoral de Pernambuco (n=197). LT = comprimento total (cm).

Os peixes mais velhos da população de *C. fulva* (10-11 anos) representados somente pelos machos tinham entre 25 e 36 cm L_T . Foram encontrados somente dois machos juvenis com 2 anos de idade (15-20 cm L_T). Fêmeas foram presentes desde as classes juvenis com 1 ano até 9 anos de idade. Os tamanhos médios de machos e fêmeas em diferentes classes etárias não mostraram diferença significativa (teste t; $P > 0.05$) (Fig. 13).

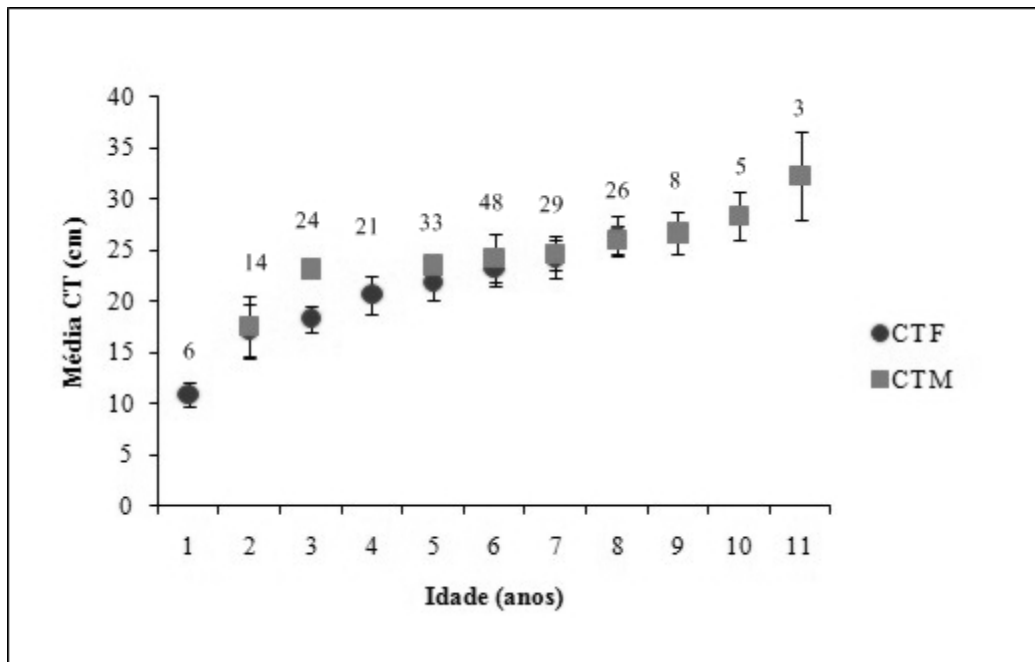


Fig. 13. Média de comprimentos totais (CT) por classe etária de fêmeas (F) e machos (M) de *Cephalopholis fulva* capturados no litoral de Pernambuco. As barras de erro representam o desvio padrão.

Mortalidade

A taxa de mortalidade total das amostras de *C. fulva* coletadas na pesca (armadilhas, linha) do litoral de Pernambuco foi estimada em 0.46 ano^{-1} (37%) com sobrevivência de 63% (Fig. 14).

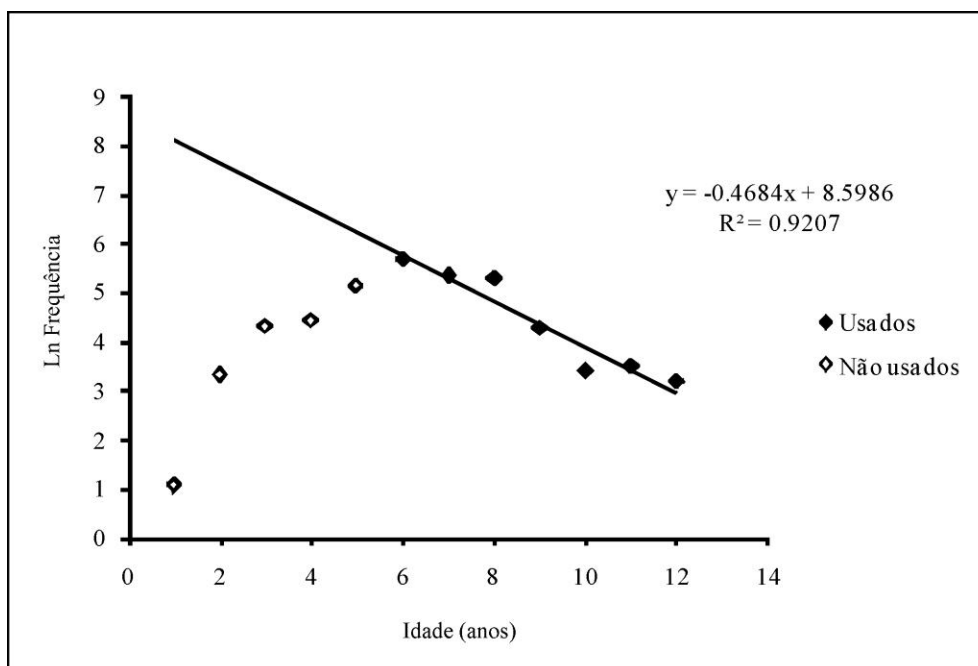


Fig. 14. Curva de captura baseada na idade observada de *Cephalopholis fulva* (n= 218).

Discussão

Reprodução, sazonalidade e peridiocidade da desova

Durante o período de desova *C. fulva* apresentou fêmeas e machos desovantes em áreas de pesca. A proporção sexual de fêmeas e machos de *C. fulva* maduros no período reprodutivo (1:1) foi próxima à encontrada por Trott (2004) nas Bermudas (0.69:1). Essa proporção sexual entre fêmeas e machos é uma característica reprodutiva similar à de outras espécies de garoupas protogínicas de grande e pequeno porte (Colins *et al.*, 1997; Sadovy de Michetson & Liu, 2008;).

Erisman *et al.* (2009) propõem que a maioria dos machos de espécies de epinefelídeos hermafroditas protogínicos apresentam IG médio baixo indicando baixa competição espermática durante o período reprodutivo. Em uma revisão recente dos tipos de acasalamentos de espécies protogínicas, os mesmos autores observaram que espécies que apresentam baixa competição espermática acasalam-se em pares. O comportamento reprodutivo de várias espécies do gênero *Cephalopholis* ocorre com acasalamento em pares (Donaldson, 1995; Erisman *et al.*, 2010). Machos de *C. fulva* apresentaram o IG médio baixo comparado com as fêmeas indicando que suas populações hermafroditas protogínicas possivelmente acasalam-se em pares durante o período reprodutivo.

O tipo de desova múltipla tem sido um padrão reprodutivo comum entre espécies de epinephelídeos (Teixeira *et al.*, 2004; Trott, 2004; Cushion *et al.*, 2008;). Durante o período reprodutivo entre Agosto e Outubro de 2008 e de 2009 o padrão de desova de *C. fulva* foi confirmado na histologia como desova múltipla com a presença de ovócitos vitelogênicos e ovócitos em processo de hidratação nas fêmeas e pela presença de espermátides e espermatozóides nos machos.

Os picos de desova de epinephelídeos apresentam pequenas variações entre as regiões tropicais apontando maior peridiocidade da desova entre o início da primavera e verão (Shapiro, 1987). Na região do Atlântico Norte Ocidental (Flórida) *C. fulva* apresentou maior IG nas estações de primavera e verão (Abril – Julho) (Trott, 2004). Na

costa brasileira a sazonalidade reprodutiva dessa espécie foi semelhante à observada na região sudeste do Atlântico Sul (Abrolhos) (Freitas *et al.*, 2011) com o pico reprodutivo ocorrendo no final do inverno e início da primavera (Agosto a Setembro).

Tamanho e idade de maturação e mudança de sexo

A estrutura populacional de *C. fulva* nas Bermudas apresentou machos maiores que as fêmeas no recrutamento da pesca de linha (Trott, 2004). Esse padrão de distribuição de machos e fêmeas foi semelhante na população de *C. fulva* estudada no banco de Abrolhos no Brasil por Freitas *et al.* (2011). No presente trabalho também foram encontrados machos maiores que as fêmeas, porém dois machos menores e juvenis (15-19 cm L_T ; 2 anos) foram presentes na pesca em Pernambuco sugerindo que possa ocorrer mudança de sexo em fêmeas imaturas.

Algumas espécies de garoupas como, por exemplo, *Epinephelus coioides* (Liu & Sadovy de Mitcheson, 2010) e *Cephalopholis boenak* (Chan & Sadovy, 2002) possuem machos juvenis menores desenvolvidos diretamente das fêmeas imaturas. Essas espécies também apresentam machos maiores que as fêmeas em suas populações e nesse caso o hermafroditismo protogínico é considerado diândrico com machos originados tanto de fêmeas imaturas como de fêmeas funcionais maduras. A carência de peixes juvenis na seletividade das populações pescadas de *C. fulva* reduz a possibilidade de encontrar machos juvenis nas amostragens (Trott, 2004). Os dois machos juvenis de *C. fulva* recrutados na pesca de Pernambuco podem ser primários originados de fêmeas imaturas. No entanto fêmeas bissexuais mudando de sexo na fase imatura não foram observadas nessa população. Para avaliar as possibilidades de *C. fulva* ser protogínica diândrica é preciso realizar mais investigações sobre o sexo dos peixes juvenis recrutados na pesca como também das suas estruturas sociais de acasalamento.

O tamanho de primeira maturação das fêmeas de *C. fulva* ($L_{50} = 18$ cm) nesse estudo foi maior do que os tamanhos encontrados por Freitas *et al.* (2011) e Trott (2004) ($L_{50} = 15$ cm). O tamanho mínimo de primeira maturação encontrado para os machos ($L_{50} = 15$ cm) aqui foi igual ao tamanho de primeira maturação encontrado para essa espécie em outras regiões como descrito acima. Nesse caso existe outra possibilidade

das fêmeas juvenis que não foram totalmente recrutadas na pesca de Pernambuco atingir maturação com 15 cm de comprimento e por isso ocorra mudança de sexo também em fêmeas maduras menores.

Muitas espécies de garoupas que são classificadas como hermafroditas protogínicas (Sadovy de Michetson & Liu, 2008) apresentam uma distribuição de classes de tamanho e idade bimodais (Trott, 2004). *C. fulva* apresentou uma distribuição das classes de tamanho e idade semelhante à encontrada por Trott (2004). As estimativas da mudança de sexo em *C. fulva* com os peixes transicionais encontrados e com a sobreposição de machos e fêmeas mostram que a maioria dos machos foram originados de fêmeas entre 20 e 30 cm L_T . Porém a estimativa da idade de mudança de sexo, baseando-se na sobreposição de idades de fêmeas e machos, indicou a possibilidade das fêmeas de *C. fulva* mudarem de sexo desde a fase juvenil até a fase adulta (2 a 10 anos de idade).

A mudança de sexo em espécies de peixes hermafroditas protogínicas é confirmada somente quando se evidencia o surgimento de criptas esperáticas substituindo o tecido feminino que inicia o processo de degeneração (Sadovy & Shapiro, 1987; Liu & Sadovy de Michetson, 2009). Segundo Sadovy de Michetson & Liu (2008) para se evitar enganos nas análises dos peixes em fase de transição é necessária uma análise histológica detalhada para confirmar se a fêmea em transição apresenta junto com o tecido masculino características de uma desova prévia como aparecimento de ovócitos em estágios vitelogênicos ou feixes musculares presentes durante a fase pós-desova. *C. fulva* apresentou 6 peixes transicionais identificados pela presença de criptas esperáticas e ovócitos em degeneração. Para confirmar o hermafroditismo protogínico funcional dessas fêmeas transicionais verificou-se a presença de feixes musculares pós-desova nos peixes em repouso e a presença de ovócitos em fase vitelogênica nos peixes maduros. Após a mudança de sexo os machos de *C. fulva* retiveram a estrutura do lúmen ovariano como uma característica comum em machos secundários provenientes de fêmeas maduras (Sadovy de Michetson & Liu, 2008). A partir dessa análise o estudo indica que as populações de *C. fulva* no litoral de Pernambuco são hermafroditas protogínicas monândricas.

Leitura dos otólitos

O método da estimativa de idade em otólitos seccionados de peixes tropicais tem obtido melhor precisão e facilidade na identificação das bandas opacas e translúcidas quando comparado com estimativa da idade em otólitos inteiros (Ferreira & Russ, 1994; Potts & Manooch, 1999). O valor do IAPE foi baixo para as leituras realizadas nos otólitos seccionados de *C. fulva* indicando estimativas claras e precisas da idade.

Potts & Manooch (1999) verificaram que as zonas opacas de juvenis de *C. fulva* foram mais largas e distantes que em adultos. No presente trabalho o mesmo padrão de largura da zona opaca foi observada entre os recrutas juvenis experimentais e os peixes adultos capturados na pesca.

Muitas espécies de epinefelídeos têm apresentado a formação de uma camada opaca e uma camada translúcida por ano nos otólitos e o conjunto dessas camadas forma um anel (annulus); e o número desses anéis representa a medida de idade dos peixes (Craig *et al.*, 1999). O período formação dos anéis opacos em epinefelídeos tem se baseado nas análises dos tipos de borda dos otólitos que variam ao longo do ano entre bordas opacas e translúcidas (Araújo & Martins, 2006). Análises da periodicidade da deposição dos anéis opacos na borda dos otólitos denominados como incrementos marginais também têm sido realizadas para validar quando os peixes formam o primeiro anel (Campana, 2001). Análises dos incrementos marginais opacos nos otólitos de *C. fulva* na Flórida registraram variações anuais de acordo com a idade, e os meses de Abril e Setembro apresentaram maiores picos de formação (Potts & Manooch, 1999). Apesar de o presente estudo ter analisado somente o tipo de borda dos otólitos seccionados de *C. fulva* houve variações bimestrais das bordas opacas, porém o maior pico de formação ocorreu durante os meses de Março-Agosto de 2008 e 2009. Já as bordas translúcidas apresentaram maior pico de formação durante os meses de Setembro-Outubro de 2008 e 2009 e de Janeiro-Fevereiro de 2009.

A formação dos anéis de crescimento em otólitos pode ser condicionada pela atividade metabólica dos peixes (hábito alimentar, gasto energético) e por alguns fatores

ambientais (temperatura, fotoperíodo) (Manooch, 1987). Durante as estações de inverno e verão também foi observada uma variação na quantidade de gordura armazenada ao longo do ciclo reprodutivo de *C. fulva*. A maior frequência da formação de zonas opacas nos peixes adultos de *C. fulva* pode estar relacionada com o período de maior alimentação. Villamil *et al.* (2002) observaram que os picos de maior formação dos anéis opacos de uma espécie de sparídeo (*Sarpa salpa*) são atribuídos às fontes alimentares durante o crescimento.

Periodicidade de formação dos anéis

A formação do primeiro anel de epinephelídeos inicia-se a partir da fase de assentamento cerca de 2 meses após o período reprodutivo (Colin *et al.*, 1987). O período reprodutivo de *C. fulva* foi entre Agosto e Outubro e o período de ocorrência de recrutas juvenis foi entre Janeiro e Abril. Com o experimento de validação da idade observou-se que indivíduo com maior tempo de sobrevivência após a marcação com TC apresentou a banda translúcida formada entre Janeiro e Março quando completou a formação do primeiro anel.

Modelo de crescimento

Segundo Gwin *et al.* (2010) ajustar a curva de crescimento com $t_0 = 0$, seguindo o modelo de von Bertalanffy, é uma opção viável quando indivíduos menores estão ausentes da amostra, evitando assim consequências desta ausência no cálculo dos parâmetros da curva de crescimento. No entanto, foram obtidos indivíduos menores de *C. Fulva* nas amostras e a curva de crescimento sem ajuste em zero (t_0 livre), apresentou estimativa do L_∞ (31.8 cm) um próximas às estimativas encontradas para a mesma espécie nos Estados Unidos (37 cm) (Trott, 2004). A taxa de crescimento ($K=0.16$) dessa espécie obtida com a curva de crescimento também foi próxima à encontrada por Araújo & Martins (2006) no Atlântico Sul ($K = 0.13$).

A idade máxima observada em *C. fulva* foi de 28 anos nas Bermudas (Trott, 2004) e 25 anos no Atlântico Sul no Brasil (Araújo & Martins, 2006). Nesse trabalho a idade máxima registrada para essa espécie foi 11 anos; semelhante aos resultados encontrados por Potts & Manooch (1999) no sudeste dos Estados Unidos e Bermudas.

Os estudos em que *C. fulva* apresentaram maior longevidade tinham classes de comprimento maiores (39-41cm CT) obtidas de amostras superiores a 700 indivíduos capturados na pesca atuando sobre a plataforma e bancos oceânicos (Trott, 2004; Araújo & Martins, 2006).

Araújo & Martins (2009) em uma revisão recente de espécies congêneres (*Cephalopholis* sp.) indicaram que a maioria apresenta longevidade máxima entre 7 e 14 anos e que os tamanhos das amostras foram pequenos com cerca de 21 e 124 indivíduos capturados por espécie. Essa revisão indicou que amostras grandes, abrangendo todas as classes de tamanho, são importantes para registrar a longevidade máxima de uma espécie dentro de populações exploradas na pesca com diferentes artes de pesca. Essa espécie também tem sido frequentemente explorada pela pesca de linha (caíco) no litoral sul de Pernambuco como fauna acompanhante. No entanto, na maioria das pescarias os indivíduos capturados são utilizados como iscas ou utilizados para consumo próprio. Análise de amostras provenientes destas pescarias poderiam indicar se a população de *C. fulva* atinge idades maiores também na região nordeste do Brasil quando capturada por outras artes de pesca e em maiores profundidades.

Mortalidade

As classes etárias mais jovens das populações de *C. fulva* (6-11 anos) tem sido as mais vulneráveis à exploração pesqueira do Atlântico Norte (Trott, 2004) e as classes etárias mais velhas (11-25 anos) foram as mais vulneráveis no Atlântico Sul no Brasil (Araújo & Martins, 2009). As classes etárias de *C. fulva* (6 e 11 anos) mais capturadas no litoral de Pernambuco no Brasil foram semelhantes às classes mais exploradas no Atlântico Norte. Os peixes juvenis com cerca de 1 ano de idade (9-12 cm L_T) não foram totalmente recrutados na pesca, pois foram capturados ocasionalmente pela pesca linha nos recifes rasos de Tamandaré.

Espécies de garoupas de menor porte têm mantido maior abundância devido à redução da abundância de populações de predadores naturais efetivos (Araújo & Martins, 2009) e/ou pela redução de predadores maiores (garoupas maiores) com a sobrepesca (Trott, 2004). Na costa central do Brasil Araújo & Martins (2009) indicaram que a pesca de *C. fulva* encontra-se próxima ou já no nível de sobreexploração. Apesar da

grande pressão pesqueira sobre *C. fulva* na costa brasileira avaliações recentes da IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza) classificaram essa espécie com menor risco de extinção devido à sua abundância relativa em áreas de pesca e sua ocorrência em vários locais de áreas marinhas protegidas dentro de uma distribuição regional (Ferreira *et al.*, 2008). Atualmente, a pressão da pesca sobre essa espécie no nordeste brasileiro tem aumentado devido à sua valorização na economia para exportação (Marques & Ferreira, 2011a) e à redução dos estoques das espécies maiores anteriormente exploradas (Ferreira *et al.*, 2008). O presente estudo sugere a necessidade de um monitoramento constante dos estoques explorados pela pesca no litoral de Pernambuco para melhores avaliações dos efeitos da pesca sobre as populações de *C. fulva* e com isso manter o status de conservação dessa espécie.

Agradecimentos

Nós agradecemos ao Prof. José Luiz de Lima Filho pelo suporte do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e à técnica Carmelita de Lima pela sua assistência nas preparações das lâminas histológicas (UFPE). Somos muito gratas aos pescadores de Itamaracá, Recife, Tamandaré e São José de Coroa Grande pelo ajuda e acesso aos peixes coletados após os desembarques. Agradecemos em especial ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) e ao Centro de Pesquisa e Gestão dos Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste (CEPENE) pelo suporte dos laboratórios. Agradeço também à estagiária Inês Estevão pela ajuda durante o processamento das amostras em laboratório. Este trabalho teve suporte pela bolsa de doutorado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ – 140166/2007-6).

Referências

Araújo, J. N. & Martins, A. S. 2009. Age of the population biology of *Cephalopholis fulva* from the central coast of Brazil. *Journal Applied of Ichthyology* 25: 328-334.

- Araújo, J. N. & Martins, A. S. 2006. Age and growth of coney (*Cephalopholis fulva*) from the central coast of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 86: 4946/1-5.
- Beamish, R. J. and Fournier, D. A. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 982-983.
- Beverton, R. J. H. & Holt, S. J. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. Fishery Investigations Series II No. 19. 533 pp.
- Campana, S. E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* 59: 197-242.
- Carvalho-Filho, A. 1999. Badejos, chernes, garoupas e mero. Pp. 97- 111. In: Carvalho-Filho, A. (Ed.). Peixes da Costa Brasileira. Melro, São Paulo, 320p.
- Chan, T. T. & Sadovy, Y. 2002. Reproductive biology, age and growth in the chocolate hind, *Cephalopholis boenak* (Bloch, 1790), in Hong Kong. *Marine Freshwater Research* 53: 791-803.
- Choat, J. H. & Robertson, D. R. 2002. Age-based studies on coral reef fishes. Pp. 57-80. In Sale, P.F. (Ed.). Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem. Academic Press, San Diego, 549p.
- Coleman, F. C.; Koenig, C. C.; Huntsman, G. R.; Musick, J. A. & Eklund, A. M. 2000. Long-lived reef fishes: the grouper-snapper complex. *Fisheries* 25(3): 14-20.
- Colin, P. L.; Sadovy, Y. J. & Domeier, M. L. 2003. Manual for the Study and Conservation of Reef Fish Spawning Aggregations. Society for the Conservation of Reef Fish Aggregations Special Publication No. 1 (Version 1.0), pp. 1-98+iii.

- Colin, P. L., D. Y. Shapiro, and D. Weiler. 1987. Aspects of the reproduction of two species of groupers. *Epinephelus guttatus* and *E. striatus* in the West Indies. *Bulletin of Marine Science*. 40(2): 220-230.
- Collins, L. A., A. G. Johnson, C. C. Koenig, & M. S. Baker Jr. 1997. Reproductive patterns, sex ratio, and fecundity in gag, *Mycteroperca microlepis* (Serranidae), a protogynous grouper from the northeastern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin* 96: 415–427.
- Craig, M. T.; Pondella II, D. J. & Hafner, J. C. 1999. Analysis of age and growth in two eastern pacific groupers (Serranidae: Epinephelinae). *Bulletin of Marine Science* 65(3): 807–814.
- Donaldson, T. J. 1995. Partitioning behavior and intra- and interspecific interactions: a comparison between male and female groupers, *Cephalopholis spiloparaea* (Pisces: Serranidae: Epinephelinae). *Marine Biology* 121, 581–584.
- Erisman, B. E.; Craig, M. T. and Hastings, P. A. 2010. Reproductive biology of the Panama graysby *Cephalopholis panamensis* (Teleostei: Epinephelidae). *Journal of Fish Biology* 76: 1312-1328.
- Erisman, B. E., Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2009. A phylogenetic test of the size-advantage model: evolutionary changes in mating behavior influence the loss of sex change in a fish lineage. *The American Naturalist* 174(3): E83-E99.
- Ferreira, B. P. & Maida, M. 2006. Monitoramento dos recifes de coral do Brasil. Brasília: MMA. 250pp.
- Ferreira, B. P. 1995 Reproduction of the common coral trout *Plectropomus leopardus* (Serranidae: Epinephelinae) from the Great Barrier Reef, Australia. *Bulletin of Marine Science* 56(2): 653-669.
- Ferreira, B. P. and Russ, G. R. 1994. Age validation and estimation of growth rate of the coral trout, *Plectropomus leopardus*, (Lacepede 1802) from Lizard Island, Northern Great Barrier Reef. *Fishery Bulletin* 92: 46-57.

- Ferreira, B. P. 1993. Reproduction of the inshore coral trout *Plectropomus maculatus* (Perciformes: Serranidae) from the Central Great Barrier Reef, Australia. *Journal of Fish Biology* 42: 831-844.
- Freitas, M. O.; Moura, R. L.; Francini-Filho, R. B. & Minte-Vera, C. V. 2011. Spawning patterns of commercially important reef fish (Lutjanidae and Serranidae) in the tropical western South Atlantic. *Scientia Marina* 75(1): 135-146.
- Gwinn, D. C.; Allen, M. S. and Rogers, M. W. 2010. Evaluation of procedures to reduce bias in fish growth parameter estimates resulting from size-selective sampling. *Fisheries Research* 105(2): 75-79.
- Heemstra, P.C. & Randall, J.E. 1993. FAO species catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. *FAO Fisheries Synopsis* 125(16): 1-382.
- King, M. 1997. Fisheries biology, assessment and management. United Kingdom, Blackwell Science, 340p.
- Levin, P. S. and Grimes, C. B. 2002. Reef fish ecology and grouper conservation and management. Pp. 377-389. In Sale, P.F. (Ed.). *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem*. Academic Press, San Diego, 549p.
- Liu, M. & Sadovy, Y. 2004. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. *Journal of Fish Biology* 65: 987-1002.
- Liu, M. and Sadovy de Mitcheson, Y. 2010. The influence of social factors on juvenile sexual differentiation in a diandric protogynous grouper *Epinephelus coioides*. *Ichthyological Research* 57: 9-18
- Manooch, C. S. 1987. Age and growth of snappers and groupers. Pp. 327-374. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). *Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management*. Westview Press, Colorado, 602p.

- Marques, S. & Ferreira, B. P. 2011a. Composição e características da pesca de armadilhas no litoral norte de pernambuco – Brasil. *Boletim Técnico Científico do CEPENE* (in press).
- Marques, S. & Ferreira, B. P. 2011b. Sexual development and reproductive pattern of the Mutton hamlet, *Alphestes afer*, (Teleostei: Epinephelidae): a dyandric, hermaphroditic reef fish. *Neotropical Ichthyology* (in press).
- Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. Pp. 223-275. In: Hoar, W. S., Randall, D. J. & Donaldson, E. M. (Eds.). *Fish Physiology*, IX (Part A). London, Academic Press.
- Potts, J. C. & Manooch, C. S. 1999. Observations of the age and growth of grasby and coney from the Southeastern United States. *Transactions of the American Fisheries Society* 128: 751-757.
- Sadovy de Mitcheson, Y. & Liu, M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9: 1-43.
- Sadovy, Y. & Shapiro, D. Y. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia* 1: 136-156.
- Sala, E.; Ballesteros, E. & Starr, R. M. 2001. Rapid Decline of Nassau Grouper Spawning Aggregations in Belize. *Fishery Management and Conservation Needs Fisheries* 26 (10): 23-30.
- Shapiro, D. Y. 1987. Reproduction in groupers. Pp. 295- 327. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). *Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management*. Westview Press, Colorado, 602p.
- Schwamborn, S. H. L and Ferreira, B. P. 2002. Age structure and growth of the dusky damselfish, *Stegastes fuscus*, from Tamandaré reefs, Pernambuco, Brazil. *Environmental Biology of Fishes* 63: 79-88.

Smith, C. L. 1959. Hermaphroditism in some serranid fishes from Bermuda. Michigan Academic of Science, Arts and Letters 54: 111-119.

Teixeira, S. F.; Ferreira, B. P. & Padovan, I. P. 2004. Aspects of fishing and reproduction of the black grouper *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Serranidae: Epinephelinae) in the Northeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 2(1): 19-30.

Trott, T. M. 2004. Preliminary analysis of age, growth, and reproduction of coney (*Cephalopholis fulva*) at Bermuda. *Proceeding of the Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 57: 385-400.

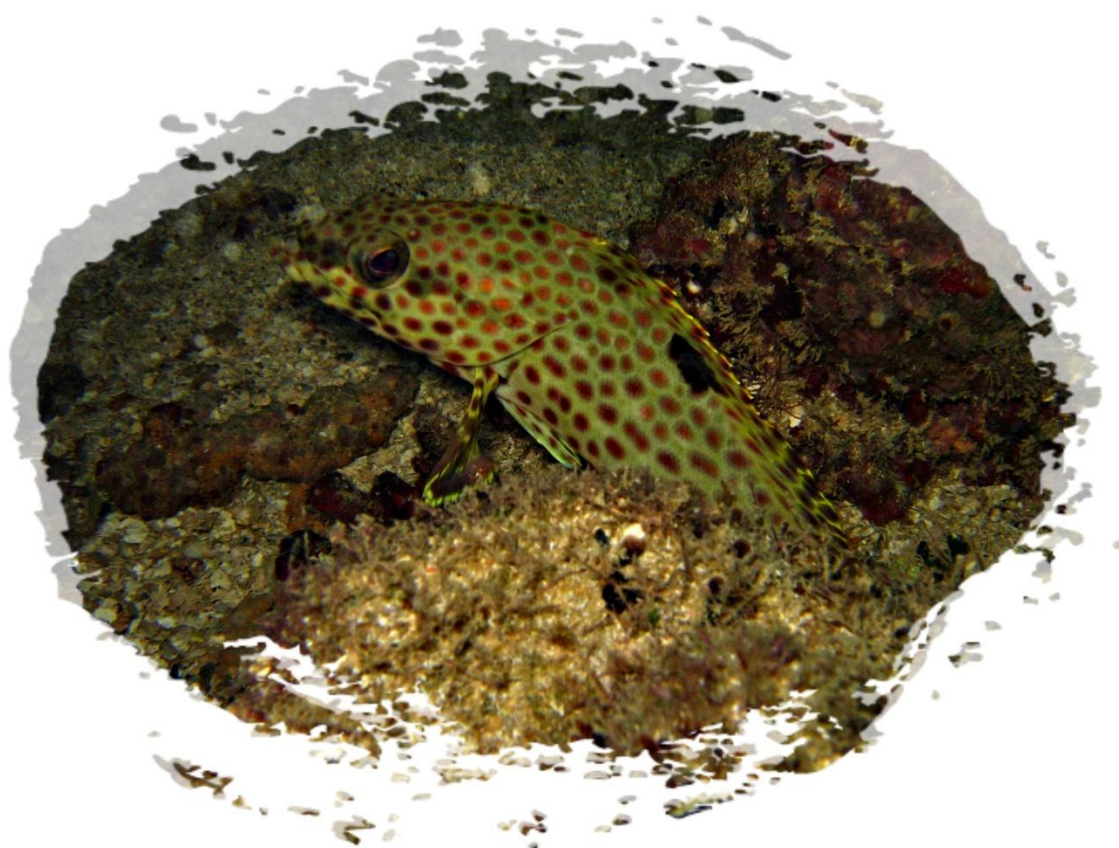
Villamil, M. M.; Lorenzo, J. M.; Pajuelo, J. G.; Ramos, A. & Coca, J. 2002. Aspects of the life history of the salema, *Sarpa salpa* (Pisces, Sparidae), off the Canarian Archipelago (central-east Atlantic). *Environmental Biology of Fishes* 63: 183-192.

Referências eletrônicas

Ferreira, B.P., Gaspar, A.L.B., Marques, S., Sadovy, Y., Rocha, L., Choat, J.H., Bertoncini, A.A. & Craig, M. 2008. *Cephalopholis fulva*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Disponível em <http://www.iucnredlist.org>

Capítulo 5

**Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato
Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco,
Brasil**



Resumo

Epinephelus adscensionis é uma espécie recifal frequentemente explorada pela pesca artesanal no litoral do nordeste brasileiro. A proposta desse estudo foi determinar a idade e o padrão de desenvolvimento sexual de *E. adscensionis* no Brasil. As amostras biológicas de otólitos e gônadas foram obtidas de coletas realizadas em desembarques pesqueiros no litoral de Pernambuco entre Março de 2008 a Outubro de 2009. Peixes juvenis dessa espécie foram obtidos em coletas adicionais em recifes rasos para cobrir as menores classes de tamanho ausentes nos desembarques e também para os experimentos de validação da idade com tetraciclina (TC). Otólitos de peixes experimentais marcados com TC mostraram a formação de um anel por ano. As populações de *E. adscensionis* pescadas no litoral de Pernambuco apresentaram baixa longevidade e foram classificadas como hermafroditas protogínicas. Os peixes mais velhos da população atingiram 15 anos de idade com comprimento máximo de 44 cm CT. Os parâmetros de crescimento obtidos com o de von Bertalanffy (VGBF) para a população de *E. adscensionis* foram: $L_{\infty} = 37.02$ cm CT, $K = 0.19$, $t_0 = 0.89$. A distribuição de comprimento e idade por sexos apresentaram a maioria dos machos maiores que as fêmeas com sobreposição da idade entre 5 e 12 anos. O tamanho (L_{m50}) e idade (A_{m50}) de primeira maturação para fêmeas foram 20 cm L_T e 4 anos de idade. A variação do tamanho e idade de mudança de sexo dos peixes transicionais foram 23.4-32.1 cm CT e 4-9 anos. Nesse estudo *E. adscensionis* apresentou baixa taxa de mortalidade ($Z=0.28$). Devido ao aumento da captura de espécies de peixes recifais nos últimos anos, torna-se necessário um monitoramento contínuo das populações recrutadas pela pesca para manutenção e conservação dos seus estoques.

Palavras chave: idade, crescimento, reprodução, mudança de sexo

Introdução

Epinephelus adscensionis (Osbeck, 1765), conhecida no nordeste brasileiro como garoupa gato, é uma espécie solitária carnívora que se alimenta principalmente de crustáceos (caranguejos, camarões) e peixes, e pode atingir 61 cm de comprimento (Heemstra & Randall, 1993). A sua distribuição geográfica é ampla com registro desde o Atlântico Ocidental Norte (Massachusetts) até o litoral sul do Brasil (Santa Catarina)

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

(Figueiredo & Menezes, 1980; Carvalho-Filho, 1999). No Atlântico Oriental ocorre também nas Ilhas de Ascensão e Santa Helena (Heemestra & Randall, 1993) e na Ilha de São Tomé (Golfo da Guiné) (Afonso *et al.*, 1999). Na pesca comercial, essa espécie tem menor importância na região das Bermudas no Atlântico Norte Ocidental, mas tem apresentado alto registro de captura na pesca de linha, armadilhas e arpão nas Ilhas de Ascensão e Santa Helena no Atlântico Norte oriental (Heemestra & Randall, 1993; Choat & Robertson, 2008). No Brasil, região do Atlântico Sul Ocidental, essa espécie é comum no litoral do nordeste e tem sido capturada principalmente pela pesca multiespecífica de armadilhas (covos) na plataforma continental do litoral norte de Pernambuco (Itamaracá e Recife) (30-50 m de profundidade) (Marques & Ferreira, 2011).

A proposta desse estudo foi determinar o padrão de desenvolvimento sexual e a idade de *E. adscensionis* para avaliar o modo reprodutivo, a longevidade e o crescimento de suas populações em áreas de pesca da costa nordeste do Brasil.

Material e Métodos

Amostragem

As amostras foram obtidas entre Março 2008 e Outubro 2009 através de acompanhamento mensal de desembarques de pescarias artesanais multiespecíficas no litoral de Pernambuco (Brasil). As principais artes de pesca para essa espécie foram pesca de linha nos recifes rasos (2-3 m), e pesca de linha e armadilhas nos recifes profundos (30-60m). Os municípios de amostragem do estado de Pernambuco foram: Itamaracá (7°44'S, 34°49'W), Recife (8°04'S, 34°52'W), Tamandaré (8°45'S, 35°05'W) e São José da Coroa Grande (8°53'S, 35°08'W). Peixes menores foram obtidos dos recifes rasos de Tamandaré em profundidades média de 3 metros com uso de puçás. Todos os peixes foram medidos com o comprimento total (CT, centímetros) e pesados (PT, gramas). As gônadas de cada indivíduo foram removidas, pesadas (gramas) e fixadas em FAAC (formaldeído 4%, ácido acético 5%, cloreto de cálcio 1.3%) (Ferreira, 1993). Em *E. adscensionis* o otólito sagittae foi o mais largo dos três pares de otólitos e foi o escolhido para remoção, limpeza e armazenamento a seco.

Reprodução

O sexo dos peixes foi determinado por análise histológica das gônadas seccionadas transversalmente a 4-5 μm e coradas com hematoxilina-eosina. Os estágios de maturação foram determinados nas análises histológicas dos ovários e testículos. As classificações de ovogênese e espermatogênese foram baseadas em Nagahama (1983) e os estádios de desenvolvimento sexual seguiram Ferreira (1993, 1995).

O período de desova foi determinado através das análises histológicas e do índice gonadossomático (*IG*). O *IG* foi calculado com:

$$IG = W_{Go} / W_t \times 100$$

em que:

W_{Go} = peso gonadal;

W_t = peso total.

A quantidade de gordura depositada nos mesentérios foi indicada para avaliar a variação da gordura armazenada durante o ciclo reprodutivo. A gordura do mesentério foi estimada seguindo uma escala relativa de 1 a 3, em que cada escala indicava a proporção de gordura cobrindo a víscera (1: nenhuma gordura visível; 2: gordura cobrindo as vísceras parcialmente; 3: gordura cobrindo completamente as vísceras). A estimativa foi feita sempre pelo mesmo observador. Essa escala foi transformada em percentagem para comparar com o *IG*. A análise não paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA ($P < 0.05$) foi usada para examinar diferenças entre: *IG* de fêmeas e machos; *IG* durante os meses de 2008 e 2009; gordura mesentérica entre machos e fêmeas e durante os meses; entre os tamanhos de fêmeas e machos maduros. Correlação de Spearman foi usada para analisar a relação entre peso gonadal e o tamanho.

Fêmeas e machos maduros foram incluídos para calcular a proporção sexual somente no período reprodutivo. O teste quiquadrado (X^2) foi usado para comparar a proporção sexual (fêmeas maduras: machos maduros) entre os meses do período reprodutivo.

Tamanho e idade de maturação e mudança de sexo

O tamanho de primeira maturação sexual (L_{50}) de *E. adscensionis* foi estimado para fêmeas pelo ajuste de uma função logística (King, 1997) para a proporção de peixes maduros (P_o) nas categorias de tamanho:

$$(LT): P_o = \{1 + [-r(L_{smid} - L_{50})]\}$$

em que:

L_{smid} = ponto médio da classe de tamanho L_T ;

L_{50} = média do L_T da maturação sexual;

r = constante que aumenta no valor com a declividade da maturação.

O mesmo processo foi usado para estimar a idade da maturação sexual (A_{50}) usando a proporção de fêmeas maduras em cada classe de idade. O tamanho de mudança de sexo foi considerado da amplitude de ocorrência do tamanho e idades nas quais foram observados indivíduos transicionais. A mudança de sexo também foi estimada por duas razões: variação do tamanho de peixes transicionais dividido pelo tamanho máximo coletado; variação da sobreposição nos tamanhos de machos e fêmeas divididos pelo tamanho máximo coletado (Erisman *et al.*, 2010).

Leitura dos otólitos

O otólito sagittae direito de cada indivíduo de *E. adscensionis* foi escolhido para ser seccionado e lido. Cada otólito foi embebido em resina e uma secção transversal (0.3mm) foi feita através do centro (núcleo) do otólito, usando uma serra metalográfica Buehler Isomet de baixa velocidade. As secções foram polidas em ambos os lados com o uso de lixas d'água (1200, 2000) e em seguida foram montadas lâminas histológicas dessas secções com entelan e lamínulas. Otólitos sagittae inteiros não foram utilizados, pois eles geralmente apresentam baixas estimativas de idade nos indivíduos mais velhos. Nesse estudo os anéis dos otólitos seccionados de indivíduos juvenis foram bem

evidentes e não foi necessário utilizar os otólitos inteiros para confirmar a idade estimada.

Os otólitos seccionados foram observados em estereomicroscópio usando luz refletida com fundo preto. As zonas opacas foram observadas e contadas da região do núcleo até a região da borda ao longo da face proximal do otólito próximo à margem do sulcus acusticus. Os otólitos seccionados de *E. adscensionis* foram lidos pelo menos 2 vezes para se estimar o número de zonas opacas por um único leitor com intervalo mínimo de 10 dias. A precisão da estimativa da idade foi calculada com o Índice da Média de Erro em Percentagem (IAPE) (Beamish and Fournier, 1981).

Para determinar quais foram os períodos de maior formação das zonas opacas e translúcidas nos otólitos de *E. adscensionis* foram realizadas classificações do tipo de borda dos otólitos (opaca ou translúcida). As distribuições (em percentagem) dos tipos de bordas foram analisadas bimestralmente.

Periodicidade de formação dos anéis

Para examinar o crescimento dos otólitos e o tempo de formação da zona opaca nos otólitos de *E. adscensionis*, a tetraciclina (TC) foi usada para marcar os otólitos em peixes experimentais. Peixes juvenis vivos de *E. adscensionis* foram capturados em recifes rasos de Tamandaré usando puçás entre Novembro de 2008 a Janeiro de 2009. Os peixes capturados foram aclimatados em aquários (60L) por alguns dias antes de serem marcados com TC. Antes e após o experimento, todos os indivíduos foram medidos com o comprimento total (CT, cm). Todos os peixes maiores foram marcados com TC por injeção na cavidade celomática com a dosagem de 50 mg de TC kg⁻¹ em uma concentração de 50 mg de TC ml⁻¹ em solução salina estéril (Ferreira & Russ, 1994). Os peixes marcados com TC foram mantidos em aquários (60L) com água salgada em temperatura (27-30°C) e salinidade ambientes, e alimento (camarão ou pedaços de peixes) foi oferecido uma vez por dia.

Após o término do experimento dos peixes marcados com TC o par de otólitos sagittae foi removido. Os otólitos direitos marcados com TC foram selecionados para serem seccionados. A metodologia de corte foi a mesma descrita anteriormente. Os otólitos marcados com TC seccionados foram lidos e fotografados em microscópio

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

composto com fonte de luz fluorescente (Leica DMRB Photomicroscope). O número de zonas opacas e translúcidas entre a marca fluorescente (TC) e a borda foi determinado observando a secção do otólito com fonte de luz externa branca junto com a luz ultravioleta do microscópio (Ferreira & Russ, 1994).

Determinação da idade pela formação do primeiro anel

Para determinar o tempo de formação das bandas translúcidas e opacas entre a marca TC e a borda do otólito, as distâncias entre elas foram registradas e comparadas com o intervalo de tempo correspondente. A posição relativa das zonas translúcidas e opacas dessas marcas foram medidas e plotadas (Ferreira & Russ, 1994). A posição dessas marcas foi usada para dar suporte na interpretação do que constitui a formação do primeiro anel. As medidas reais foram padronizadas para permitir comparações entre os peixes marcados com diferentes idades.

Modelo de crescimento

A função do crescimento de von Bertalanffy (VBGF) foi ajustada aos dados de comprimento e idade de *E. adscensionis* para fêmeas e machos juntos:

$$L_t = L_{\infty} [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

Onde,

L_t = comprimento total (cm) dos indivíduos na idade t ;

L_{∞} = comprimento total máximo assintótico de L_T ;

K = taxa de crescimento (ano^{-1}) na qual a curva se aproxima do L_{∞} ;

t_0 = idade hipotética do peixe no comprimento zero.

A média dos tamanhos de machos e fêmeas em diferentes classes de idade foi comparada usando teste t.

Mortalidade

A estimativa da mortalidade total Z foi obtida usando a idade baseada no método de curvas de capturas que se fundamenta na análise gráfica da regressão linear entre o logarítmo natural do número de peixes das capturas por classe de comprimento e sua respectiva idade (Beverton & Holt, 1957). O logarítmo natural do número de peixes em cada classe de idade (Nt) foi plotado contra a idade correspondente (t) e Z foi estimado da inclinação descendente, b .

Resultados

Composição das capturas

Foram coletados 213 indivíduos de *E. adscensionis*, variando de 14.5 a 44.1 cm CT nos desembarques de pesca no litoral de Pernambuco entre Abril 2008 a Outubro 2009. A pesca de armadilha em recifes profundos (30-60m) compreendeu 85% dos peixes coletados enquanto que a pesca de linha e arpão nos recifes rasos (2-30m) compreendeu apenas 14.5% dos peixes coletados. As classes de tamanho dos peixes coletados na pesca de armadilhas e pela pesca de linha e arpão não foram significativamente diferentes (Kruskal-Wallis ANOVA, $df = 1$, $P = 0.50$; Fig.1). O número de indivíduos analisados por mês variou entre 7 a 16 de acordo com a disponibilidade e o período do ano. As classes de tamanho dos peixes coletados variaram entre 14 e 44 cm CT (Fig.1).

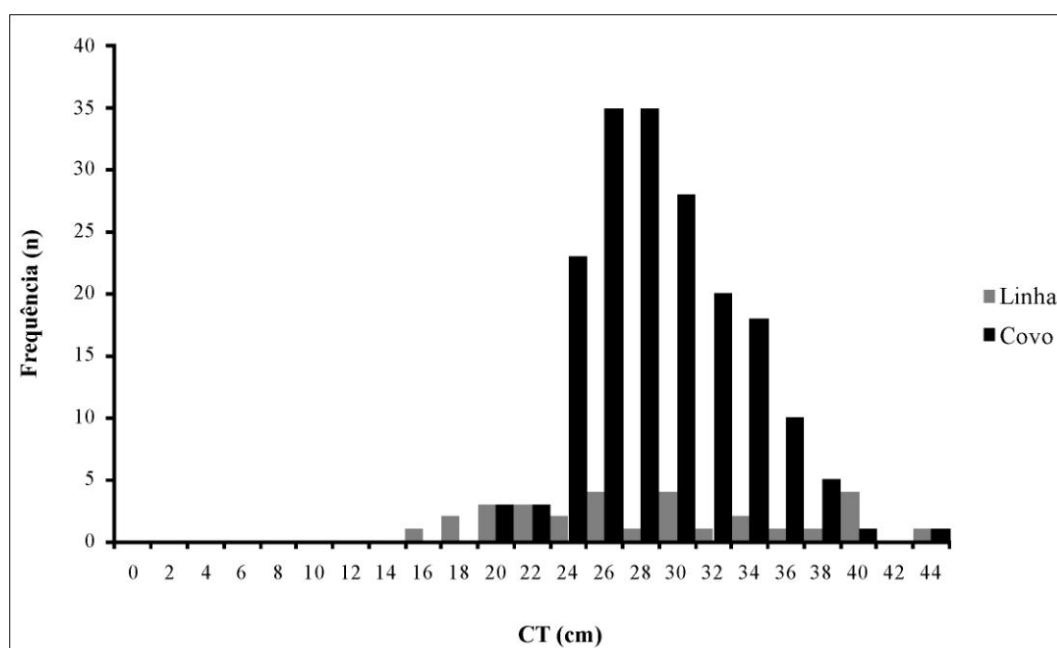


Fig. 1. Distribuição das classes de tamanho de *Epinephelus adscensionis* coletadas na pesca no litoral de Pernambuco (n=213).

Reprodução

Foram analisadas lâminas histológicas de gônadas de 211 peixes de *E. adscensionis*. A determinação do sexo foi realizada em observações macroscópicas somente durante o período reprodutivo quando foi possível identificar as gônadas das fêmeas e dos machos. As gônadas de fêmeas e machos apresentaram a estrutura com o lúmen e várias lamelas projetando-se para dentro do lúmen das paredes dorsais e laterais. Cada gônada foi atribuída nas seguintes fases: fêmeas imaturas; fêmeas em repouso, em maturação, maduras e esgotadas; fase transicional (mudança de sexo); machos em repouso, em maturação, maduros e esgotados. As classificações das fases de desenvolvimento sexual de machos e fêmeas com características macroscópicas e histológicas estão descritas na Tabela 1. A fase de mudança de sexo nos peixes transicionais de *E. adscensionis* foi caracterizada nas análises histológicas pelas principais evidências de hermafroditismo funcional quando apareceram criptas espermáticas e tecido ovariano em degeneração. Alguns indivíduos de fêmeas transicionais na fase de repouso apresentaram feixes de músculos (MB) remanescentes de tecido conectivo intralamelares indicando desova anterior como também presença de sinus espermático.

Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil

Tabela 1. Descrição dos estádios gonadais de *Epinephelus adscensionis*

Estádios gonadais	Descrição Macroscópica	Descrição histológica
F		
Imatura	Ovários pequenos e finos com coloração rosa a translúcida.	Ovários pequenos em diâmetros sem evidência de desova; parede gonadal fina; lamelas cheias de ovócitos em estágio inicial perinuclear (Fig.2a).
Em repouso	Ovários mais largos que as fêmeas imaturas de coloração rosa-amarelada.	Ovócitos em estágio inicial perinuclear (previtelogênico); presença de corpúsculos marrons; presença de feixes musculares (MB) também usados como indicadores de determinação da desova anterior (Fig.2d).
Em maturação	Ovários de coloração rosa-amarelada maiores que os das fêmeas em repouso.	Ovócitos em estágio vitelogênico (vesículas lipídicas) com o início do estágio de formação de vesículas globulares (Fig.2b).
Madura	Ovários largos amarelados com aparência granular com ovócitos maduros visíveis.	Ovários com ovócitos em vitelogênese completa e ovócitos hidratados (Fig. 2c).
Esgotada	Ovários amarelados a pálidos, flácidos com bastante irrigação sanguínea.	Lamelas interrompidas com células foliculares, remanescentes de folículos pós-ovulatórios e ovócitos vitelogênicos em vários estágios de atresia.
Transicional	Não foi possível avaliar essa fase em observações macroscópicas.	Ovário mostrou degeneração de tecido ovariano e proliferação de tecido espermático com pequenas criptas ou grupos de espermatozoides em fêmeas no estágio de repouso. (Fig. 2d)
M		
Em repouso	Não foi possível avaliar essa fase em observações macroscópicas.	Estágio inicial de espermatogênese com criptas de espermatogonia e espermatócitos em primeiro estágio; sinus dorsal presente com alguns espermatozoides (Fig.3d).
Em maturação	Não foi possível avaliar essa fase em observações macroscópicas.	Presença de criptas contendo espermatócitos, espermatídes e alguns espermatozoides; sinus dorsal com espermatozoides (Fig. 3a).
Maduro	Testículos largos com coloração leitosa devido a presença de sêmen repleto de espermatozoides	Sinus dorsal e intralobulares repletos de espermatozoides (Fig.3b).
Esgotado	Não foi possível avaliar essa fase em observações macroscópicas.	Poucos espermatozoides nos sinus. Sinus intralobulares com criptas de espermatogônias. Espermatócitos em primeiro estágio começando aparecer (Fig. 3c).

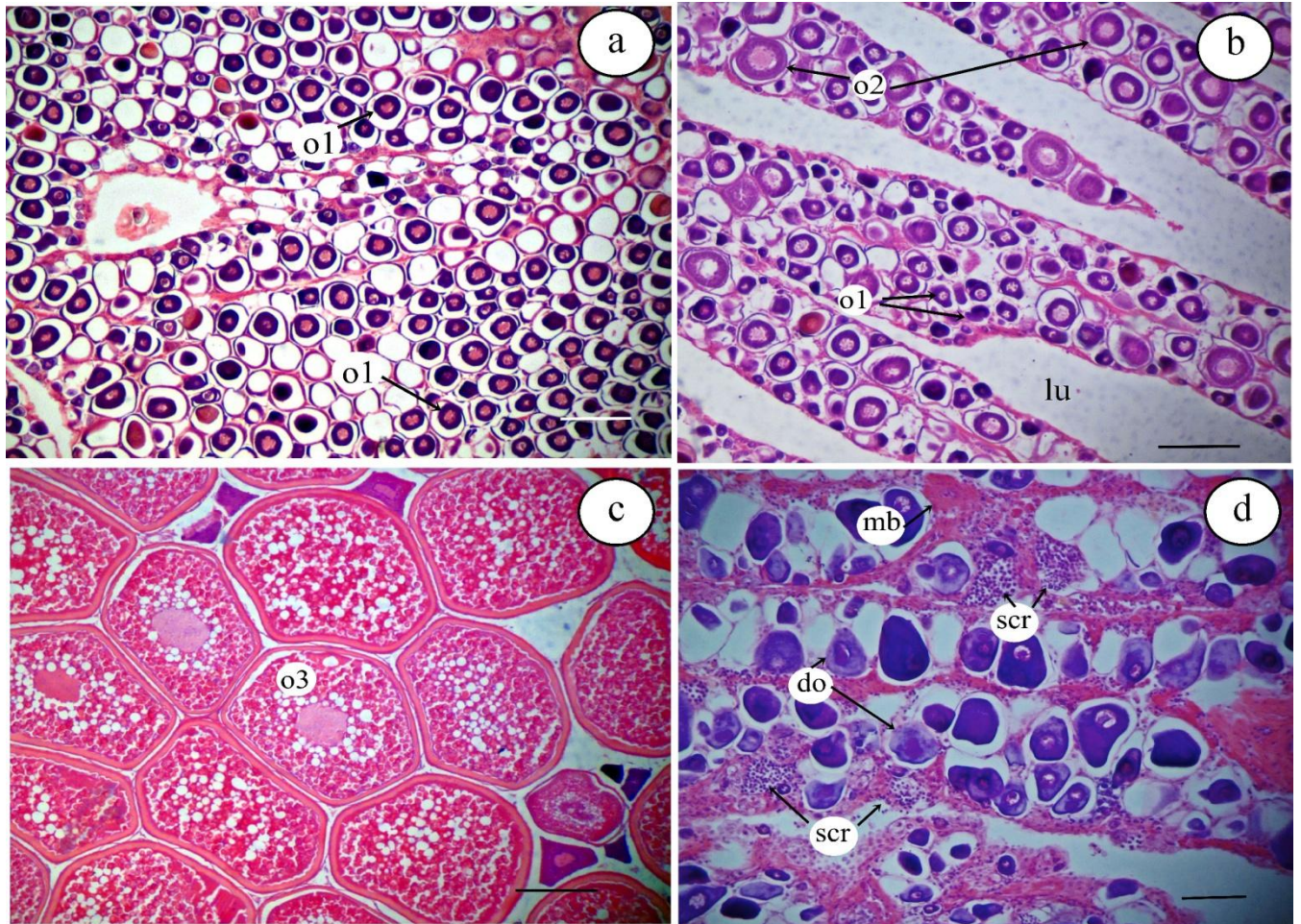


Fig. 2. Fotomicrografias de seções histológicas de ovários de *E. adscensionis*. (a) Fêmea imatura (escala = 100 μ m) (21.8 cm CT). (b) Fêmea em maturação (escala = 200 μ m) (27.2 cm LT). (c) Fêmea madura (escala = 200 μ m) (23.4 cm CT). (d) Fêmea transicional (escala = 50 μ m) (28.0 cm CT). o1 = ovócito pré-vitelogênico, o2 = ovócito secundário em estágio vitelogênico; o3 = ovócito com vitelogênese completa, lu = lúmen ovariano, mb = feixe muscular; scr = cripta espermática, do = ovócito em degeneração.

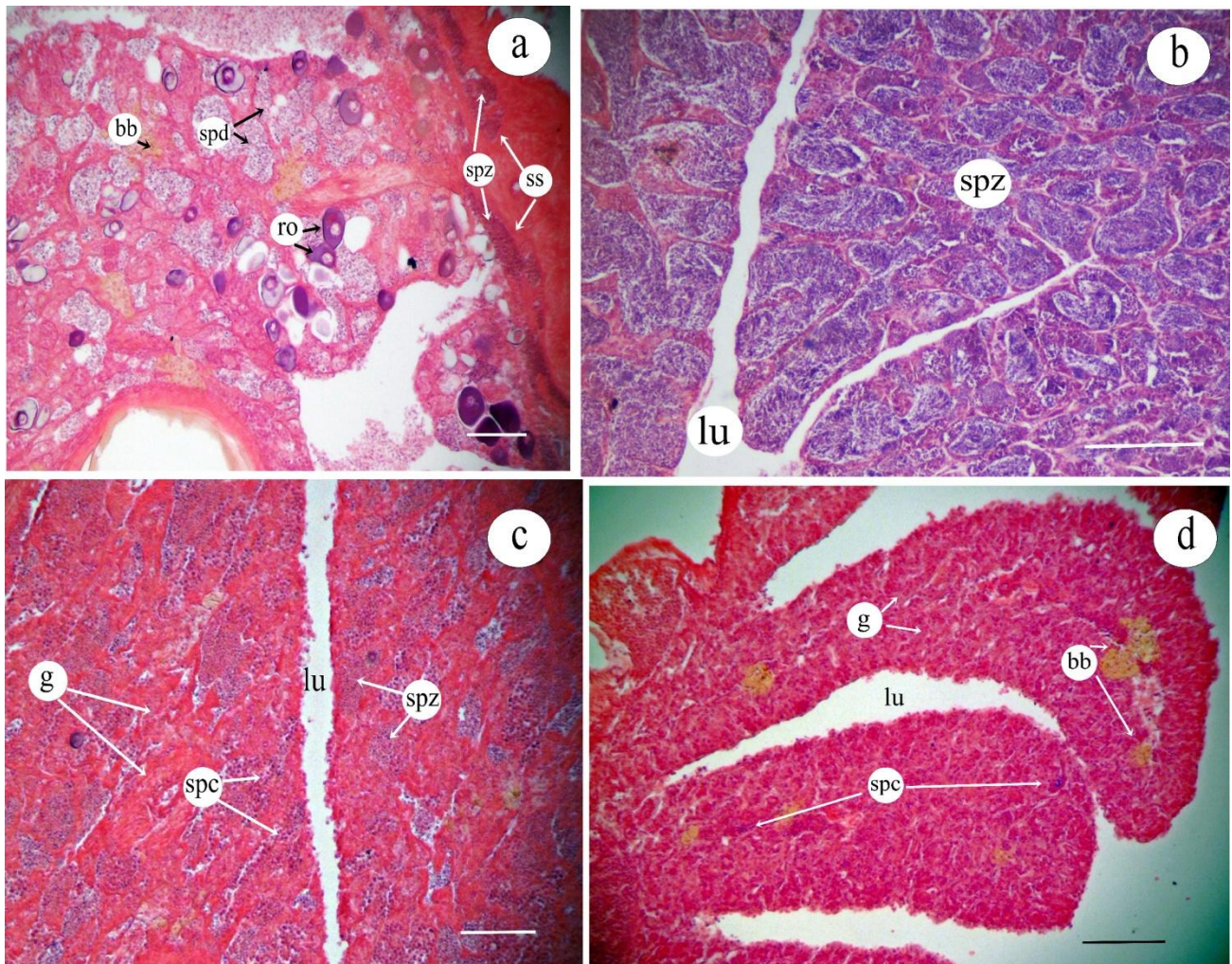


Fig. 3. Fotomicrografias de seções histológicas de testículos de *E. adscensionis*. (a) Macho em maturação (escala = 50 μ m) (30.3 cm CT). (b) Macho maduro (escala = 200 μ m) (37.0 cm LT). (c) Macho esgotado (escala = 50 μ m) (32.0 cm CT). (d) Macho em repouso (escala = 50 μ m) (29.6 cm CT). sc = espermatócito, spd = espermátide, spz = espermatozóide, ss =sinus espermático, ro = ovócito residual, lu = lúmen, g = espermatogônia, bb = corpúsculo marrom.

Sazonalidade e peridiocidade da desova

O período de desova de *E. adscensionis* iniciou-se em Julho e terminou em Novembro, tanto para 2008 como para 2009 (Fig. 4). Os machos apresentaram IG médio (0.11) menor que as fêmeas (0.52) durante o período de desova com o pico reprodutivo no mesmo período. Houve diferenças significativas entre os IGs de fêmeas e machos (Kruskal-Wallis, $df = 1$; $P < 0.05$) e principalmente entre os IGs entre as fases de repouso e reprodução de 2008 e 2009 (Kruskal-Wallis, $df = 19$; $P < 0.05$). Durante o pico reprodutivo os machos e fêmeas também apresentaram alto desvio padrão devido à grande variação do IGs dos peixes nesse período. Verificou-se um aumento da gordura

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

mesentérica durante os meses que antecedem o período reprodutivo e uma queda do início ao final do período reprodutivo para fêmeas e machos (Fig. 4). A variação da quantidade de gordura mesentérica foi antifásica quando comparada com os IGs de fêmeas e machos, e foi inversamente correlacionada com o peso gonadal para machos (Spearman rank $R_s = -0.571$; $P < 0.05$) e fêmeas (Spearman rank $R_s = -0.314$; $P < 0.05$) maduros.

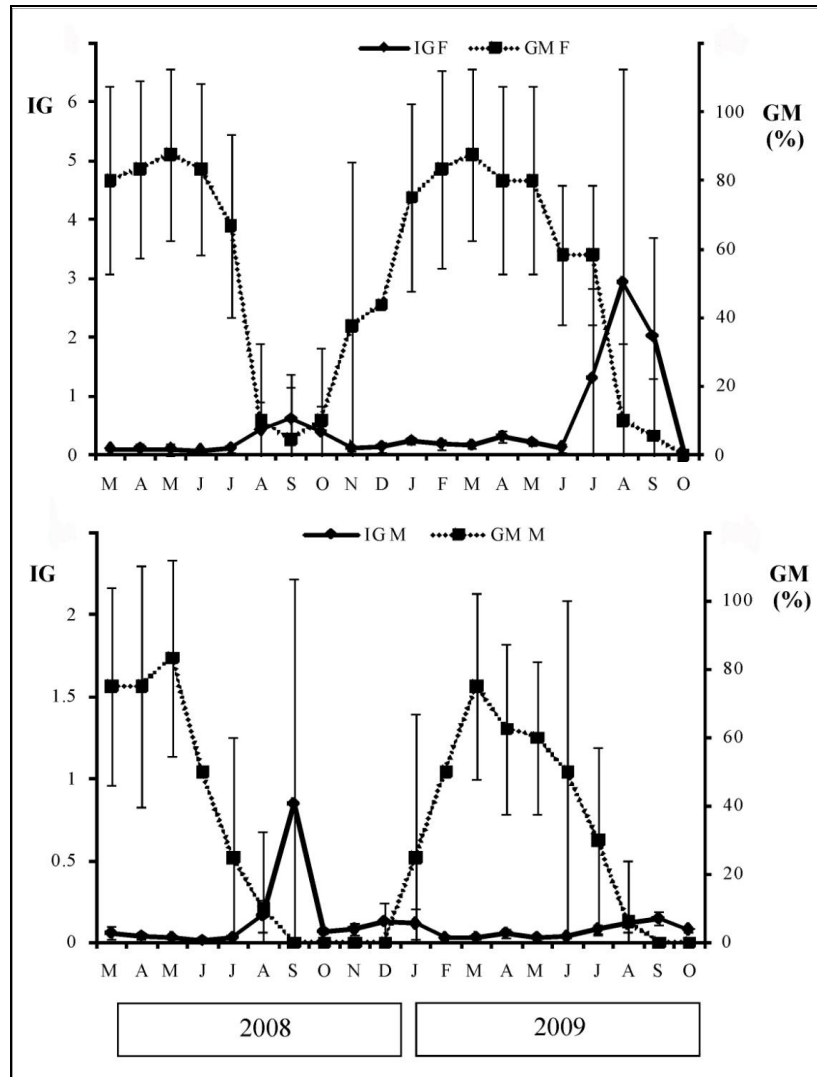


Fig. 4. Variação mensal da análise do índice gonadosomático (IG) de fêmeas (IG F; $n = 123$), machos (IG M; $n = 84$); e gordura mesentérica (GM – GM F; GM M) de *Epinephelus adscensionis*. Barras de erro mostram o desvio padrão dos dados originais.

Fêmeas maduras de *E. adscensionis* foram observadas em 2008 de Agosto até Outubro e em 2009 de Julho a Setembro (Fig. 5). As fêmeas desovantes nesse estágio apresentaram ovócitos maduros e alguns hidradatos. Poucos ovócitos em estágio de desenvolvimento inicial foram encontrados nas fêmeas maduras. Machos maduros foram observados de Julho a Outubro 2008 e de Junho a Outubro 2009 (Fig. 5) apresentando sinus espermático dorsal e lobular preenchidos de espermatozóides. Machos foram ausentes nas coletas somente no mês de Novembro e machos imaturos não foram observados durante esse estudo. Fêmeas transicionais, identificadas com vários grupos de criptas espermáticas e ovócitos em degeneração, foram encontradas fora do período reprodutivo em Março e Novembro de 2008 e durante o período reprodutivo de 2008 (Outubro) e 2009 (Julho, Setembro e Outubro). Houve diferenças significativas entre as classes de tamanho dos estádios gonadais de fêmeas e machos e também dos transicionais (Kruskal-Wallis Test, $P < 0.05$; $df = 9$).

A proporção sexual (fêmeas: machos) de *E. adscensionis* foi 0.9:1 durante o período reprodutivo (Julho a Outubro) de 2008 e 2009, e a frequência de distribuição de fêmeas e machos maduros não foi significativa entre 2008 e 2009 (X^2 ; $P = 0.382$).

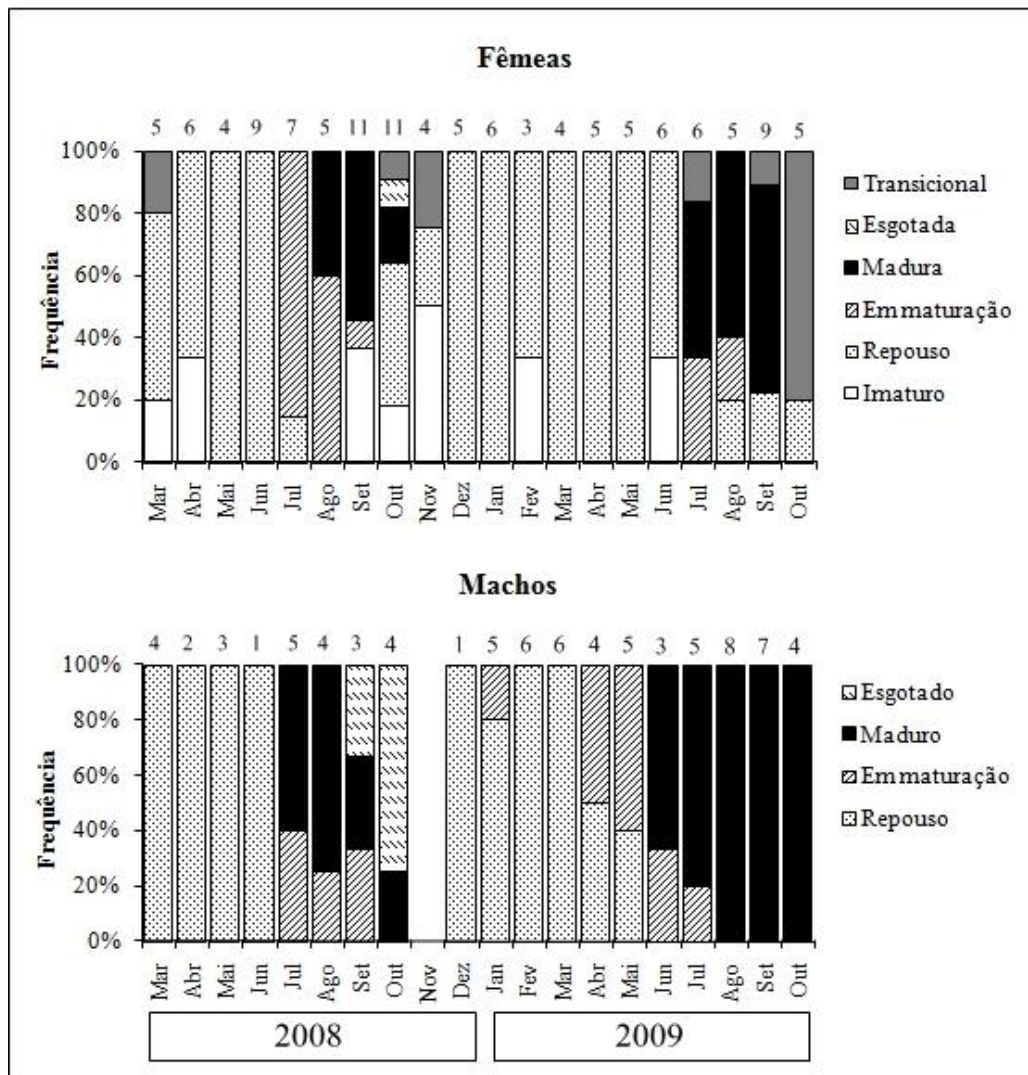


Fig. 5. Distribuição mensal da frequência dos estádios gonadais de fêmeas (n = 123), transicionais (n = 9) e machos (n = 84) de *E. adscensionis*.

Tamanho e idade de maturação e mudança de sexo

A classe modal de comprimento das fêmeas foi 26 cm CT e dos machos foi 32 cm CT indicando que a maioria dos machos foram maiores que as fêmeas (Fig. 6A). Machos e fêmeas apresentaram ampla sobreposição da idade entre 5 e 12 anos (Fig. 6B).

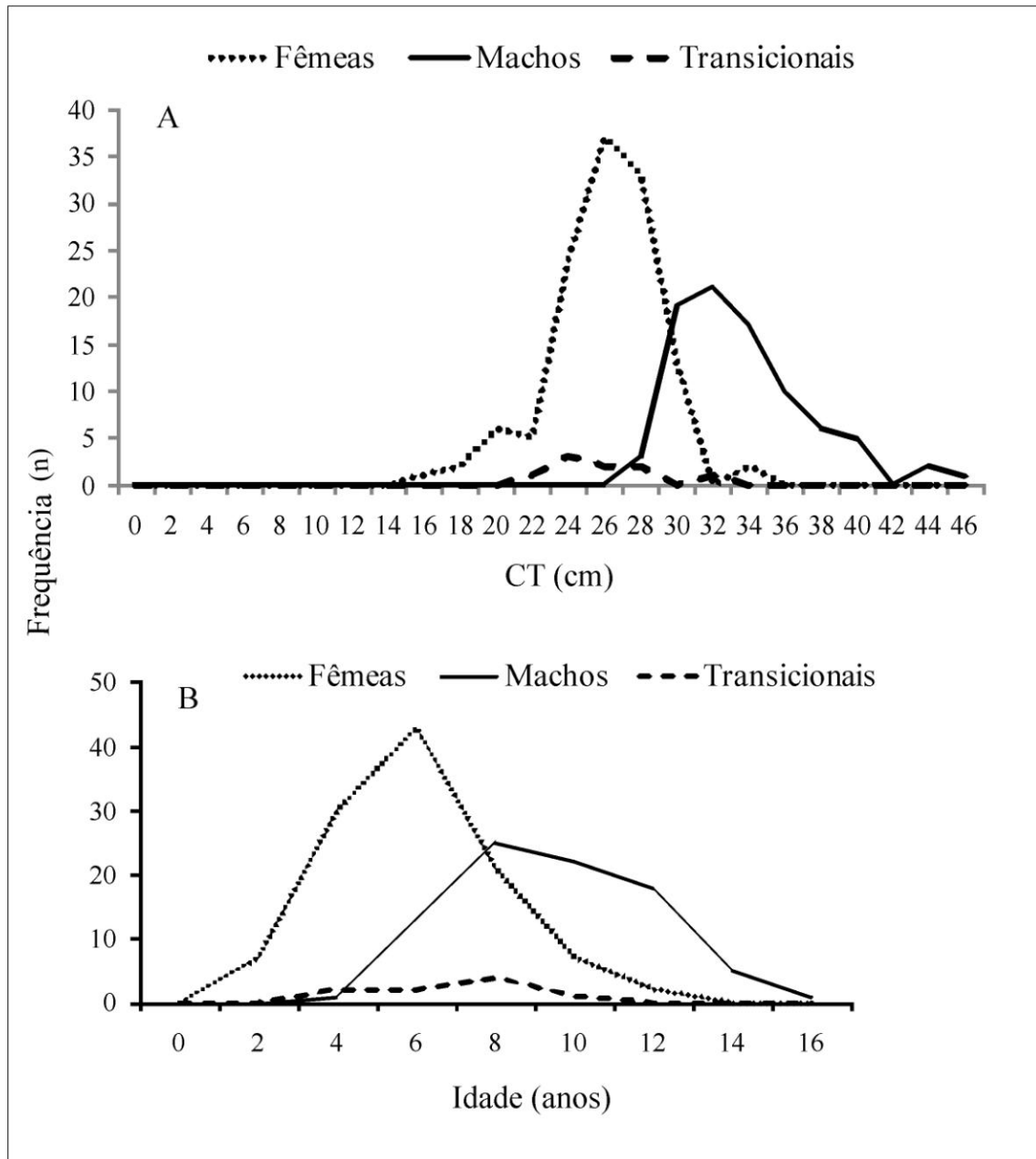


Fig. 6. Distribuição do tamanho (A) (n = 216) e idade (B) (n = 204) de fêmeas, machos e transicionais de *E. adscensionis*.

O tamanho mínimo de maturidade sexual dos machos foi de 26 cm CT com média de 6 anos de idade. O L_{50} e A_{50} da maturidade sexual das fêmeas foi 20 cm CT e 4 anos (Fig. 7). A estimativa da variação de tamanho para a mudança de sexo foi de 23.4 – 32.1 cm CT dos peixes na fase transicional, e de 26 – 33 cm L_T dos machos e fêmeas maduros que se sobrepuseram, equivalendo respectivamente a 53 – 72% e 59–75% do tamanho máximo corporal. As nove fêmeas transicionais encontradas tinham entre 4 e 9 anos de idade equivalendo a 26 – 60% da idade máxima. As estimativas da idade na sobreposição de fêmeas e machos foram entre 4 e 10 anos equivalendo a 26 – 60% da idade máxima.

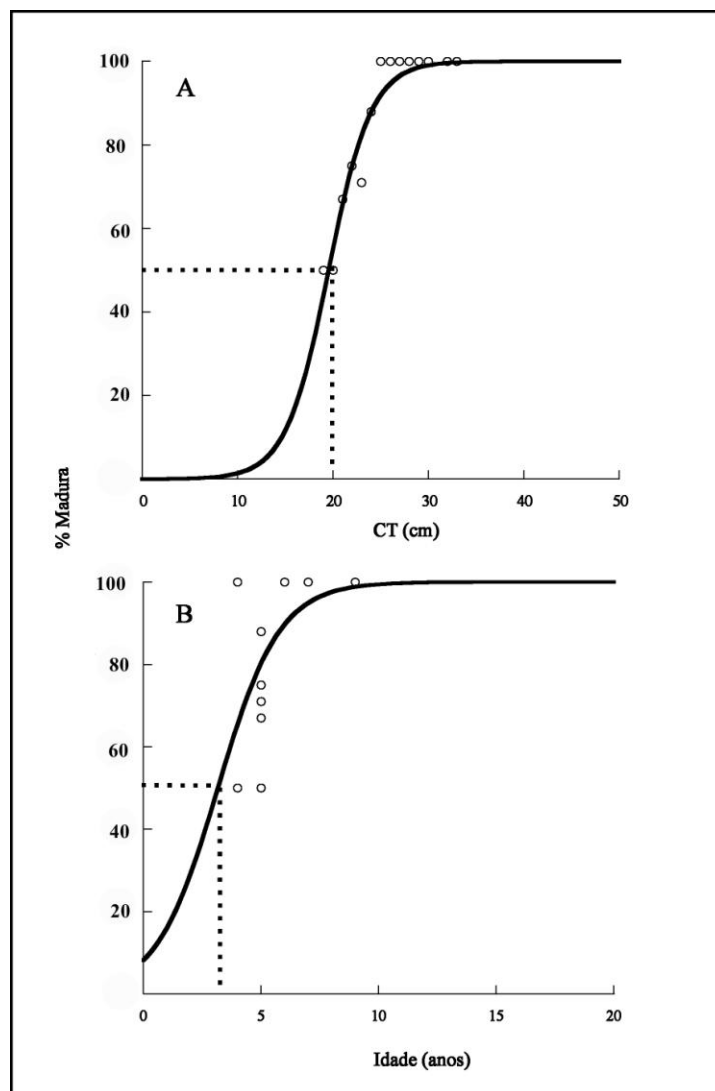


Fig. 7. Curva logística de maturação para fêmeas de *E. adscensionis*. (A) média do comprimento total (CT) na primeira maturação sexual (n= 123) e (B) média de idade da primeira maturação (n = 110), e a média do tamanho (L_{50}) e idade (A_{50}) de 50% das fêmeas maduras.

Leitura dos otólitos

Os otólitos sagittae de *E. adscensionis* apresentaram um padrão de anéis translúcidos alternando com os anéis opacos com contrastes bem definidos entre anéis (Fig.8). As estimativas das idades baseadas pela contagem das zonas opacas foram realizadas por 2 leituras em 204 otólitos seccionados. O cálculo do IAPE para 2 leituras realizadas dessa espécie apresentou 5.19% de erro.

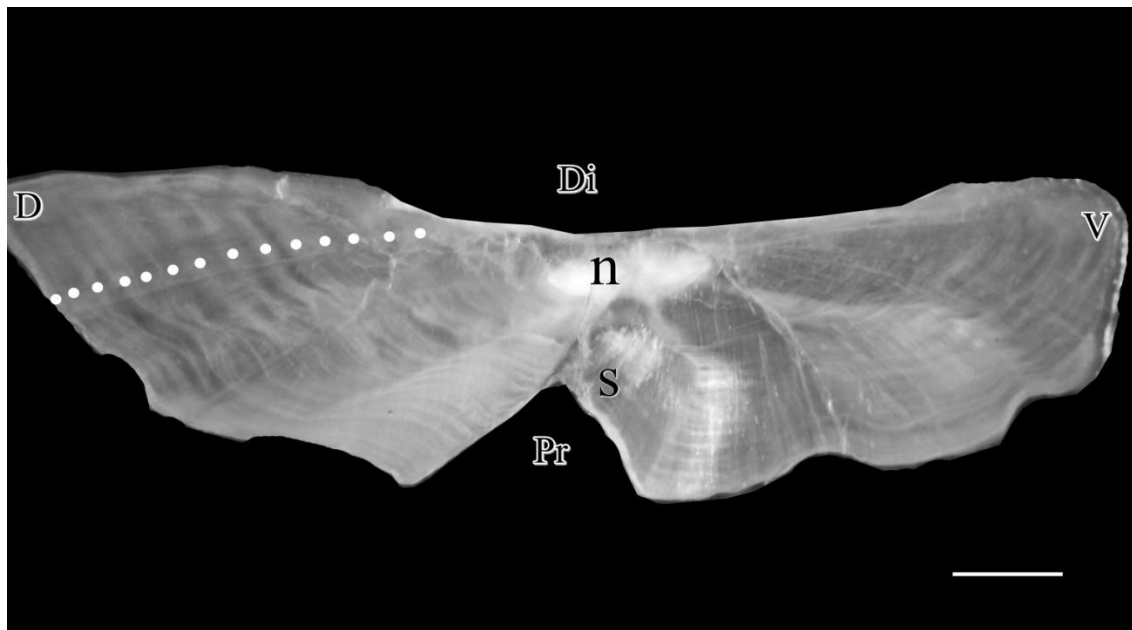


Fig. 8. Otólito seccionado de *Epinephelus adscensionis* com 14 anos mostrando o padrão de zonas translúcidas e opacas (círculos brancos); D = dorsal; V = ventral; Di = distal; Pr = proximal; S = sulcus acústicus; n = núcleo. Escala = 1 mm.

As análises bimestrais dos tipos de borda dos otólitos seccionados de *E. adscensionis* capturados na pesca mostraram que as bandas opacas e translúcidas não tiveram um padrão sazonal de formação. As bandas translúcidas apresentaram maior formação durante os meses de Março-Abril e Julho-Outubro de 2008 e 2009 (final do inverno e início da primavera). O padrão da formação das bandas opacas foi maior durante os meses Maio-Junho de 2008 e 2009 (inverno) e Janeiro-Fevereiro de 2009 (final do verão) (Fig.9).

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

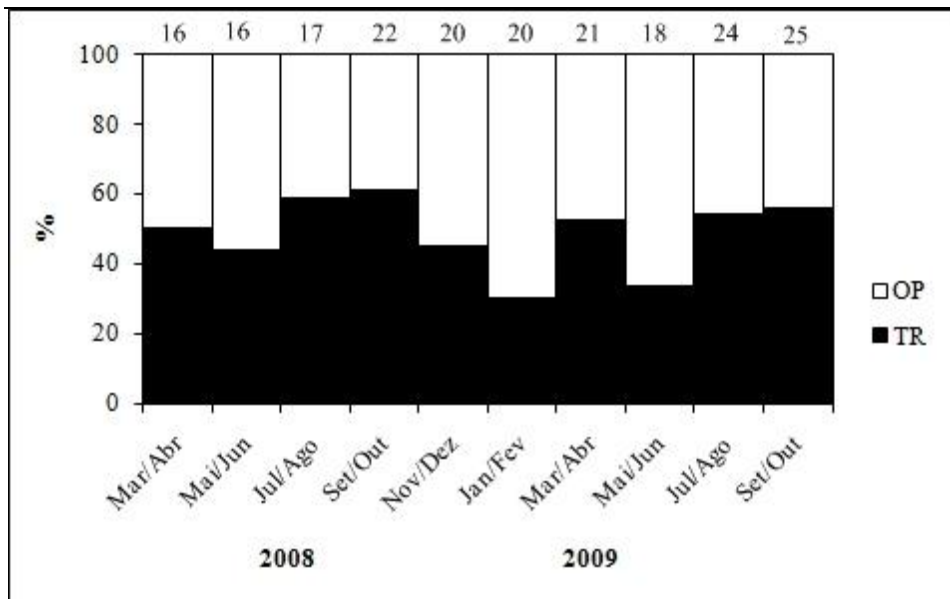


Fig. 9. Variação bimestral do tipo de borda (OP = borda opaca ou TR = translúcida) nos otólitos de *Epinephelus adscensionis* entre Março de 2008 e Outubro de 2009 (n = 200).

Periodicidade de formação dos anéis

Os quatro peixes experimentais coletados nos recifes rasos de Tamandaré foram medidos antes do tratamento com TC e após a morte. Os peixes com mais que 100 dias após o tratamento tiveram o crescimento mínimo de 3 cm (Tab. 2).

Tabela 2. Sumário dos experimentos de validação da idade em aquários para *Epinephelus adscensionis*

Peixe no.	CT1 (cm)	CT2 (cm)	CT1 – CT 2 (cm)	Tempo de experimento (dias)	Idade (anos)
1	14	17.2	3.2	119	1+
2	15	15.9	0.9	55	1+
3	9	13	4	459	1+
4	11	20.1	9.1	531	2+

CT 1, comprimento total antes do tratamento com TC; CT 2, comprimento total após o tratamento com TC.

Todos os peixes tratados com TC apresentaram as marcas fluorescentes em seus otólitos (Fig. 10). Foi possível constatar a formação do anel completo após o tratamento nos peixes nos. 3 e 4 (Fig. 11). A periodicidade da formação do anel foi presumida a partir do registro da banda translúcida em Janeiro (J) no peixe no.4 e das posições relativas das bandas nos outros peixes experimentais entre a marca TC e a borda do otólito (ver ‘?’ na Fig. 11). Dessa forma consideramos que a banda translúcida formou-

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus
adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

se entre os meses de Dezembro (D) e Janeiro (J) já que nos outros períodos foram registradas bandas opacas nos peixes experimentais (Fig. 11).

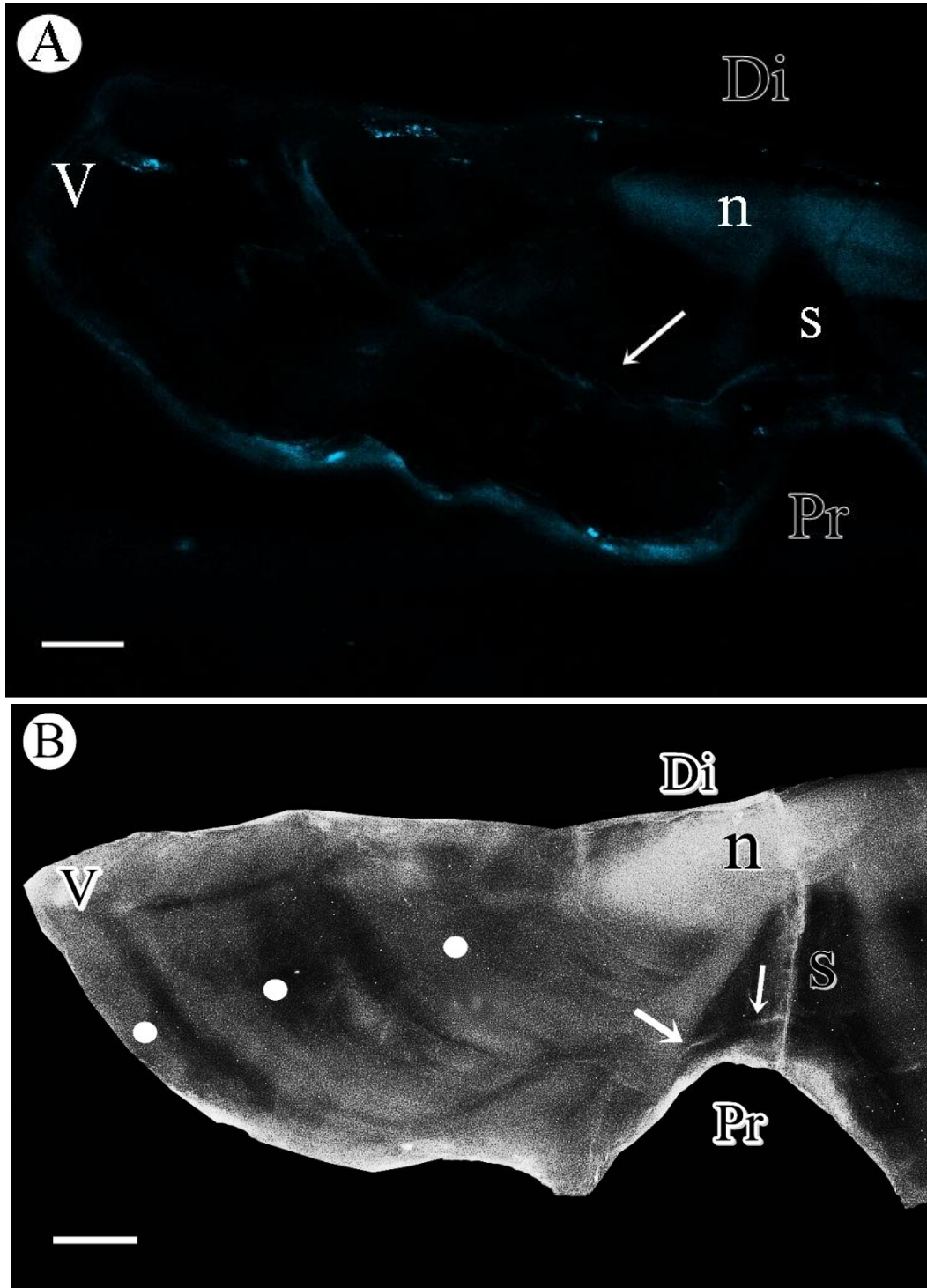


Fig. 10. Otólito seccionado de um peixe experimental com 2 anos *E. adscensionis* com a banda fluorescente (setas); (A) otólito observado em microscópio com luz UV; (B) otólito observado em microscópio com a combinação de luz branca e UV. Escala = 7µm; D = dorsal; V= ventral; Di = distal; Pr = proximal; S= sulcus acústico; n = núcleo; setas = banda fluorescente. Este otólito corresponde ao peixe no. 4 da Fig. 12.

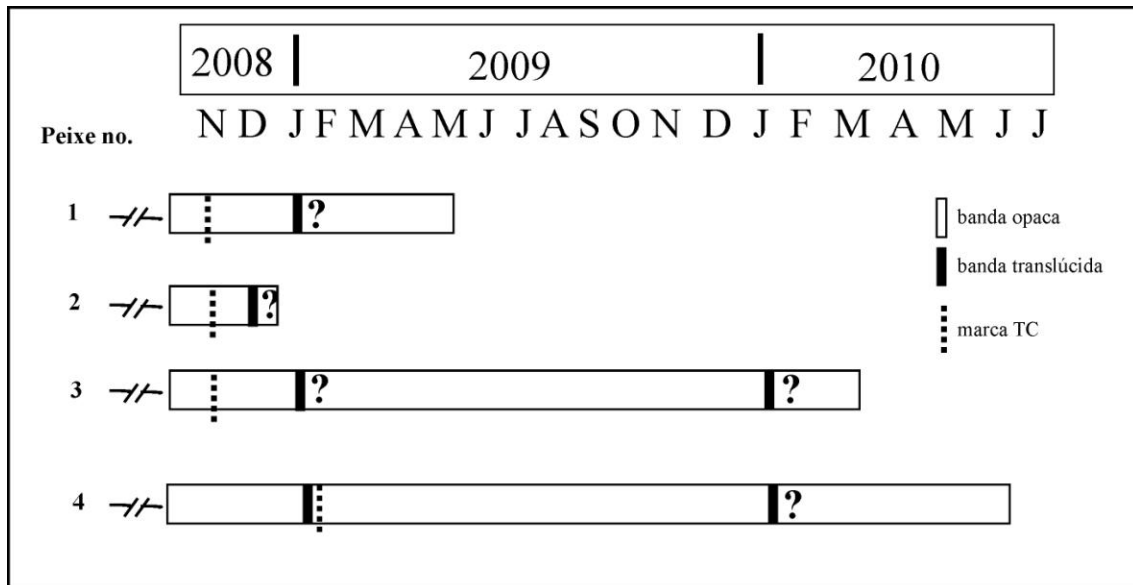


Fig. 11. Representação diagramática dos otólitos marcados com tetraciclina de *Epinephelus adscensionis*, mostrando as posições relativas da banda fluorescente, margem do otólito, zonas translúcidas e opacas ao longo do sulcus acusticus. O período entre o tratamento com a tetraciclina e a morte dos peixes (final das barras) está representado em meses no topo. O tempo de formação das zonas opacas ou translúcidas foi assumido durante o experimento. O símbolo (-/-) representa a região do otólito antes do experimento.

Modelo de Crescimento

As estimativas obtidas com a curva de crescimento VGBF para o comprimento-idade de *E. adscensionis* estão representados na Fig. 12.

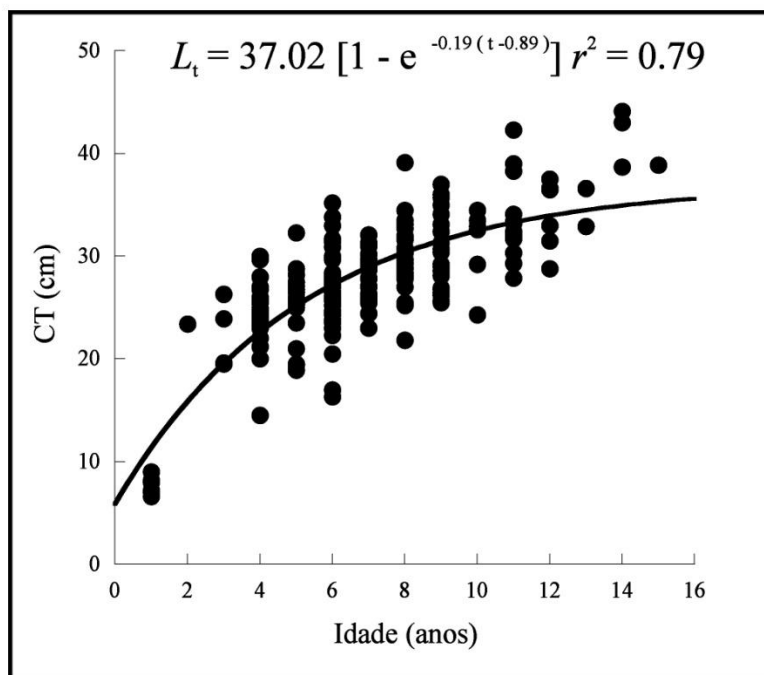


Fig. 12. Curva de crescimento von Bertalanffy ajustada para todos peixes de *Epinephelus adscensionis* capturados na pesca (n=204).

Os resultados da longevidade de *E. adscensionis* mostraram que os peixes mais velhos da população (14-15 anos) representados somente pelos machos tinham entre 38 e 44 cm CT (Fig. 13). Não foram encontrados machos juvenis com menos que 4 anos de idade (< 26 cm CT). Os tamanhos médios de machos e fêmeas em diferentes classes etárias mostraram diferença significativa (teste t, $df=16$; $P<0.05$) (Fig. 13).

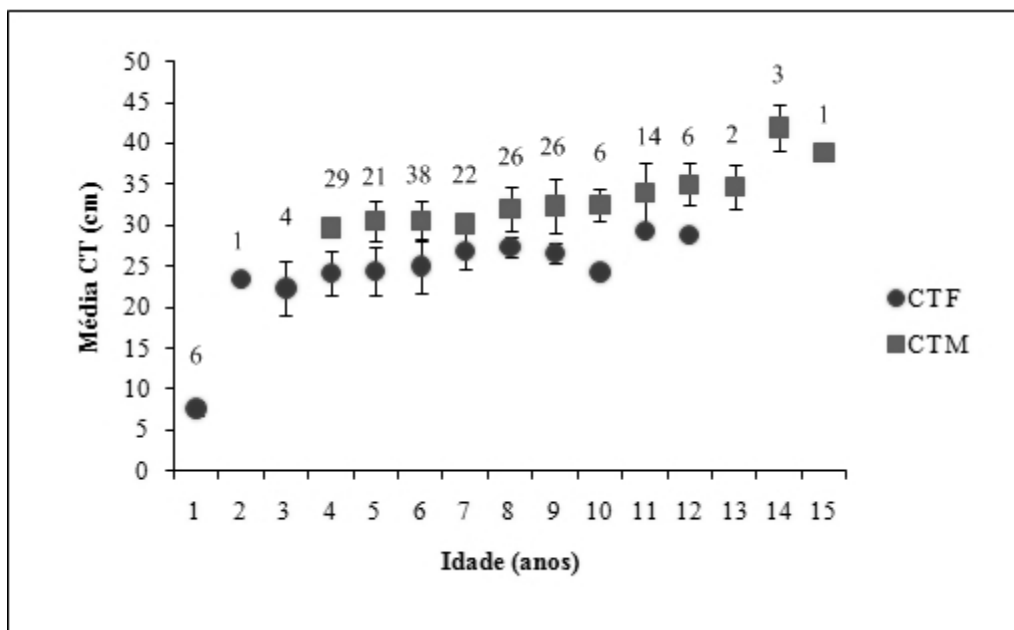


Fig. 13. Média de comprimentos totais (CT) por classe etária de fêmeas (F) e machos (M) de *E. adscensionis*. As barras de erro representam o desvio padrão.

A pesca de armadilhas representou a maior porcentagem dos peixes capturados maiores que 20 cm CT a partir de 4 anos. Peixes juvenis entre 0-1 ano (<10 cm CT) foram capturados apenas por puçás nos recifes rasos de Tamandaré, e peixes juvenis entre 2 e 3 anos (14-25 cm CT) foram capturados por linha nos recifes rasos de Tamandaré e São José de Coroa Grande.

Mortalidade

A taxa de mortalidade total estimada (Z) de *E. adscensionis* de 2008 a 2009 entre as idades de 8 e 15 anos, foi 0.28 ano^{-1} que equivaleu a 25%, representando a sobrevivência de 75% (Fig. 14). Peixes juvenis entre 1 e 5 anos não foram totalmente recrutados na pesca e foram excluídos da estimativa da mortalidade.

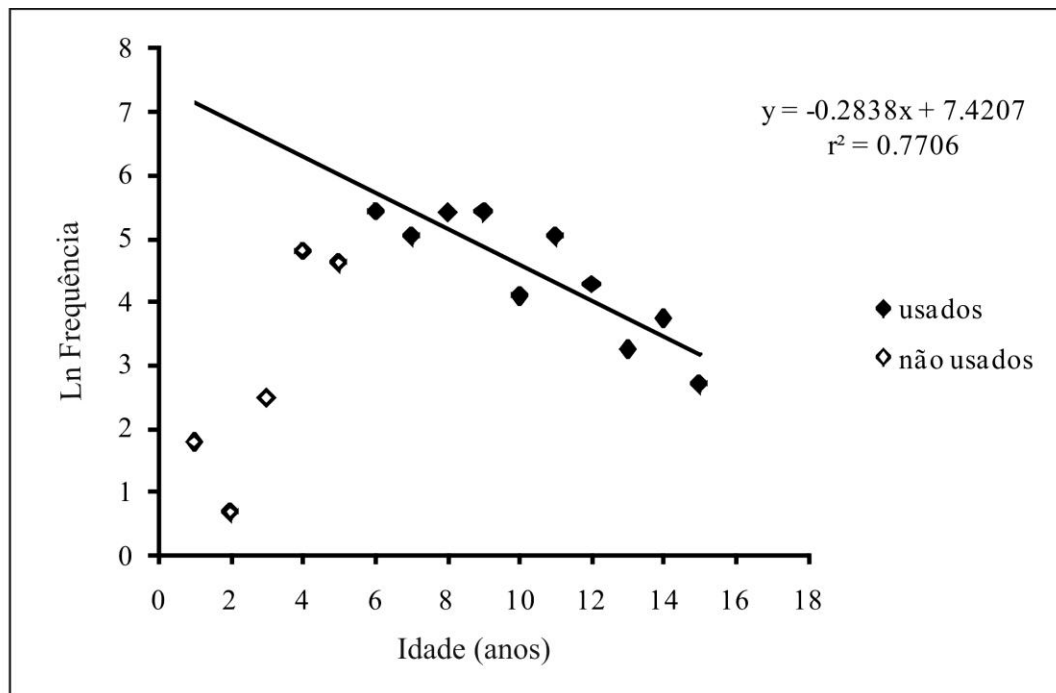


Fig. 14. Curva de captura baseada na idade observada de *E. adscensionis* (n= 206).

Discussão

Reprodução, sazonalidade e peridiocidade da desova

Muitas espécies de epinefelídeos em regiões tropicais têm apresentado pico de desova no início da primavera e verão (Shapiro, 1987; Heemstra & Randall, 1993). Na região nordeste do Brasil, espécies como *Mycteroperca bonaci* (Teixeira *et al.*, 2004); *Epinephelus morio* e *Cephalopholis fulva* (Freitas *et al.*, 2011) desovam entre o inverno até início da primavera. No presente trabalho foram coletados peixes maduros e desovantes de *E. adscensionis* entre o final do inverno (período chuvoso; Julho-Agosto) e início da primavera (Setembro-Outubro).

Durante o período de desova dessa espécie verificou-se em análises histológicas alguns ovócitos previtelogênicos junto com outros ovócitos em estágio de vitelogênese completa e em processo de hidratação apontando desova múltipla para as fêmeas. Esse padrão de desova múltipla é uma característica comum entre outras espécies de

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

epinephelídeos que também apresentam longo período de desova em regiões tropicais (Ferreira, 1995; Teixeira *et al*, 2004).

Fêmeas e machos maduros de *E. adscensionis* foram capturados em áreas de pesca (30-50 m) indicando que essas áreas podem ser possíveis locais de agregação reprodutiva. Segundo Choat & Robertson (2008) foi verificada alta abundância de *E. adscensionis* durante o pico reprodutivo em áreas de pesca na Ilha de Ascensão também indicando possíveis agregações reprodutivas.

A maioria das espécies de epinefelídeos hermafroditas protogínicos acasala-se em pares e os machos, maiores que as fêmeas, apresentam o IG médio baixo indicando baixa competição espermática durante o período reprodutivo (Erisman *et al.*, 2009). Machos de *E. adscensionis* apresentaram o IG médio bem mais baixo comparado com o IG médio das fêmeas apontando baixa competição espermática e possível padrão de acasalamento em par. Investigações da estrutura social sexual dessa espécie em áreas de pesca são relevantes para confirmar esse padrão de acasalamento.

Tamanho e idade de maturação e mudança de sexo

Nesse estudo *E. adscensionis* obteve o tamanho e idade de primeira maturação nas fêmeas a partir de 20 cm CT e 4 anos. No Caribe o tamanho de primeira maturação registrado para essa espécie foi 25 cm CT (Heemstra & Randall, 1993). Estudos de alguns aspectos reprodutivos dessa espécie nas Ilhas de Ascensão e Santa Helena indicaram que o tamanho e idade de primeira maturação foram a partir de 30 cm CF e 4 anos (Choat & Robertson, 2008). As classes modais mais capturadas nessas ilhas foram 30 e 40 cm CF mostrando que os tamanhos de primeira maturação de populações insulares dessa espécie são maiores que das populações costeiras capturadas aqui no Brasil (classe modal – 26 cm CT).

Espécies de peixes hermafroditas seqüenciais geralmente apresentam mudança de sexo acompanhada de degeneração do tecido feminino e desenvolvimento do tecido masculino (Sadovy de Michetson & Liu, 2008). As análises histológicas dos nove indivíduos transicionais de *E. adscensionis* evidenciaram a mudança de sexo através da presença de grupos de criptas espermáticas acompanhadas de ovócitos previtelogênicos em degeneração. Outra característica de mudança de sexo em hermafroditismo

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

funcional, que evidencia a desova anterior das fêmeas transicionais, é a presença de feixes musculares entre os ovócitos em fase de vitelogênese que auxiliam na desova (Liu & Sadovy, 2004). Alguns peixes de *E. adscensionis* em fase de mudança de sexo também apresentaram esses feixes musculares na fase pós-desova. Após a mudança de sexo é comum entre os hermafroditas que os machos secundários retenham a estrutura do ovário durante o seu desenvolvimento principalmente com a presença do lúmen ovariano (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008). A estrutura dos testículos dos machos secundários de *E. adscensionis* reteve o lúmen ovariano como uma característica herdada das fêmeas.

A estrutura populacional de *E. adscensionis* no Brasil apresentou machos secundários maduros maiores e mais velhos que as fêmeas maduras. Machos primários menores e mais jovens não foram observados nas capturas. As fêmeas juvenis imaturas menores que 20 cm CT (L_{50}) também não apresentaram nenhum sinal de mudança de sexo. Assim, as populações de *E. adscensionis* coletadas em áreas de pesca no litoral de Pernambuco foram hermafroditas protogínicas monândricas.

As classes de tamanho dos peixes de *E. adscensionis* mudando de sexo foram entre 23 e 32 cm CT com 4 a 9 anos de idade. As estimativas da idade de mudança de sexo dessa espécie (4-10 anos) foram próximas das idades dos peixes transicionais encontrados. No entanto, as estimativas das classes de tamanho de mudança de sexo (26-33 cm CT) foram diferentes para os indivíduos transicionais menores (23 cm CT) indicando que fêmeas maduras menores que 26 cm podem mudar de sexo ($L_{50} = 20$ cm CT). Choat & Robertson (2008) observaram fêmeas maduras de *E. adscensionis* mudando de sexo com idades (6 anos) e classes de tamanhos (> 30 cm CT) diferentes das estimativas encontradas no presente estudo. Isso indica que a mudança de sexo dessa espécie pode apresentar variações entre regiões costeiras e insulares.

Leitura dos otólitos

As bandas opacas dos otólitos de epinefelídeos têm sido as mais utilizadas para a contagem dos anéis de crescimento (Potts & Manooch, 1995; Costa *et al.*, 2011). Otólitos seccionados também têm apresentado leituras mais legíveis e precisas quando comparado com leituras em otólitos inteiros (Potts & Manooch, 1995). Os otólitos

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

seccionados de *E. adscensionis* tiveram um padrão de leitura claro na determinação e contagem das bandas opacas e o cálculo do IAPE foi reduzido indicando uma estimativa precisa da idade (Beamish & Fournier, 1981; Campana, 2001).

A formação dos anéis em otólitos de peixes apresenta muitas variações de acordo com o ciclo de vida e metabolismo de cada espécie. A formação de bandas opacas nos otólitos de epinefelídeos tem registros de duração de um ano (Ferreira & Russ, 1992) e o período da formação do anel varia, tendo sido registradas as estações do inverno e primavera (Ferreira & Russ, 1994; Araujo & Martins, 2006). Na região da Flórida, Potts & Manoch (1995) indicaram que a formação do anel dos otólitos de *E. adscensionis* juvenis (2-4 anos) terminou entre Abril e Maio (primavera) quando a porcentagem do incremento marginal opaco foi menor. O período de formação de bandas opacas e translúcidas dos indivíduos *E. adscensionis* capturados na pesca não apresentou um padrão sazonal. Alguns estudos também têm apresentado variações entre os períodos de maior formação dos incrementos marginais e não tem indicado um padrão sazonal claro de formação do anel (Potts & Manooch, 1999; Costa *et al.*, 2011). No presente estudo verificou-se que as bandas translúcidas foram bem mais finas que as opacas nas leituras em microscópio de luz refletida (Fig. 2). Provavelmente as bordas translúcidas podem ter sido subestimadas devido ao grau de dificuldade nas leituras quando comparadas com as estimativas das bandas opacas que foram mais largas. A validação com TC nesse caso foi a melhor opção para se determinar a periodicidade da formação do anel.

Periodicidade de formação dos anéis

As metodologias convencionais para se determinar a idade de peixes baseadas em relações de tamanhos com a idade têm tido pouca utilidade e gerado muitos erros nas estimativas para muitas espécies de peixes tropicais (Campana & Neilson, 1985; Campana, 2001). Várias espécies da família Epinephelidae geralmente formam um anel opaco por ano (Ferreira & Russ, 1994; Erisman *et al.*, 2010). O principal ganho no presente estudo foi a determinação da idade de *E. adscensionis* pela obtenção da validação direta através do período de formação do anel de crescimento nos otólitos. Os experimentos de validação mostraram que periodicidade da formação de cada anel anual variou entre Dezembro 2008 e Janeiro 2010 quando as bandas opacas e translúcidas

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

foram registradas entre a marca TC e a borda do otólito. As bandas opacas foram registradas por um período mais longo que as translúcidas principalmente entre os meses de Fevereiro a Dezembro. A banda translúcida foi registrada no mês de Janeiro 2009 e provavelmente essa espécie faz aniversário nesse período quando a deposição dessa camada foi finalizada.

Modelo de Crescimento

O critério de análises das curvas de VGBF varia de acordo com o melhor ajuste e da descrição qualitativa do processo de crescimento dos indivíduos que foram capturados na pesca (Gwin *et al.*, 2010). O acréscimo dos indivíduos juvenis de *E. adscensionis* menores que 10 cm (coletados adicionalmente nos recifes rasos) nas curvas de crescimento completou a ausência das classes etárias menores que 2 anos que não foram recrutadas pela pesca de linha e armadilhas.

Curvas de crescimento de tamanho-idade de espécies de peixes recifais geralmente apresentam um padrão de crescimento inicial rápido e torna-se lento na medida em que o tamanho-idade de cada população aumenta (Choat & Robertson, 2002). A curva do VGBF de *E. adscensionis* mostrou um padrão de crescimento inicial rápido até cerca de 6 anos de idade e posteriormente gradual e lento. As estimativas do L_{∞} (37.02 cm CT) e taxa de crescimento ($K=0.19$) de *E. adscensionis* foram próximas às estimativas encontradas nas populações da mesma espécie na Flórida ($L_{\infty}=49.9$ cm CT; $K=0.16$) Potts & Manooch, 1995).

Várias espécies congêneres de *Epinephelus* que atingem tamanhos acima de 80 cm CT possuem alta longevidade (27-61 anos) (Tab. 3). Por outro lado, espécies congêneres de tamanhos menores apresentam menor longevidade (11-17 anos) (Tab. 3). No presente estudo *E. adscensionis* apresentou menor longevidade com idade máxima de 15 anos e tamanho máximo de 44 cm CT.

*Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato *Epinephelus adscensionis* (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil*

Tabela 3. Longevidade máxima e tamanho máximo de algumas espécies do gênero *Epinephelus*

Espécie	Longevidade (anos)	CT Max. (cm)	Referência
<i>Epinephelus adscensionis</i>	15	44	Presente trabalho
<i>E. adscensionis</i>	12	49	Potts & Manooch (1995)
<i>E. niveatus</i>	54	121.6	Costa <i>et al.</i> (2011)
<i>E. itajara</i>	30	205.7	Bullock <i>et al.</i> (1992)
<i>E. marginatus</i>	61	105.6	Reñones <i>et al.</i> (2007)
<i>E. morio</i>	27	86.3	Carlson <i>et al.</i> (2008)
<i>E. guttatus</i>	11	49.1	Potts & Manooch (1995)
<i>E. guttatus</i>	17	76	Froese & Pauly (2011)

Mortalidade

Indivíduos de *E. adscensionis* foram totalmente recrutados pela pesca de armadilha a partir de 6 anos. Os indivíduos juvenis entre 2 e 5 anos não encontraram-se vulneráveis à pesca de armadilhas e de linha. A taxa de mortalidade total da pesca de *E. adscensionis* ($Z = 0.28$) no litoral de Pernambuco foi mais baixa quando comparada com mortalidade na pesca do Atlântico Sul Oriental ($Z \sim 0.36$), onde as populações dessa espécie são bastante exploradas pela pesca de linha e armadilha (Choat & Robertson, 2008).

E. adscensionis teve uma avaliação recente pela IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza) e foi classificada com status de menor risco de extinção devido à sua ampla distribuição e abundância até mesmo em áreas de pesca (Rocha *et al.*, 2008). Apesar de *E. adscensionis* não ser uma espécie de grande valor na economia pesqueira do nordeste brasileiro, é uma espécie capturada com frequência como fauna acompanhante na pesca de armadilhas (Marques & Ferreira, 2011). Estudos de monitoramento pesqueiro revelaram que muitas espécies de peixes recifais que antes eram apenas faunas acompanhantes das espécies alvos na pesca de armadilha passaram a ser valorizadas para venda e consumo principalmente no mercado externo (Ribeiro,

Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil

2006). Nesse estudo *E. adscensionis* apresentou baixa taxa de mortalidade, mas devido ao aumento da captura de espécies de peixes recifais nos últimos anos, torna-se necessário um monitoramento contínuo das populações recrutadas pela pesca para manutenção e conservação dos seus estoques.

Agradecimentos

Nós agradecemos ao Prof. José Luiz de Lima Filho pelo suporte do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) e à técnica Carmelita de Lima pela sua assistência nas preparações das lâminas histológicas (UFPE). Somos muito gratas aos pescadores de Itamaracá, Recife, Tamandaré e São José de Coroa Grande pelo ajuda e acesso aos peixes coletados após os desembarques. Agradecemos em especial ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais (IBAMA) e ao Centro de Pesquisa e Gestão dos Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste (CEPENE) pelo suporte dos laboratórios. Agradeço também à estagiária Inês Estevão pela ajuda durante o processamento das amostras em laboratório. Este trabalho teve suporte pela bolsa de doutorado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ – 140166/2007-6).

Referências

- Afonso, P., F. M. Porteiro, R. S. Santos, J. P. Barreiros, J. Worms & P. Wirtz. 1999. Coastal marine fishes of Sao Tome Island (Gulf of Guinea). *Arquipélago. Life and Marine Sciences* 17 A: 65-92.
- Araújo, J. N. & Martins, A. S. 2006. Age and growth of coney (*Cephalopholis fulva*) from the central coast of Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 86: 4946/1-5.
- Beamish, R. J. and Fournier, D. A. 1981. A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38: 982-983.
- Beverton, R. J. H. & Holt, S. J. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. *Fishery Investigations Series II No. 19*. 533 pp.

Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil

- Bullock, L.; Godcharles, M. F. & Mitchell, M. E. 1992. Age, growth, and reproduction of jewfish *Epinephelus itajara* in the eastern Gulf of Mexico. *Fishery Bulletin* 90: 243-249.
- Campana, S. E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* 59: 197-242.
- Campana, S. E. & Neilson, J. D. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42: 1014-1032.
- Campana, S. E. 1984. Comparison of age determination methods for the starry flounder. *Transactions of the American Fisheries Society* 113: 365-369.
- Carlson, L. L.; Fitzhugh, G.; Palmer, C., Gardner, C.; Farsky, R. & Ortiz, M. 2008. Regional size, age and growth differences of red grouper (*Epinephelus morio*) along the west coast of Florida. *Fisheries Research* 91: 239–251.
- Carvalho-Filho, A. 1999. Badejos, chernes, garoupas e mero. Pp. 97- 111. In: Carvalho-Filho, A. (Ed.). Peixes da Costa Brasileira. Melro, São Paulo, 320p.
- Choat, J.H. & Robertson, D. R. 2008. An ecological survey of the St Helena and Ascension island populations of the jack (*Epinephelus adscensionis*) with a review of management options. Unpublished report. Agricultural and Natural Resources Department (ANRD) of the St Helena Government. 82pp.
- Choat, J. H. & Robertson, D. R. 2002. Age-based studies on coral reef fishes. Pp. 57-80. In Sale, P.F. (Ed.). Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem. Academic Press, San Diego, 549p.
- Colin, P. L., D. Y. Shapiro, and D. Weiler. 1987. Aspects of the reproduction of two species of groupers. *Epinephelus guttatus* and *E. striatus* in the West Indies. *Bulletin of Marine Science*. 40(2): 220-230.

Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil

Costa, P. A.S.; Braga, A.; Rubinich, J. P.; Ávila-daSilva, A. O. & Neto, C. M. 2011.

Age and growth of the snowy grouper, *Epinephelus niveatus*, off the Brazilian coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*: 1-9.

Erisman, B. E.; Craig, M. T. and Hastings, P. A. 2010. Reproductive biology of the Panama graysby *Cephalopholis panamensis* (Teleostei: Epinephelidae). *Journal of Fish Biology* 76: 1312-1328.

Erisman, B. E., Craig, M. T. & Hastings, P. A. 2009. A phylogenetic test of the size-advantage model: evolutionary changes in mating behavior influence the loss of sex change in a fish lineage. *The American Naturalist* 174(3): E83-E99.

Ferreira, B. P. 1995 Reproduction of the common coral trout *Plectropomus leopardus* (Serranidae: Epinephelinae) from the Great Barrier Reef, Australia. *Bulletin of Marine Science* 56(2): 653-669.

Ferreira, B. P. and Russ, G. R. 1994. Age validation and estimation of growth rate of the coral trout, *Plectropomus leopardus*, (Lacepede 1802) from Lizard Island, Northern Great Barrier Reef. *Fishery Bulletin* 92: 46-57.

Ferreira, B. P. 1993. Reproduction of the inshore coral trout *Plectropomus maculatus* (Perciformes: Serranidae) from the Central Great Barrier Reef, Australia. *Journal of Fish Biology* 42: 831-844.

Ferreira, B. P. and Russ, G. R. 1992. Age, growth and mortality of the inshore coral trout, *Plectropomus maculatus* (Pisces: Serranidae) from the Central Great Barrier Reef, Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 43: 1301-12.

Figueiredo, J. L. & Menezes, N. A. 1980. Manual de Peixes do Sudeste do Brasil 3. São Paulo Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo. 90 p.

Freitas, M. O.; Moura, R. L.; Francini-Filho, R. B. & Minte-Vera, C. V. 2011. Spawning patterns of commercially important reef fish (Lutjanidae and Serranidae) in the tropical western South Atlantic. *Scientia Marina* 75(1): 135-146.

Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil

Gwinn, D. C.; Allen, M. S. and Rogers, M. W. 2010. Evaluation of procedures to reduce bias in fish growth parameter estimates resulting from size-selective sampling. *Fisheries Research* 105(2): 75-79.

Heemstra, P.C. & Randall, J.E. 1993. FAO species catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date. *FAO Fisheries Synopsis* 125(16): 1-382.

King, M. 1997. Fisheries biology, assessment and management. United Kingdom, Blackwell Science, 340p.

Liu, M. & Sadovy, Y. 2004. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. *Journal of Fish Biology* 65: 987-1002.

Manooch, C. S. 1987. Age and growth of snappers and groupers. Pp. 327-374. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management. Westview Press, Colorado, 602p.

Marques, S. & Ferreira, B. P. 2011. Composição e características da pesca de armadilhas no litoral norte de pernambuco – Brasil. *Boletim Técnico Científico do CEPENE*. in press

Potts, J. C. & Manooch, C. S. 1999. Observations of the age and growth of grasby and coney from the Southeastern United States. *Transactions of the American Fisheries Society* 128: 751-757.

Potts, J. C. Manooch, C. S. 1995. Age and growth of red hind and rock hind collected from North Carolina through the Dry Tortugas, Florida. *Bulletin of Marine Science* 56(3): 784-794.

Reñones, O. ; Piñeiro, C.; Mas, X. & Goñi, R. 2007. Age and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) in an exploited population of the western Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology* 71: 346–362.

Padrão de desenvolvimento sexual, idade e crescimento da garoupa gato Epinephelus adscensionis (Teleostei: Epinephelidae) do litoral de Pernambuco - Brasil

Ribeiro, F. P. 2006. A pesca de peixes demersais com armadilhas no nordeste do Brasil. Pp.71-72. In: Ferreira, B. P.; Maida, M. (Eds). Monitoramento dos recifes de coral do Brasil. Brasília: MMA, 120p.

Sadovy de Mitcheson, Y. & Liu, M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9: 1-43.

Sattar, A. S., Jorgensen, C. & Fiksen, O. 2008. Fisheries-induced evolution of energy and sex allocation. *Bulletin of Marine Science* 83(1): 235-250.

Shapiro, D. Y. 1987. Reproduction in groupers. Pp. 295- 327. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management. Westview Press, Colorado, 602p.

Schwamborn, S. H. L and Ferreira, B. P. 2002. Age structure and growth of the dusky damselfish, *Stegastes fuscus*, from Tamandaré reefs, Pernambuco, Brazil. *Environmental Biology of Fishes* 63: 79-88.

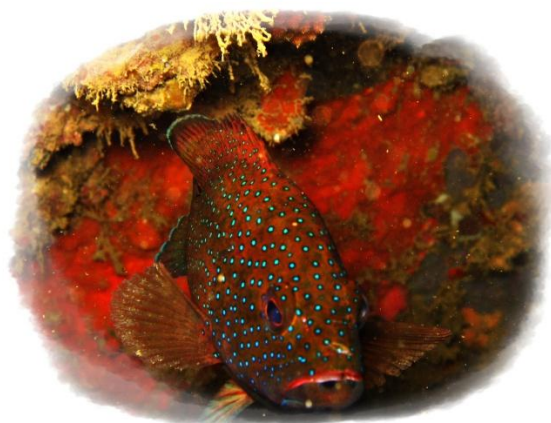
Teixeira, S. F.; Ferreira, B. P. & Padovan, I. P. 2004. Aspects of fishing and reproduction of the black grouper *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Serranidae: Epinephelinae) in the Northeastern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 2(1): 19-30.

Referências eletrônicas

Froese, R. & Pauly, D. 2011. FishBase. World Wide Web electronic publication. Version 2011.2. Available at <http://www.fishbase.org>

Rocha, L., Ferreira, B., Choat, J.H., Craig, M.T., Sadovy, Y. & Bertoncini, A.A. 2008. *Epinephelus adscensionis*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Available at <http://www.iucnredlist.org>

Capítulo 6
Considerações Finais



A maioria das pescarias nas regiões tropicais tem sido realizada em nações em desenvolvimento onde a expectativa de crescimento das populações humanas (~50%) é bem alta para os próximos 25 anos (Bryant, 2002). Com o crescimento demográfico desordenado nessas regiões, a pesca em áreas recifais tem aumentado e atingido vários estoques de peixes recifais que se encontram vulneráveis a diversas artes de pesca (Russ, 1991). Somente nas últimas décadas, dados das histórias de vida de várias espécies de peixes tropicais junto com o aumento da exploração pesqueira estão sendo utilizados como ferramentas para práticas de manejo pesqueiro (Green *et al.*, 2009). No Brasil, pesquisas sobre a biologia e ecologia de espécies de peixes recifais alvos da pesca comercial na Zona Econômica Exclusiva (ZEE) tem sido realizadas (Fredóu & Ferreira, 2005; Fredóu *et al.*, 2006; Ferreira *et al.*, 2009; Nóbrega *et al.*, 2009) e as análises de captura juntamente com o diagnóstico da pesca fornecem subsídios para avaliação dos estoques explorados como também para planos de manejos específicos para cada espécie. Entre as espécies de peixes recifais alvos da pesca aquelas de maior porte que compõem as famílias Epinephelidae (*Mycteroperca bonaci*) e Lutjanidae (*Lutjanus analis*, *L. crysurus*, *L. jocu*, *L. synagris*, *L. vivanus*, *L. purpureus*) foram as mais investigadas pela ciência pesqueira e seus estoques populacionais encontram-se bastante alterados pela sobreexploração (Klippel *et al.*, 2005a, b; Leite Jr. *et al.*, 2005; Lessa, 2006).

Um dos maiores desafios frente aos responsáveis pelos manejos pesqueiros é a fonte de informações que descreve a pesca no passado e no presente, e os estoques dos peixes os quais dependem e aplicam essa informação para assegurar se a exploração futura será sustentável (Green *et al.*, 2009). As coletas de dados biológicos que auxiliam na interpretação da história de vida das espécies de peixes exploradas na pesca tornam-se assim informações de extrema importância para serem incorporadas no manejo pesqueiro e orientar futuras decisões de sustentabilidade. Essa tese objetivou estudar a biologia reprodutiva, a idade e o crescimento de três espécies de epinephelídeos (*A. afer*, *C. fulva* e *E. adscensionis*) amplamente exploradas pela pesca artesanal a fim de gerar informações biológicas relevantes de suas populações para a ciência e para futuros planos de monitoramento e manejo pesqueiro na costa do nordeste brasileiro.

Padrões de desenvolvimento sexual de três espécies de epinefelídeos

Espécies de peixes hermafroditas protogínicas possuem em geral um padrão de desenvolvimento sexual com machos funcionais originados de fêmeas maduras dentro da população (Sadovy de Michetson & Liu, 2008). O presente trabalho apresentou esse padrão de desenvolvimento sexual para *C. fulva* (Capítulo 4) e *E. adscensionis* (Capítulo 5). Já *A. afer* (Capítulo 2) apresentou um padrão reprodutivo protogínico em comum com algumas espécies de garoupas em que os machos podem ser originados a partir de fêmeas bissexuais imaturas ou de fêmeas funcionais maduras. Os resultados apresentados nos capítulos 4 e 5 indicaram que *C. fulva* e *E. adscensionis* foram classificadas no Brasil como espécies hermafroditas protogínicas monândricas, e o capítulo 2 classificou *A. afer* como hermafrodita protogínica diândrica.

A distribuição sexual dentro das populações de espécies de peixes protogínicas geralmente é composta por machos maiores que as fêmeas (Sadovy & Shapiro, 1987) e os peixes em fase de mudança de sexo se distribuem entre as classes de tamanho que ambos os sexos se sobrepõem (Erisman *et al.*, 2010). Entre as espécies de garoupas estudadas, somente *A. afer* apresentou uma distribuição sexual diferente com os machos menores que as fêmeas. Outro fator peculiar para *A. afer* foi o alto IG médio encontrado nos machos maduros próximo ao IG médio das fêmeas (Capítulo 2). Geralmente machos de espécies protogínicas apresentam IG menor que as fêmeas durante o período reprodutivo. Segundo Erisman *et al.* (2009), espécies de garoupas que possuem a média do IG alta nos machos maduros, apresentam competição espermática alta entre os machos durante as agregações reprodutivas que em sua maioria se acasalam em grupo. Esse comportamento reprodutivo é mais observado para espécies de peixes gonocoristas. Registros de espécies gonocorísticas ‘secundárias’ também têm sido abordados para epinefelídeos (*Parablax clathratus*, Erisman & Allen, 2006; *Epinephelus striatus*, Sadovy & Colin, 1995) indicando que o desenvolvimento sexual pode apresentar fêmeas menores imaturas mudando de sexo (bissexuais) originando machos primários menores e a partir daí a população comportar-se como gonocorista (Sadovy & Domeier, 2005). O tipo de acasalamento para *A. afer* não é conhecido, sobretudo, suas características reprodutivas indicaram similaridades com as espécies gonocoristas.

O tamanho de primeira maturação e a mudança de sexo durante o desenvolvimento sexual são informações que contribuem na caracterização do modo reprodutivo de espécies protogínicas. Além disso, essas informações também podem indicar os caminhos que os indivíduos em mudança de sexo seguiram para se tornarem machos (Capítulo 2). Nesse estudo *C. fulva* e *E. adscensionis* (Capítulo 4 e 5) apresentaram indivíduos mudando de sexo após atingirem o tamanho de primeira maturação confirmando que todos os machos funcionais foram originados a partir de fêmeas sexualmente maduras. Em contrapartida as fêmeas de *A. afer* apresentaram indivíduos mudando de sexo antes e também após atingirem o tamanho de primeira maturação mostrando que os machos menores da população estudada foram originados tanto de fêmeas imaturas como de fêmeas maduras (Capítulo 2).

O período de desova de garoupas geralmente apresenta um padrão sazonal nas regiões tropicais do hemisfério sul onde muitas espécies desovam principalmente entre o final do inverno e o início da primavera (Freitas *et al.*, 2011). As três espécies estudadas nessa tese seguiram padrões sazonais similares com alto IG entre o final do inverno (julho-agosto) e início da primavera (setembro-outubro) de 2008 e 2009 (Capítulos 2, 4 e 5). Essas espécies foram capturadas desovando em áreas de pesca indicando que as pescarias durante o pico reprodutivo podem provocar efeitos negativos durante a reposição dos estoques de suas populações. A pesca de armadilhas foi um dos artefatos mais utilizados na captura dessas espécies no litoral de Pernambuco e as profundidades de captura (30-50 m) cobriram uma ampla área de ocorrência dessas espécies principalmente durante o período reprodutivo.

Idade e crescimento de garoupas pequenas

A estrutura populacional de espécies de peixes protogínicas apresenta uma distribuição comum de indivíduos mais velhos da população representados pelos machos e indivíduos mais jovens representados pelas fêmeas (Choat & Robertson, 2002). Em espécies de garoupas protogínicas de maior porte essa estrutura é confirmada com machos mais velhos e maiores que as fêmeas mais jovens (Crabtree & Bullock, 1998). Algumas espécies protogínicas monândricas de menor porte como, por exemplo, *Cephalopholis panamensis* (Craig *et al.*, 1999; Erisman *et al.*, 2010) e *C. fulva* (Trott, 2004) também apresentam a estrutura de machos maiores e mais velhos que as fêmeas.

Nesse estudo *C. fulva* e *E. adscensionis* (Capítulos 4 e 5) apresentaram machos maiores e mais velhos que as fêmeas (*C. fulva*, 11 anos; *E. adscensionis*, 15 anos). *A. afer* (Capítulo 3) apresentou machos menores (11-22cm CT) e mais jovens (3-10 anos) que as fêmeas (11-26cm CT; 1-13 anos). Entre essas três espécies estudadas somente *A. afer* apresentou as fêmeas como os indivíduos mais velhos da população (13 anos).

O modelo de crescimento mais usado para várias espécies de peixes é o de von Bertalanffy (VGBF), pois seus parâmetros (t_0 ; K ; L_{∞}) tem demonstrado maior utilidade nas análises descritivas do crescimento dos peixes explorados na pesca. Geralmente nesse modelo, a curva é analisada sem ajuste em zero. Valores de t_0 negativos indicam que o crescimento inicial das populações é mais rápido ou que classes de tamanhos menores não são representativas nas pescarias (Chan & Sadovy, 2002; Bustos *et al.*, 2009). Para contrapor os efeitos deste ultimo cenário, e assim obter estimativas mais próximas das populacionais, Gwin *et al.* (2010) propõe fixar o valor de t_0 em zero. Assim, os parâmetros de crescimento de *A. afer*, que não tiveram amostras de classes juvenis menores que 10 cm CT, foram comparados usando o modelo de VGBF com e sem ajuste da curva em zero (t_0). Os modelos de curva de VGBF para *C. fulva* e *E. adscensionis* não precisaram de ser ajustados em zero, pois coletas adicionais de indivíduos nas classes juvenis menores que 10 cm CT completaram as classes de tamanho-idade que foram ausentes na pesca.

Para verificar se cada anel de crescimento dos otólitos em peixes corresponde ao período de 1 ano de vida, estudos de validação da idade do peixe tem sido propostos (Choat & Robertson, 2002; Campana, 2001). A validação da idade de várias espécies recifais pertencentes às famílias Epinephelidae, Lutjanidae e Sparidae tem apresentado sucesso e são considerados triviais para os táxons explorados nas pescarias multiespecíficas das regiões tropicais (Choat *et al.*, 2009). O presente trabalho obteve sucesso na marcação química com tetraciclina em indivíduos juvenis das três espécies de garoupas confirmando que o anel opaco forma-se uma vez ao ano, padrão já verificado para outras espécies da mesma família (Ferreira & Russ, 1992; Ferreira & Russ, 1994).

Pesca e status de conservação de *Alphestes afer*, *Cephalopholis fulva* e *Epinephelus adscensionis*

As estimativas das taxas de mortalidade das pequenas garoupas estudadas mostraram que as espécies mais afetadas pela pesca foram *A. afer* ($Z=0.58$) e *C. fulva* ($Z=0.46$). Já *E. adscensionis* apresentou a taxa de mortalidade menor ($Z=0.28$) indicando que suas populações foram mais abundantes ou podem ser menos seletivas pela pesca de linha e armadilhas. Bannerot *et al.* (1987) sugere que o aumento da mortalidade interrompe a capacidade dos machos e fêmeas da população entrarem em contato, e com isso o sucesso reprodutivo de espécies protogínicas diminui quando comparado com espécies gonocoristas. Consequentemente, a mudança da proporção sexual da população afetada pelos níveis de exploração tem que ser compensada. Além disso, o tempo requerido para a reversão sexual de peixes hermafroditas a medida que se reduz a população de machos pode variar de acordo com as classes de tamanho capazes de mudarem de sexo por espécie.

Espécies de peixes protogínicas também se tornam mais vulneráveis às atividades pesqueiras por apresentarem crescimento lento e maturação tardia. Por essas razões, a estrutura populacional de várias espécies protogínicas exploradas pela pesca tem sido bastante afetada nas regiões tropicais (Levin & Gimes, 2002). Entender como os estoques dessas espécies se comporta frente às pressões pesqueiras torna-se crucial nas avaliações para manejo de suas populações. A avaliação mais recente da IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza) classificou as três espécies estudadas com status de menor risco de extinção (least concern) (Ferreira *et al.*, 2008a; Ferreira *et al.*, 2008b; Rocha *et al.*, 2008). Apesar da alta abundância de *C. fulva* e sua ampla distribuição no Atlântico Ocidental, níveis próximos de sobreexploração já foram identificados na costa Central do Brasil (Capítulo 4). A pesca de armadilhas no litoral norte de Pernambuco revelou que essa espécie também aumentou sua valorização no mercado e atualmente ela é exportada para Estados Unidos e Europa (Marques & Ferreira, 2011). *E. adscensionis*, *C. fulva* e *A. afer* têm sido amplamente capturadas em pescarias multiespecíficas na costa nordeste brasileira e suas frequências nessas pescarias podem gerar futuras preocupações no status de conservação de suas populações.

Devido à grande diversidade das comunidades de peixes recifais, várias espécies que não são alvos em pescarias multiespecíficas têm sido capturadas sem limite em várias regiões do Atlântico (Coleman *et al.*, 2000). Esse cenário se repete no Brasil onde muitas espécies de peixes recifais são capturadas em pescarias multiespecíficas sem controle e manejo específicos dos estoques explorados. Os parâmetros biológicos das populações de *A. afer*, *C. fulva* e *E. adscensionis* obtidos com essa tese são imprescindíveis para monitorar os estoques dessas espécies exploradas nas pescarias multiespecíficas no nordeste brasileiro. Com esses resultados será possível analisar no futuro: (1) como as populações protogínicas se comportam nos locais de desova em áreas de pesca, (2) como o período de atividade reprodutiva pode estar sendo afetado pelas pescarias, (3) se há mudança na proporção sexual das populações ao longo do ciclo reprodutivo e (4) se a seletividade da pesca está alterando as classes de tamanhos da população e consequentemente suas classes etárias. Outros estudos como a taxa de fecundidade e áreas de conectividade das populações adultas e juvenis podem ser úteis na avaliação da reposição dos estoques dessas espécies.

Referências

- Bannerot, S. P.; Fox Jr., W. W. & Powers, J. E. 1987. Reproductive strategies and the management of groupers and snappers in the Gulf of Mexico and Caribbean. Pp. 561-606. In Polovina, J. J & Ralston, S. (eds). Tropical snappers and groupers: biology and fisheries management. Westview Press, Boulder, CO. 639p.
- Bryant, P. J. 2002. Biodiversity and conservation. School of Biological Sciences, University of California, Irvine, USA.
- Bustos, R.; Luque, Á. & Pajuelo, J. G. 2009. Age estimation and growth pattern of the island grouper, *Mycteroperca fusca* (Serranidae) in an island population on the northwest coast of Africa. *Scientia Marina* 73(2): 319-328.
- Campana, S. E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology* 59: 197-242.

- Chan, T. C. and Sadovy, Y. 2002. Reproductive biology, age and growth in the chocolate hind, *Cephalopholis boenak* (Bloch, 1790), in Hong Kong. *Marine and Freshwater Research* 53: 791-803.
- Choat, J. H.; Kritzer, J. P. & Ackerman, J. L. 2009. Ageing in coral reef fishes: do we need to validate the periodicity of increment formation for every species of fish for which we collect age-based demographic data? Pp. 23-54. In Green, B. S.; Mapstone, B. D.;
- Choat, J. H. & Robertson, D. R. 2002. Age-based studies on coral reef fishes. Pp. 57-80. In Sale, P.F. (Ed.). *Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem*. Academic Press, San Diego, 549p.
- Coleman, F. C.; Koenig, C. C.; Huntsman, G. R.; Musick, J. A.; Eklund, A. M.; McGovern, J. C.; Chapman, R. W.; Sedberry, G. R. & Grimes, C. B. 2000. Long-lived Reef Fishes: The Grouper-Snapper Complex. *Fisheries* 25 (3): 14-20.
- Crabtree, R. E. & Bullock, L. H. 1998. Age, growth, and reproduction of black grouper, *Mycteroperca bonaci*, in Florida waters. *Fishery Bulletin* 96: 735-753.
- Craig, M. T.; Pondella II, D. J. & Hafner, J. C. 1999. Analysis of age and growth in two eastern pacific groupers (Serranidae: Epinephelinae). *Bulletin of Marine Science* 65(3): 807-814.
- Erisman, B. E.; Craig, M. T. and Hastings, P. A. 2010. Reproductive biology of the Panama graysby *Cephalopholis panamensis* (Teleostei: Epinephelidae). *Journal of Fish Biology* 76: 1312-1328.
- Erisman, B. E., Craig, M. T. and Hastings, P. A. 2009. A phylogenetic test of the size-advantage model: evolutionary changes in mating behavior influence the loss of sex change in a fish lineage. *The American Naturalist* 174(3): E83-E99.
- Erisman, B. E. and Allen, L. G. 2006. Reproductive behavior of a temperate serranid fish, *Paralabrax clathratus* (Girard), from Santa Catalina Island, California, USA. *Journal of Fish Biology* 68: 157-184.
- Ferreira, B. P.; Rezende, S. M.; Teixeira, S. F.; Frédou, T. & Duarte, Y. F. 2009. Espécies-alvo e outras espécies: Demersais. In Lessa, R.; Bezerra Jr, J. L. & Nóbrega, M. F. *Dinâmica de populações e avaliação dos estoques dos recursos pesqueiros da*

região Nordeste. Programa REVIZEE – Score Nordeste. Editora Martins & Cordeiro, Fortaleza, 304p.

Ferreira, B. P. and Russ, G. R. 1994. Age validation and estimation of growth rate of the coral trout, *Plectropomus leopardus*, (Lacepede 1802) from Lizard Island, Northern Great Barrier Reef. *Fishery Bulletin* 92: 46-57.

Ferreira, B. P. and Russ, G. R. 1992. Age, growth and mortality of the inshore coral trout, *Plectropomus maculatus* (Pisces: Serranidae) from the Central Great Barrier Reef, Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 43: 1301-12.

Fredou, T.; Ferreira, B. P. & Letourneur, Y. 2006. A univariate and multivariate study of reef fisheries off northeastern Brazil. *Journal of Marine Science* 63: 883-896.

Fredou, T. & Ferreira, B. P. 2005. Bathymetric Trends of Northeastern Brazilian Snappers (Pisces, Lutjanidae): Implications for the Reef Fishery Dynamic. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 48(5): 787-800.

Freitas, M. O.; Moura, R. L.; Francini-Filho, R. B. & Minte-Vera, C. V. 2011. Spawning patterns of commercially important reef fish (Lutjanidae and Serranidae) in the tropical western South Atlantic. *Scientia Marina* 75(1): 135-146.

Green, B. S.; Mapstone, B. D.; Carlos, G. & Begg, G. 2009. Introduction to otoliths and fisheries in the tropics. Pp. 1-22. In Green, B. S.; Mapstone, B. D.; Carlos, G. & Begg, G. Tropical fish otoliths: information for assessment, management and ecology. Springer, London, 313p.

Gwinn, D. C.; Allen, M. S. and Rogers, M. W. 2010. Evaluation of procedures to reduce bias in fish growth parameter estimates resulting from size-selective sampling. *Fisheries Research* 105(2): 75-79.

Klippel, S; Martins, A. S.; Olavo, G; Costa, P. A. S & Peres, M. B. 2005a. Estimativas de desembarque da pesca de linha na costa central do Brasil (estado do Espírito Santo e Bahia) para um ano padrão (1997-2000). Pp. 71-82. In Costa, P. A. S.; Martins, A. S. & Olavo, G. Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 248p.

- Klippel, S.; Martins, A. S.; Olavo, G.; Costa, P. A. S. & Peres, M. B. 2005b. Avaliação dos estoques de lutjanídeos da costa central do Brasil: análise de coortes e modelo preditivo de Thompson e Bell para comprimentos. Pp. 83-98. In Costa, P. A. S.; Martins, A. S. & Olavo, G. Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 248p.
- Leite Jr., N. O.; Martins, A. S. & Araújo, J. N. 2005. Idade e crescimento de peixes recifais na região central da Zona Econômica Exclusiva entre Salvador-BA e o Cabo de São Tomé-RJ (13° S a 22° S). Pp. 203-216. In Costa, P. A. S.; Martins, A. S. & Olavo, G. Pesca e potenciais de exploração de recursos vivos na região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 248p.
- Lessa, R. P. 2006. Recursos pesqueiros da região nordeste. Pp. 153-180. In Programa REVIZEE. Avaliação do potencial sustentável de recursos vivos na Zona Econômica Exclusiva do Brasil. MMA, Brasília, 280p.
- Levin, P. S. and Grimes, C. B. 2002. Reef fish ecology and grouper conservation and management. Pp. 377-389. In Sale, P.F. (Ed.). Coral reef fishes: Dynamics and diversity in a complex ecosystem. Academic Press, San Diego, 549p.
- Liu, M. & Sadovy, Y. 2004. Early gonadal development and primary males in the protogynous epinepheline, *Cephalopholis boenak*. *Journal of Fish Biology* 65: 987-1002.
- Manooch, C. S. 1987. Age and growth of snappers and groupers. Pp. 327-374. In: Polovina, J. J. & S. Ralston (Eds.). Tropical Snappers and Groupers – Biology and Fisheries Management. Westview Press, Colorado, 602p.
- Marques, S. & Ferreira, B. P. 2011. Composição e características da pesca de armadilhas no litoral Norte de Pernambuco – Brasil. *Boletim Técnico-Científico do CEPENE* (in press).
- Nóbrega, M. F.; Lessa, R. & Santana, F. M. 2009. Peixes marinhos da região Nordeste do Brasil. Programa REVIZEE – Score Nordeste. Editora Martins & Cordeiro, Fortaleza, 208p.

Russ, G. R. 1991. Coral Reef Fisheries: Effects and Yields. In: Sale, P. S. (ed.). The ecology of fishes on coral reefs. Academic Press: California. 601-634.

Sadovy, Y. & Domeier, M. L. 2005. Perplexing problems of sexual patterns in the fish genus *Paralabrax* (Serranidae, Serraninae). *Journal of Zoology* 267: 121-133.

Sadovy, Y. & Colin, P. L. 1995. Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. *Journal of Fish Biology* 46: 961-976.

Sadovy, Y. & Shapiro, D. Y. 1987. Criteria for the diagnosis of hermaphroditism in fishes. *Copeia* 1: 136-156.

Sadovy de Mitcheson, Y. & Liu, M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9: 1-43.

Trott, T. M. 2004. Preliminary analysis of age, growth, and reproduction of coney (*Cephalopholis fulva*) at Bermuda. *Proceeding of the Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute* 57: 385-400.

Referências eletrônicas

Ferreira, B. P., Marques, S., Choat, J.H., Sadovy, Y., Craig, M.T., Bertoncini, A.A. and Rocha, L. 2008a. *Alphesthes afer*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Available at <http://www.iucnredlist.org>

Ferreira, B. P., Gaspar, A. L. B., Marques, S., Sadovy, Y., Rocha, L., Choat, J. H., Bertoncini, A. A. & Craig, M. 2008b. *Cephalopholis fulva*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Disponível em <http://www.iucnredlist.org>

Rocha, L., Ferreira, B., Choat, J.H., Craig, M.T., Sadovy, Y. & Bertoncini, A.A. 2008. *Epinephelus adscensionis*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Available at <http://www.iucnredlist.org>