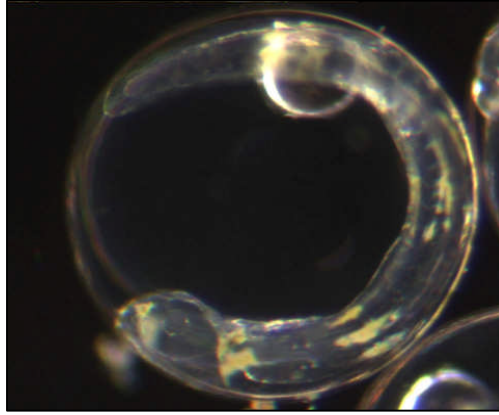


Viriato Manuel Freitas Andrade Timóteo

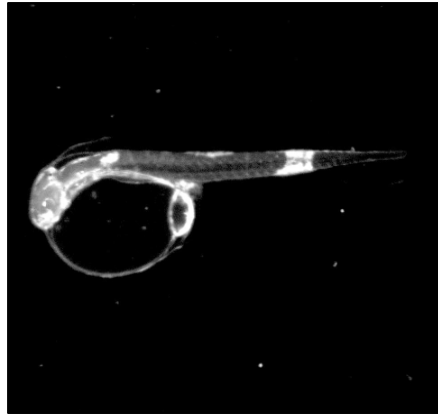


**Reprodução de Pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758)
em Cativeiro – Avaliação da Qualidade das Posturas**

Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar

Universidade do Porto

2007



Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Mar e Recursos Marinhos, especialidade de Aquacultura

Resolução 12/SC/95, D.R. nº 169, II Série, de 24 de Julho de 1995

Orientação: Professora Doutora Maria Teresa Coelho Pais Vieira Dinis

Co-orientador: Doutora Narcisa Bandarra

Agradecimentos

Este estudo exigiu um acompanhamento diário de modo a recolher o maior número de amostras possível. O rigor na recolha da maior informação possível para melhor compreender esta espécie obrigou à realização de um trabalho interdisciplinar no qual foi importante o recurso a especialistas na área da bioquímica, estatística e aquacultura. Assim o estudo só foi possível graças à colaboração e incentivo de muitas pessoas. A todas, muito obrigado por acreditarem em mim.

À Professora Doutora, Maria Teresa Dinis, ficamos igualmente gratos, por acreditar neste projecto, pela sua simplicidade, paciência e forma de encarar a investigação.

A todos aos que trabalham no Centro de Maricultura da Calheta, o agradecimento pelo apoio e colaboração em especial dos técnicos profissionais, António Branco e António Abreu.

O nosso reconhecimento ao técnico profissional Emanuel Pinto, companheiro de trabalho.

Agradecemos às Mestres Natacha Nogueira e Paula Cruz e Silva e à Dr^a Margarida Oliveira, pelo incentivo e revisão do trabalho.

Ao Mestre Carlos Andrade o nosso obrigado pela disponibilização de todos os meios do Centro de Maricultura da Calheta.

Agradecemos à Professora Mónica Hernandez pela orientação e colaboração na análise estatística.

À Doutora Narcisa Bandarra o nosso reconhecimento pela orientação e colaboração na determinação do perfil de ácidos gordos dos ovos de pargo.

As últimas palavras de gratidão, destinam-se à minha família pelo incentivo, pelas horas de privação, e pela paciência demonstrada, para que pudesse concretizar este estudo.

Reprodução de Pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) em Cativeiro – Avaliação da Qualidade das Posturas

Resumo:

O pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) é uma espécie de interesse económico com potencial para a aquacultura mundial. Esta espécie será um contributo para a aquacultura europeia na qual promoverá maior oferta de produtos no mercado, compensando igualmente a redução de capturas desta espécie no sector das pescas. O trabalho teve como objectivo conhecer melhor o seu comportamento reprodutivo em cativeiro através do acompanhamento e análise do ciclo de posturas de dois lotes de reprodutores diferentes em número, idade e tamanho. Procurou-se definir os parâmetros que melhor pudessem identificar a altura do período de posturas que originasse ovos/larvas de melhor qualidade, assim como, atendendo à diferença dos lotes qual o que apresentaria melhor qualidade e quantidade de posturas, para posterior produção larvar. A partir dos resultados obtidos e fundamentados com a análise estatística, foi possível verificar que os dois lotes possuem comportamentos semelhantes no que diz respeito à produção total de ovos e produção de ovos viáveis. A qualidade química dos ovos é semelhante entre lotes e ao longo do período de posturas. No entanto, o lote mais novo e com maior dispersão de tamanhos (Lote 8) apresentou diferenças significativas quando comparado com o lote mais velho com maior peso e comprimento (lote 6) relativamente à taxa de viabilidade. Como consequência, ao serem submetidas as larvas antes da primeira alimentação a testes de “stress” pelo método da salinidade, verificou-se que as larvas do lote 8 possuíam maior resistência comparativamente às larvas do lote 6. Assim, a taxa de viabilidade e os testes de “stress” larvar pelo método da salinidade, são excelentes indicadores para a avaliação da qualidade das posturas do pargo em cativeiro. Deste modo, é possível prever, recorrendo a métodos simples, rápidos, económicos e com antecedência, a qualidade dos ovos viáveis e das larvas para aplicação em produção intensiva numa maternidade. Para o pargo é vantajoso a renovação anual do “stock” de reprodutores, sem descorar os exemplares mais velhos. Relativamente à qualidade dos ovos ao longo do ciclo das posturas, as larvas possuem melhor qualidade na primeira metade do ciclo, diminuindo gradualmente até ao final.

Red Porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) Reproduction in Captivity – Assessment on the Quality of Egg Production

Abstract:

Red Porgy (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) is a species with worldwide economic potential as far as aquaculture is concerned. This species will become more and more important in European aquaculture, thus, counterbalancing its downfall in the fishing sector. This work aims at getting a better knowledge of the reproductive behaviour of this species in captivity by following and analysing the cycle of egg deposition of two batches of spawners different in number, age and size. We tried to find the parameters that would more accurately point to the deposition date that breeds best quality eggs/larvae. Bearing in mind the difference between both groups, we tried to understand which one presented a better quality and largest amount in deposition for further larval production. We checked, from results accounted with statistical analysis, that both groups behave similarly as far as total and viable egg production is concerned. Chemical profile of eggs is also similar in both batches and within the deposition period; however, the younger batch, also with a wider range in size (batch 8), presented important differences when compared to the older batch with a heavier weight and more length (batch 6) as far as viability rate is concerned. Larvae from batch 8 displayed a stronger resistance than larvae from batch 6 when submitted to stress tests by use of the salinity method before the first feeding. Thus, viability rate and larval stress tests by use of the salinity method seem to be excellent indicators to assessing the quality of red porgies captive breeding. This way, simple, quick and economical methods in the right time make it possible to predict the quality of viable eggs and larvae intended for intensified production in a hatchery. For red porgy, spawners annual renewal is positive, but the older kind should not be left to oblivion. As for egg quality throughout deposition period, larvae have reached better quality within the first half of that period, gradually decreasing their quality until the end of deposition cycle.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO:	IV
ABSTRACT:	V
1. INTRODUÇÃO	1
2. TAXONOMIA BIOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO	4
3. REPRODUÇÃO EM CATIVEIRO	8
3.1 SELECÇÃO DE REPRODUTORES	8
3.2 CONDIÇÕES PARA ESTABULAÇÃO DE REPRODUTORES DE PARGO	9
3.3 MATURAÇÃO E POSTURA.....	10
3.4 Os OVOS	14
4. INCUBAÇÃO DOS OVOS E DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO	16
5. QUALIDADE DAS POSTURAS	22
6. DESENVOLVIMENTO LARVAR	26
7. JUVENIS	36
8. PATOLOGIAS MAIS FREQUENTES	38
9. MATERIAL E MÉTODOS	40
9.1 ORIGEM DOS LOTES E DENSIDADE, CARACTERIZAÇÃO DA ALIMENTAÇÃO	40
9.2 AMOSTRAGEM DOS REPRODUTORES INÍCIO E FIM DE POSTURA	41
9.3 DETERMINAÇÃO DOS SEXOS POR LOTE	41
9.4 REGISTO DOS PARÂMETROS: TEMPERATURA; FOTOPERÍODO; OXIGÉNIO, PH; SALINIDADE E TURBIDEZ.	41
9.5 DETERMINAÇÃO DA HORA DAS POSTURAS DIÁRIA DOS DOIS LOTES.	42
9.6 RECOLHA DE AMOSTRAS PARA CONTAGEM DE OVOS. CARACTERIZAÇÃO DE OVOS VIÁVEIS E INVIÁVEIS	42
9.7 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO TOTAL DE OVOS, NÚMERO DE OVOS VIÁVEIS E TAXAS DE VIABILIDADE E DE FECUNDAÇÃO.....	44
9.8 RECOLHA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISES BIOQUÍMICAS.	45
9.9 RECOLHA DE AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE IMAGEM PARA MEDIÇÃO DIÂMETRO DOS OVOS E GOTA LIPÍDICA.	46
9.10 DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO E TEMPO DE ECLOSÃO.	47
9.11 MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DA TAXA DE ECLOSÃO E SOBREVIVÊNCIA LARVAR	47
9.12 MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE RESISTÊNCIA LARVAR – TESTES DE STRESS.....	48
9.13 ANÁLISE ESTATÍSTICA	49
10. RESULTADOS	50
10.1 FIABILIDADE PARA OS MÉTODOS DE CONTAGEM DE OVOS VIÁVEIS: VOLUME DA PROVETA/AMOSTRAS DE 5ML	50
10.2 CARACTERIZAÇÃO DOS LOTES	52
10.3 PRODUÇÃO DE OVOS.....	54
10.4 OVOS VIÁVEIS.....	58
10.5 TAXA DE VIABILIDADE.....	59
10.6 DIÂMETRO DO OVO E GOTA LIPÍDICA	62
10.7 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	65
10.8 TAXA DE ECLOSÃO E SOBREVIVÊNCIA LARVAR.....	68
10.9 TESTES DE STRESS	70
11. DISCUSSÃO	75
12. CONCLUSÕES	79
13. BIBLIOGRAFIA	80

Relatório de Dissertação

Reprodução de Pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) em Cativeiro – Avaliação da Qualidade das Posturas

1. Introdução

O pargo (*Pagrus pagrus*, Linnaeus, 1758) é uma espécie marinha demersal, hermafrodita protogínica de grande valor económico no Mediterrâneo e Este e Oeste do Oceano Atlântico (Vassilopoulou & Papaconstantinou, 1992), sendo um peixe muito apreciado nos países mediterrâneos (Saka *et al.*, 2005).

A produção de peixe em aquacultura no Mediterrâneo é baseada em duas espécies, o robalo (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus), e a dourada, (*Sparus aurata*, Linnaeus) (Kentouri *et al.*, 1995; Basurco & Abellán, 1999). A produção destas duas espécies em elevadas quantidades de que resultou um aumento da oferta face à procura, levou ao decréscimo de preços, e à diminuição da rentabilidade das empresas. Por este motivo, a introdução de novas espécies pode trazer inúmeras vantagens à indústria de aquacultura (Kentouri, *et al.*, 1995; Conides *et al.*, 1996; Conides & Nengas, 1998; Conides & Glamuzina, 2001 e Golomazou *et al.*, 2006). O pargo, é uma espécie pertencente à família *Sparidae* de alto valor económico junto dos países do Mediterrâneo, atingindo preços que variam entre os 18 a 23 €/Kg, (Pavlidis *et al.*, 2001). Contudo o seu valor pode atingir US\$24/kg para exemplares com 300 a 400 gramas contra os US\$16/kg obtidos na venda da dourada (Stephanou *et al.*, 1995). O pargo é considerado um potencial candidato à diversificação da produção de Sparídeos na aquacultura, devido à grande procura no mercado europeu e dada a sua proximidade filogenética com a dourada (Hernandes-Cruz *et al.*, 1999). O cultivo do pargo foi bem sucedido na Grécia (Mielakakis *et al.*, 2001; Myolas *et al.*, 2004) e na Argentina tendo a investigação do seu cultivo tido início em 1994 (Radonic *et al.*, 2005). É uma espécie candidata à implementação da sua produção na indústria de aquacultura, uma vez que tem um crescimento rápido e boa adaptação ao cativeiro (Divanach *et al.*, 1993; Stephanou *et al.*, 1995; Kentouri *et al.*, 1995; Kentouri *et al.*, 1994). O seu filete é de boa qualidade e de bom valor económico no mercado

(Kalinowski *et al.*, 2005). Outros estudos têm revelado que o pargo é uma espécie com boa adaptabilidade às condições de cativeiro, com posturas espontâneas em maternidades e baixa problemática em doenças e mortalidades (Kentouri *et al.*, 1994; Kokokiris, 1998; Schuchardt *et al.*, 2000). A investigação em aquacultura tem incidido principalmente na reprodução e cultivo de espécies marinhas como o robalo e dourada (Marangos *et al.*, 1986; Conides & Anastasopoulou, 1992; Klaudatos & Conides, 1996; Conides & Parpourna, 1995). No que diz respeito ao pargo, sabe-se ainda muito pouco sobre os primeiros estádios de vida (Conides & Glamuzina, 2001). As primeiras tentativas de reproduzir e cultivar esta espécie em aquacultura no Mediterrâneo mostraram a existência de limitações na sua produção em massa. Estes problemas estavam na sua maioria relacionados com mortalidade elevada durante os estádios larvares, bem como na coloração escura que os animais de cultivo apresentavam (Kentouri *et al.*, 1995; Stephanou *et al.*, 1995; Kolios *et al.*, 1997; Conides & Glamuzina, 2001; Cejas *et al.* 2003; Kalinowski *et al.*, 2005). A existência da coloração natural do peixe é de grande importância pois dela depende uma boa aceitação ou não pelos consumidores (Shahidi *et al.*, 1998), bem como o seu preço no mercado (Kalinowski *et al.*, 2005). Em geral a pigmentação da pele é modificada pela estimulação hormonal, cor do fundo dos tanques e pela iluminação (Sugimoto, 1993; Duray *et al.*, 1996; Crook, 1997; Healey, 1999; Papoutsoglou *et al.*, 2000; Rotllant *et al.*, 2003). No caso da luz, Booth *et al.*, (2004), relacionaram o facto dos peixes colocados em jaulas, quando expostos directamente à luz solar, a sua pele escurecia devido ao aumento da produção de melanina. Por outro lado os peixes quando submetidos a situações de “stress” reagem negativamente, influenciando a sua coloração, a qual se torna mais escura (Qun Lin *et al.*, 1998).

Suquet *et al.*, (2002) estudaram os critérios que melhor determinam a escolha de novas espécies para aquacultura. Sabendo que a aquacultura europeia está em grande parte orientada para a produção de dourada e robalo, tornando o mercado saturado e obrigando as empresas a venderem a preços aproximados aos custos de produção, esta situação repercute-se na redução de fontes de financiamento para inovação e melhorias na produção. O aparecimento de novas espécies irá promover quer a diversificação no mercado, quer um aproveitamento e adaptação às condições ambientais locais aliadas às técnicas de produção recentemente desenvolvidas e à rentabilização de todos os recursos na produção (Suquet *et al.*, 2002). Segundo estes autores, a produção de dourada e robalo teve em conta apenas alguns parâmetros para sua apresentação como produto final aos consumidores, ficando por equacionar outros requisitos desta indústria, nomeadamente: a sua taxa de crescimento, a criação de exemplares grandes, o tamanho/qualidade do filete/quantidade de espinhas, a cor

do músculo, o conteúdo proteico elevado e ainda a possibilidade de apresentar o produto sobre vários métodos (fresco, filete, congelado, fumado, salgado enlatado, sabor e cheiro ligeiros) a um preço acessível ao consumidor.

Suquet *et al.*, (2002) com base num inquérito realizado a inúmeras empresas, concluíram que na aposta em novas espécies é necessário ter em conta: a taxa de crescimento, o preço de mercado, a disponibilidade de reprodutores, o conhecimento biológico aprofundado (número e qualidade das publicações), o potencial de produção, a secção corporal, a presença de espinhas, os métodos de apresentação do peixe produzido ao consumidor, o sabor, a sua procura e cobertura geográfica. Jones, (1972), propôs cinco critérios para a escolha de novas espécies: preço de mercado, taxa de crescimento, taxa de conversão alimentar, capacidade de recrutamento de exemplares selvagens e taxa de produção por m². Roy & Bouissou, (1993), defendem os seguintes critérios para espécies candidatas à aquacultura: elevadas taxas de crescimento registadas em cativeiro, boa qualidade da “carne”, boa capacidade de adaptação às máquinas de processamento, bom conhecimento da sua biologia, possibilidade de capturar juvenis e reprodutores selvagens, existência de experiências de cultivo bem sucedidas e uma boa imagem (espécie apreciada pelo consumidor). Suquet *et al.*, (2002), acrescentam ainda alguns parâmetros para a escolha de novas espécies para aquacultura como a adequação da espécie aos parâmetros ambientais locais, entre eles a temperatura (uma vez que os peixes são animais poiquilotermicos, estando dependentes das mudanças de temperatura e possuindo uma temperatura de crescimento óptima para cada espécie/idade), a qualidade da água (a poluição e vulnerabilidade a parasitas e a outros agentes patogénicos na qual o pargo é sensível). O pargo tem como características essenciais: alto valor económico no mercado, crescimento rápido e capacidade de se adaptar a grandes densidades, disponível no meio selvagem, e tem grande distribuição geográfica onde é procurado e apreciado nos mercados europeus e americanos (Kentouri *et al.*, 1995). Além destas características, Suquet *et al.*, (2002) salientam ainda, a importância dos critérios de pós selecção como as malformações que afectam a qualidade e o aspecto do peixe, influenciando os preços de mercado. Entre as malformações encontradas salientam-se: malformação ou ausência de um ou dois opérculos, malformação da bexiga-natatória e vértebras, ausência de bexiga-natatória funcional e malformação da mandíbula.

Esta espécie reúne de forma positiva muitos destes parâmetros, pelo que é considerada pelos investigadores uma espécie com potencial para ser aplicada à aquacultura (Divanach *et al.*, 1993; Kentouri *et al.*, 1995; Stephanou *et al.*, 1995; Pavlidis *et al.*, 2001; Suquet *et al.*, 2002; Myolas *et al.*, 2004).

2. Taxonomia Biologia e Distribuição

O pargo, pertence à Família *Sparidae*, Sub Ordem *Percoideia*, Ordem *Perciformes*, Classe *Osteichthyes* (Mannooch & Hassler, 1978). O seu corpo é oval achatado aos lados. A cabeça é grande, os olhos são pequenos e a boca é relativamente pequena em posição terminal inferior (Fowler, 1936). Possui quatro dentes do tipo canino no maxilar superior e seis no maxilar inferior e, duas mandíbulas com 2 a 3 séries de dentes do tipo molar. A barbatana dorsal tem 11 a 12 espinhos e 7 a 8 raios moles, possuindo entre 50 a 56 escamas ao longo da linha lateral. A barbatana anal possui 3 espinhos e 7 a 8 raios moles, e as barbatanas ventrais possuem 1 espinho e 5 raios moles. Nas barbatanas peitorais observam-se 15 raios moles e a barbatana caudal com 24 raios moles. O corpo tem cor vermelha - alaranjada prateada. Possui 11 a 12 linhas de pequenos pontos azuis na região entre a nuca até ao pedúnculo caudal, que se estendem até à base da barbatana peitoral. O peixe apresenta-se ventralmente com uma cor branca ou branca acinzentada. Possui duas listas em azul claro, uma por cima e outra por baixo do olho. As barbatanas ventrais são de cor azul clara e as barbatanas peitorais ostentam a cor amarela clara. A barbatana caudal é amarela clara e vermelha na sua borda. A porção da barbatana dorsal espinhosa é rosa e a porção de raios moles é amarela. Apresenta uma mancha escura traçada na zona inferior do olho até a articulação da mandíbula (Kentouri *et al.*, 1995) (Figura 1).



Figura 1 – Pargo – *Pagrus pagrus*. Fonte: www.fishbase.org.

O pargo encontra-se geograficamente distribuído no Oceano Atlântico desde as ilhas Britânicas (ocasionalmente) até Angola, na Costa Oeste de África, nos Açores, Madeira e Canárias, no Mediterrâneo e Adriático, no Atlântico Oeste e Golfo do México (Figura 2).

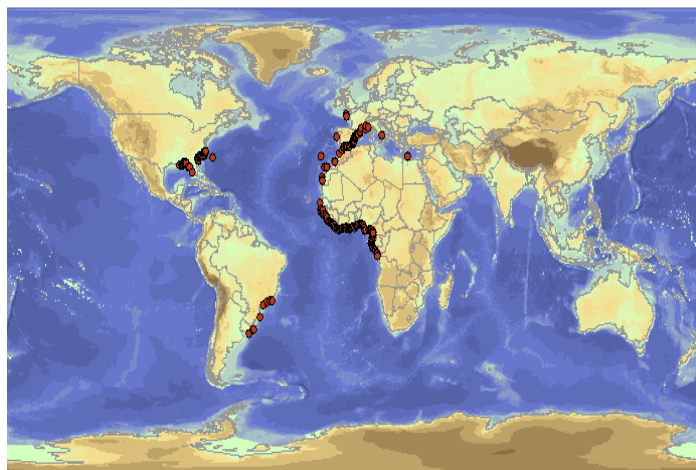


Figura 2 – Distribuição Geográfica do pargo. Fonte: www.fishbase.org.

Esta espécie é geralmente encontrada entre os 30 e os 60 metros de profundidade (temperaturas variando entre os 13° e 25 °C), podendo, contudo ser observada ocasionalmente aos 180 metros (Manooch, 1975; Manooch, 1976; Vaughan *et al.*, 1992). Outros autores referem a distribuição desta espécie entre 18 a 280 metros de profundidade, o que lhes permite tolerar valores de temperatura entre 8° a 29 °C, com o óptimo de temperaturas de 13° a 26°C, que lhe permite ter um crescimento rápido e boa adaptabilidade ao cativeiro (Divanach *et al.*, 1993; Kentouri *et al.*, 1994). Outros autores mencionam ainda o facto dos pargos aparecerem entre os 20 e 150 metros (Vassilopoulou & Papaconstantinou, 1992). Mannooh, (1976) refere que o pargo é frequentemente encontrado em fundos rochosos e arenosos a profundidades entre 10 a 30 metros no Verão, deslocando-se para profundidades maiores no Inverno. Segundo este autor os juvenis encontram-se preferencialmente em zonas de algas (*Posidonia*). É uma espécie que não realiza migrações de longo curso nem movimentos locais extensos (Kentouri, *et al.*, 1995). Alimentam-se de moluscos, crustáceos decápodes, equinodermes e peixes (Marzouk & Kartas, 1987). O pargo pode atingir o comprimento de 75 cm e 10 kg de peso (Mannooh, 1976). A sua reprodução ocorre entre Fevereiro e Maio, com adultos com comprimento de 24 cm (Mannooh & Hassler, 1978; Hood & Johnson, 2000) e para alguns autores entre Março e Abril com as fêmeas a atingirem a sua maturidade aos dois anos (Vassilopoulou, 1989; Vaughan *et al.*, 1992; Pajuelo & Lorenzo, 1996). A proporção entre sexos revela uma prevalência de fêmeas (variação de 75% a 93%), indicadora da teoria da característica hermafrodita protogínica desta espécie (Mannooh, 1976; Aleksev, 1983; kentouri *et al.*, 1995; Pajuelo & Lorenzo, 1996; Kolios *et al.*, 1997; Hood & Johnson, 2000 e Conides & Glamuzina, 2001). Pajuelo & Lorenzo, (1996), encontraram nos seus estudos, a partir da captura de 1858 indivíduos nas ilhas Canárias, entre Maio de 1985 e Abril de 1986, uma predominância de fêmeas com

tamanho inferior aos machos. A proporção encontrada entre machos para fêmeas selvagens foi de 1:3 e o período reprodutivo desta, foi entre Dezembro e Maio, registando-se maior actividade gonadal entre Fevereiro e Março. Com um comprimento de 22,6 cm 50% são fêmeas e aos 26,7 cm, 50% são machos. Por outro lado, a predominância de fêmeas com os tamanhos mais pequenos e a presença de indivíduos com as gónadas masculinas bem desenvolvidas, assim como, resíduos da degeneração de ovários, são indicadores de que o pargo é uma espécie hermafrodita protogínica nas ilhas Canárias (Pajuelo & Lorenzo, 1996). Manooch, (1976) e Manooch & Hassler, (1978), observaram a mesma característica desta espécie na região da Carolina do Norte. Hood & Jonson, (2000) ao relacionarem a proporção entre sexos, com o comprimento e a idade consideraram o pargo uma espécie protogínica. Hood & Jonson, (2000), determinaram a proporção entre machos e fêmeas de adultos selvagens de 1,0:1,6, enquanto que Nelson, (1988) durante dois anos de estudo, descreveu a proporção entre machos e fêmeas de 1:2,8, a mesma proporção defendida por Manooch, (1976) para os anos de 1972-1974. Segundo a moda do comprimento/idade para fêmeas e machos determinada por estes autores, resultante da amostragem efectuada, foi de 301-325mm/4anos e 326-350mm/5anos respectivamente. Hood & Jonson, (2000), encontraram fêmeas a partir de 194mm e machos com comprimento mínimo de 298mm. As fêmeas tinham um comprimento entre 194mm e 302mm. Estes autores referem que o aumento da proporção entre fêmeas em meio selvagem, está associado à pressão exercida pela pesca que tendencialmente apanha os exemplares maiores correspondendo a machos. Hood & Johnson, (2000) sustentaram a mesma observação no Golfo do México e Alekseev, (1983), na costa noroeste de África. Alekseev, (1982), referiu que a região do ovário se mantém ao longo da superfície dorso ventral do testículo, na forma de tecido degenerativo em todos os machos quando a região testicular assume características de testículo. A proporção entre sexos tende a favor das fêmeas (Pajuelo & Lorenzo 1996). A predominância de fêmeas foi igualmente observada na costa oeste Atlântica (Cotrina & Cousseau, 1975; Manooch, 1976; Manooch & Hassler, 1978) e também no Mediterrâneo Este (Vassilopoulou & Papaconstantinou, 1992) assim como nas ilhas Canárias (Lozano *et al.*, 1990). Contudo, Alekseev, (1982), refere que a presença de fêmeas com uma grande dispersão de tamanhos é indicadora de que a conversão sexual não acontece em todos os peixes desta espécie. No Atlântico Oeste a desova ocorre no Inverno, podendo prolongar-se até início da Primavera (Walker, 1950; Ciechomski & Weiss, 1973; Manooch, 1976; Manooch & Hassler, 1978) assim como na zona do Golfo do México onde o pargo realiza as suas posturas, em meio selvagem, entre Janeiro e Abril (Nelson, 1988; Hood & Johnson, 2000). No

Mediterrâneo a desova ocorre entre a Primavera e o Verão (Ranzi, 1969; Vassilopoulou & Papaconstantinou, 1992). Verifica-se um atraso nas posturas entre o Atlântico Oeste e o Mediterrâneo (Pajuelo & Lorenzo 1996). Nas ilhas Canárias a temperatura de desova ocorre entre 18° e 20°C. Na Argentina as posturas de pargo registam-se entre as temperaturas de 20° e 21 °C (Ciechomski & Weiss, 1973). Na Carolina do Norte foram registadas posturas a temperaturas de 16,4°C a 21,5°C (Manooch, 1976; Manooch & Hassler, 1978). Pajuelo & Lorenzo, (1996), referem os 16° a 22°C como temperaturas óptimas para a desova do pargo. Segundo estes autores, as diferenças observadas na maturidade sexual entre os sexos são explicadas pela protogenia onde as fêmeas atingem a maturidade no segundo ano de vida e os machos ao 3º ano. Estes resultados foram também observados na Carolina do Norte (Manooch, 1976; Manooch & Hassler, 1978) e a Este do Mediterrâneo (Vassilopoulou & Papaconstantinou, 1992).

Pajuelo & Lorenzo, (1996), encontraram na relação comprimento-peso, machos mais pesados que as fêmeas para um dado comprimento. Dados semelhantes foram observados noutras regiões (Dias *et al.*, 1972; Manooch & Huntsman, 1977; Vassilopoulou & Papaconstantinou, 1992; Hood & Johnson, 2000). O factor de condição (FC) está relacionado com a temperatura e período de posturas (Pajuelo & Lorenzo, 1996). O FC é mais baixo durante o período de posturas e quando a temperatura da água do mar é baixa. O FC é alto no Verão, imediatamente após o fim das posturas (Pajuelo & Lorenzo, 1996). O pargo tem uma duração de vida de 14 anos nas ilhas Canárias (Pajuelo & Lorenzo, 1996), 15 anos na Carolina do Norte (Manooch, 1976) e 17 anos na costa Argentina (Cotrina & Cousseau, 1975) e Golfo do México (Hood & Jonhson, 2000). Alekseev, (1983), registou que o comprimento médio de indivíduos que efectuaram reversão do sexo é sensivelmente maior quando comparados com fêmeas da mesma idade. No entanto, as diferenças de comprimento entre machos e fêmeas da mesma idade não podem ser consideradas evidentes nas taxas de crescimento entre sexos, dado que as fêmeas são os mesmos indivíduos em fases diferentes da sucessão sexual. Possivelmente, as fêmeas maiores pertencem a um grupo etário onde se observaram as primeiras mudanças de sexo (Alekeev, 1983). Outros autores consideram o pargo como uma espécie protogínica diândrica, na qual todos os peixes possuem ovários ou ovotestis com a dominância do espaço ovárico nos primeiros dois anos de vida (Kokokiris *et al.*, 1999; Fostier *et al.*, 2000). Kokokiris *et al.*, (1999), observaram em cativeiro estádios pubertários de fêmeas e machos com três anos de vida, e aos 4 anos apenas 50% de fêmeas maduras. O pargo dispõe de um desenvolvimento assincrónico do ovário, dependendo da latitude e realiza posturas entre Fevereiro e meados de Junho (Mannoch, 1976; Vassilopoulou &

Papaconstantinou, 1992; Vaughan *et al.*, 1992, Pajuelo & Lorenzo, 1996; Mihelakakis *et al.*, 2001).

3. Reprodução em cativeiro

3.1 Selecção de Reprodutores

Stephanou *et al.*, (1995), recorreram inicialmente à captura de exemplares selvagens cujo peso variava entre os 500 e 900 gramas. No entanto, foi observada uma dificuldade de adaptação dos exemplares à ração, registando-se um comportamento nervoso, perda de peso, exoftalmia e cegueira, perda de coloração e infecções cutâneas. Dadas as dificuldades encontradas por estes autores, posteriormente optaram pela captura de juvenis com 20 a 50 gramas com redes de arrasto. No entanto, este método de captura provocava hiper-insuflação da bexiga-natatória, problema ultrapassado eficazmente através da compressão lateral do peixe com as duas mãos. Após a captura, os peixes eram tratados com agentes bactericidas sobre as lesões provocadas pela perda de escamas devido ao manuseio. Foram então colocados cerca de 150 exemplares com peso médio de 30 gramas em tanques circulares de 40 m³ de fibra de vidro.

Kentouri *et al.*, (1995), capturaram exemplares selvagens através de redes de arrasto. Estes registaram uma relação directa entre a mortalidade e a profundidade, na qual a mortalidade aumenta com a profundidade. Os autores ao utilizarem o método do arrasto para a captura de pargos, observaram que os peixes tinham super insuflação da bexiga-natatória. Este problema foi minimizado com a perfuração da mesma, o que fez baixar a mortalidade em mais de 50%. O tratamento dos exemplares com produtos antibacterianos e antiparasitários em simultâneo diminuiu a mortalidade a longo prazo (3 meses).

A captura de exemplares selvagens para reprodução em cativeiro também pode ser efectuada através da pesca em anzol ou armadilhas utilizadas em artes de pesca (covos) (Vaughan *et al.*, 1992). Na Região Autónoma da Madeira a captura dos exemplares realiza-se através destes métodos. Os exemplares fazem uma primeira adaptação ao cativeiro e ao alimento com rações, em jaulas flutuantes (Timóteo *et al.*, 2001).

3.2 Condições para estabulação de reprodutores de pargo

Stephanou *et al.*, (1995), defendem a obtenção de exemplares para reprodução a partir da captura de juvenis selvagens, pois estes apresentam uma melhor adaptação ao cativeiro, quando colocados em tanques circulares de fibra de vidro de 40m³ de volume com uma taxa de renovação em 30%/h de água. Crescem em média por ano cerca de 300 gramas atingido as 610 gramas dois anos após captura a temperaturas que oscilaram entre os 14,5° e os 28°C. Estes exemplares aceitaram rações comerciais a partir do 10º dia da captura. Neste período observou-se a perda da coloração rosa característica.

Kentouri *et al.* (1995), mencionam perda de coloração dos exemplares após quatro semanas de cativeiro. O autor iniciou uma experiência com exemplares juvenis de 15 gramas, registrando um peso médio de 280 gramas no primeiro ano e 550 gramas no segundo ano. Estes exemplares habituaram-se às rações comerciais distribuídas por alimentadores de pedido. Os melhores índices de crescimento foram registrados no Inverno, diminuindo com a subida da temperatura da água. O índice de conversão (3 a 3,5) foi aproximadamente superior 1,5 vezes, comparativamente ao registrado na dourada, o que parece indicar que os requisitos nutricionais são diferentes para as duas espécies. O pargo possui um parâmetro semelhante ao da dourada relativamente às posturas, sendo a temperatura fundamental para determinar esse período.

Os Reprodutores são alimentados com dietas comerciais usadas em dourada e complementadas com suplementos de lula e pequenos peixes (Stephanou *et al.*, 1995; e Timóteo *et al.*, 2001).

Pavlidis *et al.*, (2001), encontraram no Mediterrâneo vários tipos e tamanhos de tanques utilizados nos reprodutores de pargo (circulares, rectangulares, etc.), com volumes entre os 10 e os 20m³. A taxa de renovação da água dos tanques varia entre 100%/hora a 150%/hora, sendo esta reduzida para 25%/hora a 30%/hora no período de desova. Segundo estes autores, os peixes com idades compreendidas entre 4 e 8 anos (0,7 a 4kg), são mantidos a uma densidade de 10 a 15kg/m³ na proporção semelhante entre machos e fêmeas.

3.3 Maturação e Postura

No registo de posturas em cativeiro no Chipre, foram observados exemplares de pargo com o comprimento médio de 330mm e peso médio de 650gramas correspondendo a 3 anos de idade (Stephanou *et al.*, 1995). Os mesmos autores, referem que esta espécie tem como característica reprodutiva as posturas sequenciais. O pargo é uma espécie com posturas múltiplas e com fecundidade indeterminada (Fostier *et al.*, 1999 e Mylonas *et al.*, 2004). Apresenta um desenvolvimento do ovário não sincronizado e desova diariamente por um período de 3 a 4 meses (Fevereiro a Maio, a temperaturas de 14-17°C) (Pavlidis *et al.*, 2001). As suas características reprodutivas assemelham-se com outros peixes como os Sparídeos (*Sparus aurata*, e *Pagrus sp.*) e robalo, *Dicentrarchus labrax*. (Fostier *et al.*, 1999). Fostier *et al.*, (1999), também defende ser possível a reprodução desta espécie em cativeiro desde que submetida a condições favoráveis à gestão dos progenitores.

Stephanou *et al.*, (1995), obtiveram diariamente pela manhã, posturas espontâneas entre Fevereiro e Abril a temperaturas entre os 17° e 18°C.

Manooch (1976), observou, que as fêmeas selvagens possuíam geralmente tamanho inferior a 400mm de comprimento total, e uma grande proporção de machos com comprimento total superior a 450mm. A reversão sexual ocorre em comprimentos entre os 325 e os 425mm, e a maturidade sexual aos 3-4 anos.

Kolios *et al.*, (1997), obtiveram posturas espontâneas de ovos a partir de exemplares selvagens com pesos entre 500 e 1000 gramas, mantidos em tanques rectangulares exteriores de 30m³, com uma taxa de renovação de água de 5m³/hora à densidade de 4Kg/m³, e com uma proporção entre sexos de 1:1.

Fostier *et al.*, (1999), descreveu três vias para a maturação da gónada. Na primeira via, o peixe imaturo (com menos de três anos de idade) desenvolve o tecido testicular e os ovários degeneram antes da maturidade sexual, ao qual se designa por macho tipo primário. Na segunda via, o desenvolvimento da gónada termina com a maturação da zona do ovário e o peixe tem função como fêmea. A terceira e, última via, é caracterizada pela mudança de fêmea para macho, após uma ou mais posturas, e à qual se designa por macho tipo secundário. Para alguns indivíduos a primeira maturação ocorre aos três anos de idade, com a proporção de 11,2% de fêmeas e 77% de machos, no entanto apenas 50 % dos indivíduos são maturos aos 4 anos de idade (Fostier *et al.*, 1999 e Kokokiris *et al.*, 1999).

A gametogénese tem início no Outono, coincidindo com a diminuição do fotoperíodo e temperatura. A nível hormonal, verifica-se uma evolução de 17β-estradiol, oesterona e vitelogenina no plasma das fêmeas e a testosterona e a 11-cetosterona foram

encontradas no plasma dos machos (Fostier *et al.*, 1999). Na fase de recuperação dos reprodutores (Junho a Outubro), registam-se baixos valores de 17β - oestradiol (E_2) e testosterona (T) ($< 0,5$ ng/ml), seguindo-se um aumento destas hormonas na fase de vitelogénese activa (Janeiro e Fevereiro) com um pico próximo ao período das posturas (E_2 : 1-3ng/ml; T:1,5-4,5 ng/ml) (Pavlidis *et al.*, 2000). Os níveis de vitelogenina são muito baixos no início da ovogénese, atingindo os valores máximos na maturidade máxima (0,4-2,5)mg/ml) (Pavlidis *et al.*, 2000). Os machos encontram-se na fase de recuperação entre Setembro e Novembro. A espermiogénese ocorre entre Dezembro e Abril e a espermiacção activa de Fevereiro a Maio (Pavlidis *et al.*, 2000). Os machos passam a fase de “desovado” entre Maio e Agosto. Os níveis de T e 11-cetotestosterona (11-KT) aumentam significativamente durante a espermiogénese até ao pico da espermiacção (T: 2,5-10ng/ml; 11-KT: 1,5-5 ng/ml) (Pavlidis *et al.*, 2000).

O pargo é uma espécie protogínica diândrica, possuindo um ovotestis com o ovário dominante nos primeiros dois anos de vida (Fostier *et al.* 1996; Kokokiris, 1998; Kokokiris *et al.*, 1999). Os machos primários (originários directamente da gónada não funcional imatura) são encontrados ao quarto ano de vida (35-39º mês). A percentagem de machos secundários (originários a partir de fêmeas maduras) aumenta com a idade até aos 100% de machos aos 70 meses (5,8 anos) de idade (Pavlidis *et al.*, 2000). A dispersão elevada de indivíduos com ovotestis em todos os grupos etários indica que a mudança de sexo não tem relação com a idade ou tamanho específico (Kokokiris *et al.*, 1999). A puberdade dos machos é atingida com 4 anos de vida, enquanto que nas fêmeas (mais de 50%) ocorre aos 5 anos com um comprimento mínimo de 24,5 cm (Pavlidis *et al.*, 2001).

A percentagem de ovos fertilizados com flutuação é geralmente alta, (95 a 100%) (Mihelakakis *et al.*, 2001). Na Grécia, a produção média anual de ovos viáveis de um lote de reprodutores estimou-se em cerca de 174000 em 2001 e 2002 em 301500 ovos viáveis por kg de fêmea. As posturas ocorrem diariamente com uma produção de ovos variável, mas com um pico de produção a meio do período de posturas que tem início em Janeiro e término Abril-Maio com temperaturas entre 15,8 a 19,2º (Mylonas *et al.*, 2004). O crescimento das gónadas, a fecundidade e a viabilidade do ovo são muito susceptíveis às condições do meio ambiente, tais como a temperatura, o “stress” e principalmente a nutrição dos peixes (Kjorsvik *et al.* 1990 e Brooks *et al.* 1997). A restrição de alimento reduz a fecundidade total e podem atrasar a maturação assim como, diminuir o número de peixes maduros (Kjorsvik *et al.* 1990 e Brooks *et al.* 1997). Estes autores referem que a alteração da composição, peso e tamanho do ovo podem ser fortemente afectados pelos diferentes níveis alimentares e que a deficiente

alimentação dos reprodutores afecta directamente a composição química do saco vitelino que é um importante centro de fornecimento de energia e nutrientes para a qualidade das larvas.

Buke *et al.*, (2005), registaram as posturas a partir de reprodutores selvagens adaptados ao cativeiro na Turquia, entre Março e Maio, registando um total de 87 dias de postura consecutiva a temperaturas entre 15,8 a 22 °C, obtendo um total de 18,2 milhões de ovos, cerca de 550000 ovos/kg de fêmea, sendo 80-85% de ovos viáveis (fertilizados e flutuantes). O registo da produção de maior quantidade e qualidade de ovos ocorreu entre 16,9 e 18°C de temperatura, coincidindo com 10^o-13^o dia de postura e 48^o - 60^o dia de postura (Buke *et al.*, 2005).

Em Canárias foram registadas posturas espontâneas de pargo em cativeiro (Hernandez-Cruz *et al.*, 1999), assim como na Madeira (Timóteo *et al.*, 2003). Este último autor registou as posturas em cativeiro entre os meses de Janeiro e Abril. Mendez *et al.*, (1995), registaram posturas dos reprodutores de pargo com 3-4 anos em cativeiro, entre Fevereiro e Maio a temperaturas oscilando entre os 13,6 e os 18,3°C. Na ilha de Creta, Grécia a desova em habitat natural ocorre na primavera entre Março e Maio com temperaturas entre 15 e 19 °C. Na Argentina as posturas de ovos de pargo em cativeiro são espontâneas e ocorreram entre Novembro e Fevereiro na qual, foram obtidas 68 posturas em cativeiro, com um lote de 35 exemplares com peso médio 2380 ± 0,70 g e comprimento médio 39,76 ± 3,75 cm na proporção de sexos aproximada de 1:1. O Lote produziu um total de 2 433 272 ovos, dos quais 37,6% eram fertilizados (Radonic *et al.*, 2005). Para a mesma região, Mihelakakis *et al.*, (2001) descreveu posturas entre Fevereiro e Junho a temperaturas entre os 12,2°C a 18,5 °C e Mylonas *et al.*, (2004) obtiveram posturas naturais (espontâneas) entre Janeiro e Maio para um intervalo de temperaturas entre 15,8 e 19,2 °C.

As posturas em cativeiro com reprodutores de pargo com 3 anos de idade registadas no Chipre foram espontâneas e ocorreram entre final de Fevereiro e final de Abril a temperaturas de 14,2 a 17,8 °C (Stephanou *et al.*, 1995). O início das posturas teve lugar a partir dos 17 °C (Stephanou *et al.*, 1995), o mesmo foi registado em “stocks” de exemplares selvagens na Carolina do Norte, Estados Unidos, com picos de posturas em Março e Abril (Manooch, 1976). Segundo Manooch, (1976) um pargo com 51,6 cm pode produzir 488600 ovos. Nesta zona, as posturas em habitat natural ocorrem entre Janeiro e Abril a temperaturas de 16 a 21 °C e entre 21 a 100 metros de profundidade. Saka *et al.*, (2005), observaram posturas entre os 13 e os 22 °C, permitindo o desenvolvimento embrionário normal.

Canário *et al.*, (1997) e Buke *et al.*, (2005), obtiveram posturas por indução hormonal, utilizando cápsulas injectáveis de GnRHa com uma dose de 40-50 µg por kg de peso

de fêmea. Buke *et al.*, (2005), obtiveram posturas de ovos a partir de indução hormonal por injeção de cápsulas de Gn.RHa em reprodutores de origem selvagem, provenientes do litoral costeiro da Turquia. Os animais foram mantidos em cativeiro com fêmeas de peso médio de $1651 \pm 381,2g$ e $38,5 \pm 2,07cm$ de comprimento e para os machos um peso de $1939 \pm 427g$ e $43,28 \pm 2,28cm$ de comprimento e uma densidade de $4,5 \text{ kg/m}^3$ na proporção de 1 macho para 3 fêmeas (1:3). Buke *et al.*,(2005), realça o facto de obter posturas aos $22^{\circ}C$ através da utilização de indução artificial com GnRHa. A utilização de implantes de hormona para indução da desova pode alargar o período de posturas para 4 meses (Zohar *et al.*, 1995). Outros autores referem que a utilização de GnRHa, alarga o período de posturas assim como o desempenho dos reprodutores de pargo (Canário *et al.*, 1997; Zohar & Myolas, 2001). Nas ilhas Canárias, Hernandez-Cruz *et al.*, (1999), registaram posturas espontâneas em cativeiro a partir de exemplares selvagens.

Desde 1998 é possível induzir as posturas naturais em reprodutores de pargo através da manipulação da temperatura, não se observando ovos com mais de uma gota lipídica ou larvas com malformações, indicando boa condição nutricional e baixos níveis de stress dos reprodutores mantidos em cativeiro (Radonic *et al.*, 2005).

A tabela que segue (Tabela 1) apresenta vários registos de posturas de pargo em cativeiro, resultantes dos vários estudos dos autores.

Local	Meses de Postura	Temperaturas (°C)	Variação °C	Autores
Argentina	Novembro a Fevereiro	15 a 25 (val exp.)	10	Radonic <i>et al.</i> , (2005)
Argentina	Fevereiro a Junho	12.2 a 18.5	6.3	Mihelakakis <i>et al.</i> , (2001)
Turquia	Março a Maio	15.8 a 22	6.2	Buke <i>et al.</i> , (2005)
Grécia	Janeiro a Abril-Maio	15.8 a 19.2	3.4	Myolas <i>et al.</i> , (2004)
Grécia	Fevereiro a Maio	13.6 a 18.3	4.7	Mendez <i>et al.</i> , (1995)
Chipre	Fevereiro a Abril	14.2 a 17.8	3.6	Stephanou <i>et al.</i> , (1995)

Tabela 1: Registo de vários estudos realizados para o período do ciclo de posturas do pargo em cativeiro.

3.4 Os ovos

Os ovos de pargo, possuem um diâmetro que varia entre 920 a 1050 μm e uma única gota lipídica de 220 a 250 μm de diâmetro (Stephanou *et al.*, 1995). No entanto, o diâmetro do ovo pode variar entre 640 – 1090 μm , sendo que Ozden *et al.*, (2005), referem que esta variação relaciona-se com: a distribuição geográfica, a estratégia alimentar; a duração do período de desova, o método de desova, a idade e tamanho do peixe. A diferença de tamanhos não é contraditória, atendendo ao facto da variação do diâmetro do ovo estar relacionada com o tamanho dos reprodutores, idade e genótipo, bem como a variação diária e sazonal da quantidade de consumo de alimento (Bromage, 1995). Existe uma correlação entre o diâmetro do ovo e o comprimento larvar. As larvas maiores tendem a sobreviver mais tempo sem comida comparativamente às larvas que sejam provenientes de ovos mais pequenos (Kjorsvik *et al.*, 1990).

Kolios *et al.* (1997), recolheu ovos a partir de reprodutores em cativeiro a temperaturas entre os 13 e os 25° C, com $842 \pm 36 \mu\text{m}$ de diâmetro possuindo uma única gota lipídica central sem pigmentos com diâmetro de 185 - 210 μm . Manooch, (1976) retirou ovos por compressão abdominal de fêmeas maduras e observou que os ovos por fertilizar são esféricos, transparentes e pelágicos com um diâmetro de 640 a 920 μm , contendo uma única gota lipídica centra com 180 a 210 μm de diâmetro. Estes autores recolheram 800 gramas de ovos o que corresponde a 1 milhão de ovos (1 grama corresponde a 1250 ovos). Kentouri *et al.*, (1995) registaram em vários lotes ovos, cujo diâmetro variava entre 980 μm e os 1042 μm , possuindo uma única gota lipídica com 230 μm de diâmetro, Mihelakakis *et al.*, (2001) registaram valores semelhantes. Conides & Glamuzina, (2001), registaram um valor médio do diâmetro dos ovos de $834 \pm 21 \mu\text{m}$ e uma taxa de eclosão a 84% aos 10°C. Saka *et al.*, (2005) obtiveram ovos com $952 \pm 42 \mu\text{m}$ de diâmetro e com uma gota lipídica de $220 \pm 11 \mu\text{m}$. Radonic *et al.*, (2005), registaram ovos com um $900 \pm 30,0 \mu\text{m}$ de diâmetro (772 a 975 μm) e uma taxa media de eclosão de 79,7%, considerando posturas de qualidade para taxas de eclosão superiores a 70%. Este autor observou que as posturas coincidiam com o início da tarde entre as 13 e as 16 horas. Machinandiarena *et al.*, (2003) mediram ovos de pargo com diâmetro de 890-930 μm obtidos em 1998 a partir de posturas naturais. Mylonas *et al.*, (2004) obtiveram ovos de pargo com diâmetro de 990-1070 μm . A tabela 2 apresenta de forma resumida o registo do diâmetro dos ovos e da gota lipídica, obtidos pelos diversos autores.

Diâmetro do ovo	Diâmetro da gota lipídica	Autores
842 ± 36 µm	185 - 210 µm	Kolios <i>et al.</i> , (1997)
640 a 920 µm	180 a 210 µm	Manooch, (1976)
980 a 1042 µm	230 µm	Kentouri <i>et al.</i> , (1995)
980 a 1042 µm	230 µm	Mihelakakis <i>et al.</i> , (2001)
834±21 µm		Conides & Glamuzina, (2001)
952 ±42 µm	220 ±11 µm	Saka <i>et al.</i> , (2005)
900 ± 30,0 µm		Radonic <i>et al.</i> , (2005)
890 a 930 µm		Machinandiarena <i>et al.</i> , (2003)
990 a 1070 µm		Mylonas <i>et al.</i> , (2004)

Tabela 2 - Tabela resumo do registo do diâmetro dos ovos observados pelos diversos autores

Mylonas *et al.*, (2004), obtiveram em dois anos consecutivos taxas de eclosão entre 81,6 a 85,5%; taxa de sobrevivência larvar variando entre os 74,5 a 79,3% e a taxa de sobrevivência larvar ao dia 5 (DAE) entre 76,7 a 78,8%. Estes autores registaram uma correlação positiva entre a taxa de viabilidade e a sobrevivência larvar ao primeiro dia, que por sua vez tem correlação positiva significativa com a taxa de eclosão.

Uma vez que a sobrevivência larvar aumenta com a taxa de eclosão, Mylonas *et al.*, (2004) consideram ser possível tomar decisões ao nível da incubação de um lote de ovos para produção larvar com base nas taxas de eclosão, taxas de viabilidade e taxas de sobrevivência larvar, utilizando-as como indicadores de qualidade, melhorando por isso a gestão nas maternidades sem comprometer a produção.

Ovos grandes dão origem a larvas grandes, podendo o diâmetro do ovo ser um parâmetro biológico indicador de qualidade das posturas (Kamler *et al.* 1992). Baynes & Howel, (1996), referem que a variação do tamanho do ovo de linguado está relacionada com a idade, tamanho, condições fisiológicas da fêmea, duração das posturas e com a variação dos parâmetros ambientais. Um dos factores que afectam a fecundidade e o tamanho dos ovos é a dieta dos reprodutores (Bromage, 1995). O tamanho da fêmea influencia positivamente o aumento do diâmetro do ovo e o aumento do número de ovos produzidos, bem como aumenta a fecundidade total, sendo evidente nos salmonídeos (Bromage & Cumaranatunga, 1988). Esta interacção não é clara para alguns autores. Springate & Bromage, (1985), concluem que os ovos pequenos não são de menor qualidade que os ovos grandes, uma vez que estes autores defendem que a sobrevivência dos ovos não é afectada pelo tamanho, mas antes pela diferença no estado de maturação do ovo, ou seja a sobrematuração dos ovos tem um efeito preponderante na sua sobrevivência. Em duas espécies de salmão (*O. keta* e *O. kisutch*) e no linguado (*Solea solea*), as larvas com maior volume de saco vitelino são provenientes de ovos maiores e as larvas alcançam maior tamanho

relativamente às larvas provenientes de ovos pequenos (Beacham *et al.* 1985 e Baynes & Howell 1996). No entanto, essa vantagem do tamanho é prontamente eliminada depois da primeira alimentação (Springate & Bromage, 1985).

4. Incubação dos ovos e desenvolvimento embrionário

As temperaturas de incubação influenciam o comportamento das larvas e determinam certas características morfológicas (Saka *et al.*, 2005). Existe uma temperatura adequada para o desenvolvimento de cada etapa de vida, podendo esta ser diferente de espécie para espécie. A temperatura de incubação óptima para o desenvolvimento embrionário dos ovos varia entre espécies (Saka *et al.*, 2005). Esta temperatura tem um efeito directo no tempo de duração do desenvolvimento embrionário que por sua vez determina a taxa de eclosão (Claireaux & Lagardere, 1999; Conides & Glamuzina, 2001). O desenvolvimento dos peixes e a taxa de eclosão é retardado a baixas temperaturas e acelerado a temperaturas mais altas mas a divisão celular no ovo pode ser afectada em determinadas variações de temperatura (Saka *et al.*, 2005).

Segundo Stephanou *et al.*, (1995), a incubação dos ovos pode-se realizar em tanques cilindro cónicos em fibra de vidro com um volume de 3,5 m³ à temperatura de 18±1°C, em circuito aberto na qual o aumento de caudal se faz de forma gradual. A salinidade da água registada foi de 39 ppm. Todos os tanques possuíam luz fluorescente (que posteriormente se desligou), um tira gorduras de superfície (“skimmer”) e arejamento suave.

Para densidades superiores a 150 ovos/l a sobrevivência larvar reduz-se para um terço comparativamente à densidade de 100 ovos/l (Hernandez-cruz, *et al.*, 1999; Pavlidis *et al.*, 2000). A melhor densidade de incubação para a obtenção de larvas de pargo é no máximo de 100 ovos/l (Hernandez-Cruz, *et al.*, 1999) tal como já obtidos em larvicultura de outros sparídeos (Tandler & Helps, 1985; Foscarini, 1988; Tandler *et al.*, 1989; Kentouri *et al.*, 1995). Buke *et al.*, (2005), colocaram ovos a incubar a uma densidade de 1500 ovos/litro em tanques cónicos de 100 a 600 litros em circulação aberta, sem luz, com a salinidade de 40 gr por litro e a 18°C. Estes autores obtiveram uma média de tempo de incubação até à eclosão das larvas de 50 a 52 horas com uma taxa de eclosão de 90 a 95%. Outros autores determinaram um tempo de incubação com uma duração de 48 horas até a eclosão, para temperaturas de 16 a 17 °C, registando-se taxas máximas de eclosão de 80% e com uma densidade larvar de 30 larvas/litro (Stephanou *et al.*, 1995). Machinandiarena, *et al.*, (2003); Conides & Glamuzina, (2001); Kolios *et al.*, (1997), observaram a eclosão das larvas com 50

horas após a fertilização a uma temperatura a 18 °C. Kolios *et al.*, (1997) obtiveram a totalidade da eclosão dos ovos após 85 horas de incubação à temperatura de 18°C com uma taxa de eclosão média de $85 \pm 10\%$. Aristizabal & Suárez, (2006) determinaram o tempo de eclosão de 48 horas à temperatura de incubação de 19,5°C. A dourada (*Sparus aurata*) tem como temperatura ótima 19°C com variação de $\pm 3^\circ\text{C}$ (Polo *et al.*, 1991) o que é uma tolerância ampla. Para o caso do robalo (*Dicentrarchus labrax*) a amplitude de temperaturas ótimas varia entre os 15 e os 17°C (Conides & Glamuzina, 2001). Kolios *et al.*, (1997); Conides & Glamuzina, (2001), estimaram 84% a taxa de eclosão larvar a 18 °C para o pargo. Para a dourada do Japão, a eclosão foi observada a temperaturas entre 14,5 e 25,6 °C (Mihelakakis & Yoshimatsu, 1998). As melhores taxas de eclosão para o linguado (*Solea solea*) foram registradas com temperaturas da água entre os 8 e os 12°C (Baynes *et al.*, 1993). Saka *et al.*, (2005), no decorrer das suas experiências, observaram que as temperaturas ótimas para o desenvolvimento embrionário dos ovos de pargo variavam entre os 16 e os 18°C, podendo os ovos eclodirem no entanto às temperaturas entre 14 e 22°C. A temperatura abaixo dos 8°C e acima dos 24°C, a fase de clivagem celular não se realizou, e quando isso acontecia a divisão era altamente assíncrona ou produziam células de tamanho irregular, registrando-se 100 % de mortalidade às temperaturas 10, 12 e 24°C antes do desenvolvimento do ovo se ter completado, o que pode ainda indicar que uma variação superior a 4°C a partir de uma temperatura de desova a 16,5°C, promove uma redução drástica da sobrevivência dos ovos (Saka *et al.*, 2005). De acordo com o estudo destes autores existe uma relação positiva entre a temperatura e o desenvolvimento embrionário.

Ciechomski & Weiss, (1973), descreveram o desenvolvimento embrionário do pargo. Segundo estes autores o espaço perivitelino é pequeno e apresenta dois pólos de tamanhos diferentes. Duas horas após fertilização surgem 16 a 32 blatómeros no pólo animal. A gota lipídica posiciona-se junto do pólo vegetal e contribuem para a flutuação dos mesmos junto à superfície. Após 5 horas o ovo está em fase de blástula. Entre 8 e 08:30 horas a gastrulação tem início e nesta fase o anel germinal é evidente. O embrião é semelhante a outras espécies de teleósteos e começam a crescer em tamanho. As mudanças morfométricas são rápidas e notam-se as cápsulas ópticas e os primeiros miómeros. Com 17 a 18 horas após fertilização do ovo, o embrião ocupa metade do diâmetro do ovo, começando a crescer a sua porção posterior independentemente do saco vitelino. Aparecem as primeiras células pigmentadas, identificadas como pequenos pontos pretos distribuídos pelo corpo e saco vitelino. Passadas 21 horas da incubação, o embrião ocupa 2/3 do diâmetro do ovo e as cápsulas ópticas estão formadas. O número de miómeros e pigmentos aumenta,

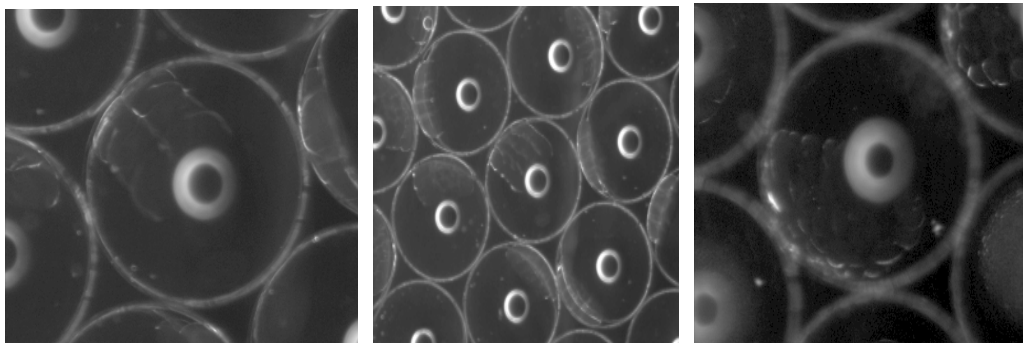
especialmente junto à zona das cápsulas ópticas e região caudal. Às 26 horas o embrião ocupa 2/3 do diâmetro do ovo e os otólitos são visíveis na cápsula óptica. A eclosão ocorre entre os 28 e 48 horas após fertilização para temperaturas 21,5 a 22,5°C respectivamente. O desenvolvimento embrionário do pargo pode ser observado na figura 3.

A sequência nas divisões celulares e o aparecimento dos órgãos sensoriais e motores foi a mesma para as três temperaturas, no entanto o desenvolvimento embrionário foi mais rápido para as temperaturas mais altas. Aos 25°C o embrião completamente formado e eclodido demorou 26 horas e 25 minutos depois da fertilização, e demorou 37 horas e 60 horas a 20°C e 15°C respectivamente (Radonic *et al.*, 2005).

Manchinandarena *et al.*, (2003), analisaram os tempos de eclosão para o pargo às temperaturas de 16°C, 18°C e 20°C, obtendo os tempos de incubação até à eclosão de 59, 51 e 48 horas após fertilização respectivamente.

Radonic *et al.*, (2005), descreveram (a diversas temperaturas 15, 20, 25 °C), de forma mais precisa os diversos estádios de desenvolvimento embrionário considerando quatro grandes fases de desenvolvimento: a divisão celular; a blástula; a gástrula e a do crescimento do embrião. Ao descrever o processo de desenvolvimento embrionário à temperatura de incubação de 20 °C, a fase de clivagem ou divisão celular demora cerca de 3,5 horas após fertilização até chegar às 32 células (figuras 3a) e 3b)) e mais 1 hora até chegar ao estágio final de mórula (figura 3c)). A fase de blástula acontece entre as 4 e as 7 horas (figura 3d)). A Fase de gástrula consiste na migração das células para o pólo oposto, formando um anel circular a meio do ovo. Esta fase desenvolve-se entre as 8 e 15 horas após a fertilização (figura 3e)). A fase de desenvolvimento embrionário ocorre desde o aparecimento do embrião até à eclosão correspondendo das 16 horas até às 32 horas respectivamente. Nesta fase o número de sómitos e o processo de organogenesis definem 8 sub fases. Às 16 horas após fertilização (AF) distingue-se o embrião em forma de T (figura 3f)). A partir deste momento aumenta a pigmentação e os órgãos começam-se a formar. A 2ª sub-fase consiste na formação das vesículas ópticas sendo visíveis lateralmente na cabeça às 17 horas (AF). Nesta fase ainda não se distinguem os sómitos. A 3ª e 4ª sub-fases (18H, AF) consistem no aparecimento da vesícula de Kuppfer, visível no lado ventral da barbatana caudal do embrião. Nesta fase são ainda visíveis os sete sómitos na zona dorsal do embrião e regista-se um aumento da pigmentação ao longo do mesmo. A 5ª sub-fase é marcada pelo aparecimento do coração rudimentar, aumento de 11 para 24 sómitos, desaparecimento da vesícula de kuppfer (21 horas após fertilização) (figuras 3g), 3h), 3i)). A 6ª sub-fase é caracterizada pelo o alongamento da zona caudal do embrião e início dos batimentos cardíacos (28 horas após fertilização). A 7ª

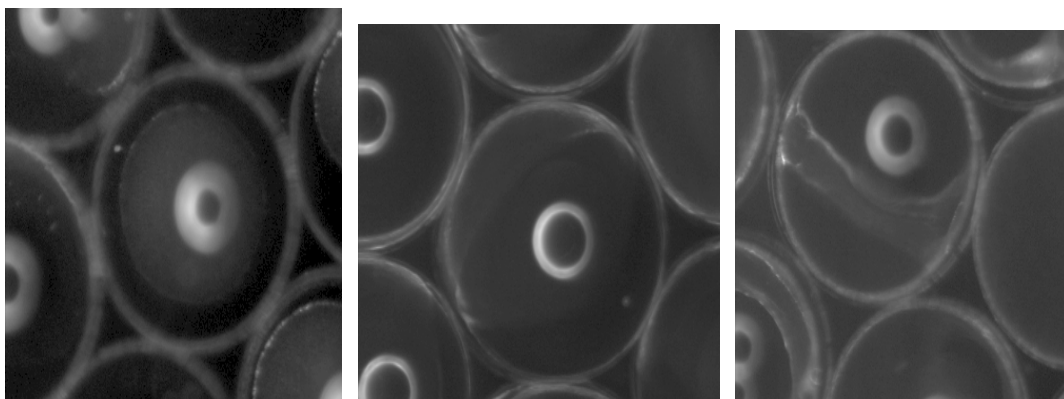
sub-fase é caracterizada pela mobilidade do embrião no interior do ovo e já possui cerca de 2/3 do comprimento do diâmetro do ovo (figuras 3j) e 3k)). A gota lipídica possui pigmentos de xantóforos e melanóforos (30 horas após fertilização). A 8ª sub-fase corresponde à proximidade de eclosão do embrião (32 horas após fertilização à temperatura de incubação de 20°C). Nesta fase o canal alimentar está praticamente formado, no entanto a boca ainda está fechada. Às 37 horas após fertilização à temperatura de incubação de 20°C, dá-se o início da eclosão (figuras 3l) a 3r)). Passadas cerca de 43 horas e 40 minutos, já 100% das larvas eclodiram.



a)

b)

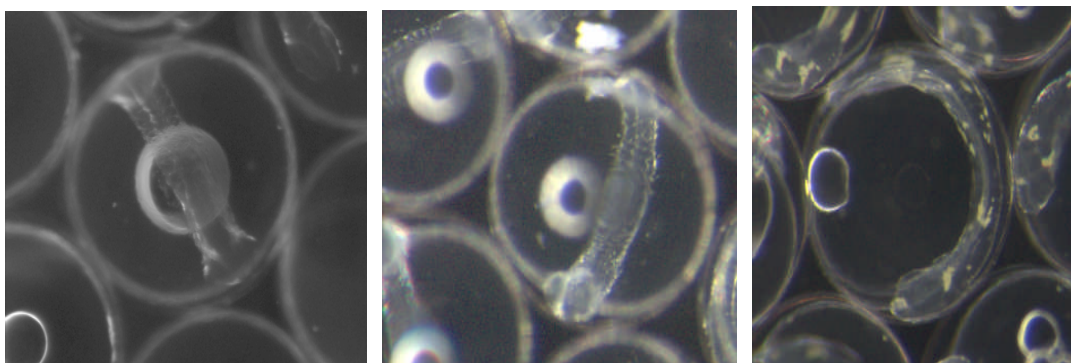
c)



d)

e)

f)



g)

h)

i)

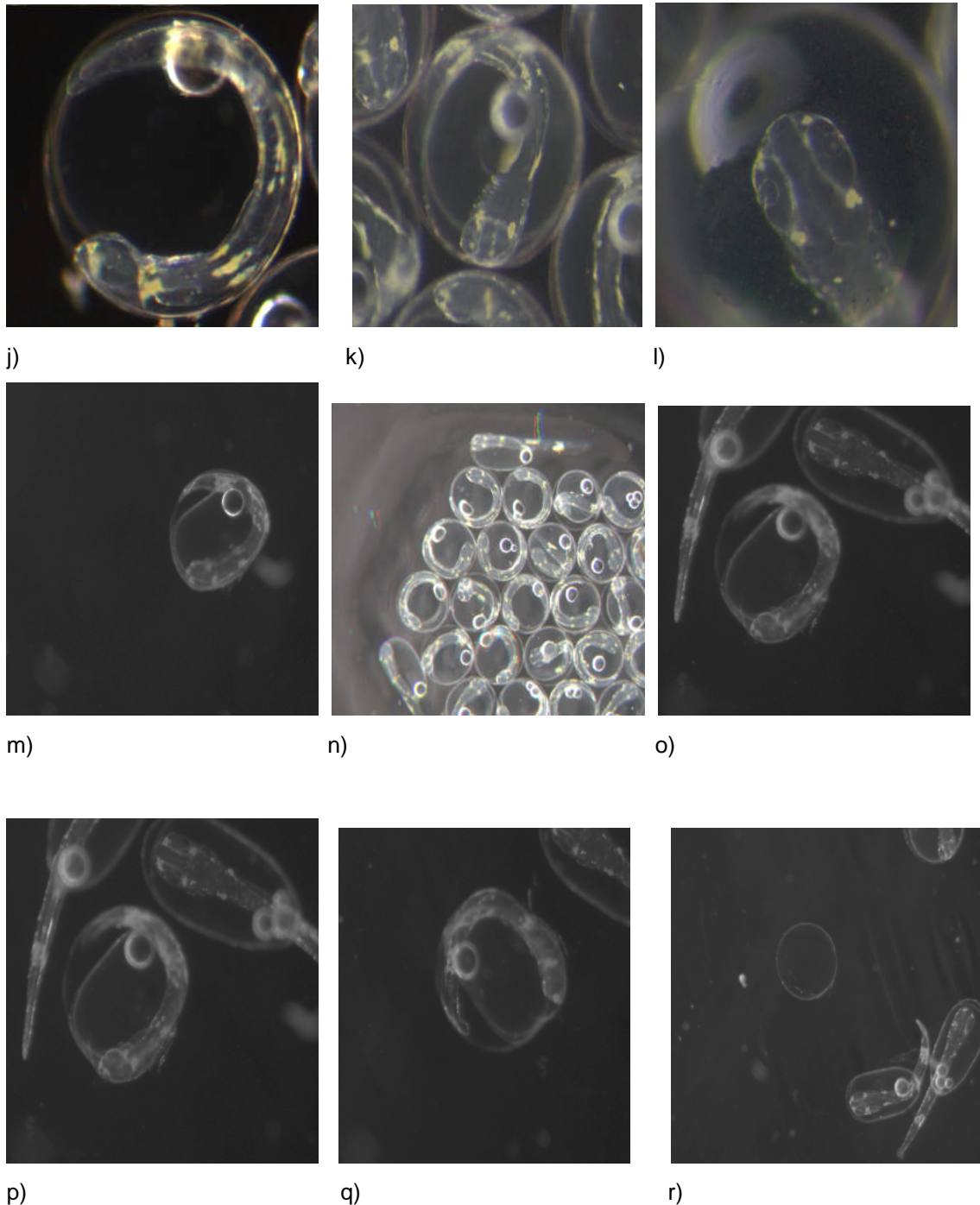


Figura 3 – Desenvolvimento embrionário a 20 °C de temperatura: a) divisão celular com 8 blastómeros (ampl. 4x); b) divisão celular com 32 blastómeros (ampl. 2x); c) fase de mórula (ampl. 4x); d) fase de blástula (ampl. 4x); e) fase de gástrula (ampl. 4x); f) início da formação do embrião (ampl. 4x) ; g) embrião formado com 11 sómitos sendo visível a cabeça e as visículas ópticas (ampl. 4x); h) aparecimento de pigmentação por todo o embrião (ampl. 4x); i) crescimento do embrião em comprimento (ampl. 4X) ; j e k) embrião com comprimento máximo (atinge 2/3 do diâmetro do ovo), onde se pode observar movimentos deste dentro do ovo (ampl. 4X); l) perfuração da membrana do ovo com a acção enzimática de enzimas libertadas por glândula localizada na cabeça (ampliação 6X); m,n,o,p,q e r) sequência da eclosão de uma larva de pargo. Fotos Viriato Timóteo.

O conhecimento dos estádios embrionários, a sequência da segmentação, o diâmetro do ovo, o número de gotas lipídicas, o tempo de formação dos órgãos e a duração do desenvolvimento embrionário até à eclosão, são requisitos básicos para a determinação da qualidade das posturas destinadas à produção massiva de larvas (Radonic *et al.*, 2005).

O Desenvolvimento normal do pargo é possível a uma ampla margem de temperatura, podendo esta espécie ser cultivada a diferentes condições térmicas. Não se registam diferenças nas etapas ao longo do desenvolvimento embrionário às temperaturas de incubação 15, 20, 25°C, registando-se no entanto maior rapidez na divisão celular e na formação dos órgãos com aumento da temperatura sem serem observadas anormalidades (Radonic *et al.*, 2005).

Ao compararmos o que se passa com outros sparídeos, a espécie *Sparus aurata*, tem um tempo de incubação maior, 70 horas após fertilização a 16°C (Bedier *et al.*, 1984), e para a dourada do Japão, o tempo de incubação até à eclosão após fertilização. Segundo Kajiyama, (1929), é de 86,8 horas a 13,9°C, 66,8 horas a 16°C, 53,6 horas a 18°C 45,6 horas a 19,4°C, 40,6 horas a 20,8°C e 34,5°C a 21,8°C. Ainda nesta última espécie Hattori *et al.*, (2004), estudaram os tempos de incubação até à eclosão aos 16°C, 19°C e 22°C, obtendo 65, 45 e 30 horas respectivamente.

A temperatura da água é um factor determinante na qualidade dos ovos durante o período de posturas e incubação dos mesmos (Saka *et al.*, 2005). A temperatura da água pode afectar o metabolismo, a actividade e o desenvolvimento do embrião (Kinne & Kinne, 1962). Os autores Herzig & WinKler, (1986), consideram a temperatura como um dos factores mais importantes na influência das taxas de desenvolvimento dos ovos e das larvas. Foi descrito para muitas espécies que o aumento da temperatura leva a um mais rápido desenvolvimento e menor tempo de incubação até à eclosão. A optimização dos resultados depende ainda das características biológicas e ecológicas das espécies estudadas, no entanto para valores de temperatura além dos valores óptimos, actuam negativamente nas taxas de eclosão e sobrevivência (Braum, 1978; Woynarovich & Horvath, 1980; Marangos *et al.*, 1986; Wallace & Heggberget, 1988; Rana, 1990; Legendre & Teugels, 1991; Small & Bates, 2001).

A avaliação da qualidade dos ovos durante os estádios iniciais do desenvolvimento embrionário é um critério útil para determinar o potencial de juvenis de pargo (Radonic *et al.*, 2005). Segundo estes autores, o conhecimento das etapas do normal desenvolvimento embrionário, a sequência das divisões celulares, forma e tamanho dos blastómeros, número e tamanho da gota lipídica, e tempo de formação dos órgãos, permitem detectar boas ou más posturas. As taxas de eclosão permitem seleccionar posturas de boa qualidade.

As primeiras fases de desenvolvimento embrionário do ovo até ao aparecimento do embrião são as mais sensíveis às alterações físicas e químicas do meio, como o maneo, baixa concentração de oxigénio dissolvido na água e agentes poluentes (Kjorvik *et al.*, 1990; Shields *et al.*, 1997; Hattori *et al.*, 2004).

5. Qualidade das posturas

O correcto maneo e a selecção dos reprodutores são os requisitos fundamentais para a obtenção de gâmetas viáveis de boa qualidade. A sua capacidade de fecundar varia a nível individual e com vários factores relacionados com os reprodutores como: alimentação, parâmetros físico-químicos, genética, idade e características específicas dos gâmetas (relação do seu envelhecimento com o tempo de duração no canal reprodutivo ou o tempo que decorre entre a desova e a fecundação) (Muir, 1988; Kjorsvik *et al.*, 1990 e Bromage, 1995). Existem ainda outros factores envolvidos na qualidade dos ovos, como a composição química e as dimensões físicas do ovo, além da qualidade do sémen (Kjorsvik *et al.*, 1990). A alimentação desempenha um papel crucial na determinação da fecundidade, do número e qualidade das posturas e, taxas de eclosão (Kentouri *et al.*, 1995).

A qualidade dos ovos é determinada pela taxa de sobrevivência durante a incubação, fase larvar e primeira alimentação. Esta é igualmente determinante para a capacidade de gerar uma descendência viável, que chegue ao estado adulto nas melhores condições para a sua comercialização (Kjorsvik *et al.*, 1990). Muitos investigadores utilizam os critérios da fecundidade, tamanho, forma, transparência, aspecto do córion, simetria celular, distribuição das gotas lipídicas, taxa de flutuabilidade (taxa de viabilidade), percentagem de fertilização e eclosão, sobrevivência larvar até ao tempo de reabsorção do saco vitelino e a comparação bioquímica de ovos e larva (Kjorsvik *et al.*, 1990; Bromage *et al.* 1994; Kjorsvik, 1994). Outros autores, consideram que o estado hormonal da fêmea durante a ovogénese, quantidade e qualidade de alimento dos reprodutores, parâmetros físico-químicos da água e “stress” causado pelo maneo dos reprodutores, condicionam a qualidade dos ovos (Campbell *et al.*, 1992; Bromage, 1995; Brooks *et al.*, 1997; Christiansen & Torrissen, 1997; Carrillo *et al.*, 2000).

Izquierdo *et al.*, (2001), encontraram maior quantidade de ácidos gordos totais n-3, nos quais se inclui ácido docosahexanoico (DHA) e ácido eicosapentanoico (EPA), em ovos de dourada que possuíam maior qualidade. Watanabe *et al.*, (1985) realizaram trabalhos experimentais com a dourada do Japão nos quais obtiveram piores resultados na taxa de ovos flutuantes (viabilidade), na taxa de eclosão e na produção

final de ovos quando alimentados com dietas com baixo nível de EPA. Para o caso do robalo, Cerda *et al.*, (1995), observaram que existe uma relação evidente entre a composição de lípidos na dieta e os resultados das posturas, uma vez que os reprodutores que ingeriram dietas com baixo teor de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) tipo n-3, apresentavam uma drástica redução da fecundidade e da viabilidade dos ovos, comparativamente aos lotes que tinham dietas mais equilibradas.

Relativamente à vitamina C, Sandres *et al.*, (1984), Dabrowski & Blom, 1994 e Izquierdo *et al.*, (2001), demonstraram ser um nutriente essencial, cuja sua deficiência na dieta, resulta em maiores mortalidades dos ovos, comparativamente às fêmeas alimentadas com dietas enriquecidas com vitamina C. Segundo Sandres *et al.*, (1991), a carência desta vitamina reduz a concentração e mobilidade de espermatozóides durante e depois da desova. A vitamina E juntamente com a vitamina C promovem uma acção protectora importante para as células germinais desde a espermatogénese até à fertilização, reduzindo o risco de peroxidação dos lípidos, o qual é prejudicial à mobilidade do espermatozóide (Ciereszco & Dabrowski, 1995). Estudos relativos à importância da vitamina E em reprodutores de *Pagrus major*, levaram a concluir que a sua introdução (200 mg/Kg) na dieta destes reprodutores melhoram a percentagem de ovos flutuantes (taxa de viabilidade), a taxa de eclosão e a percentagem de larvas normais (Watanabe *et al.*, 1991).

Na qualidade dos ovos estão envolvidos vários parâmetros, nomeadamente os físico-químicos (temperatura, fotoperíodo, qualidade da água, renovação da água) e os biológicos (tamanho e idade). Por outro lado, é também influenciado pela estratégia alimentar dos reprodutores, manejo e profilaxia, densidade do “stock”, proporção entre sexos, tipo de indução de posturas (na qual a mais eficaz são as posturas naturais), tipo e tamanho de tanques, tecnologia e metodologia aplicadas para recolha dos ovos, bem como a metodologia aplicadas para incubação dos mesmos (Campbell *et al.*, 1992; Bromage, 1995; Brooks *et al.*, 1997; Christiansen & Torrissen, 1997; Carrillo *et al.*, 2000). Deste modo é importante avaliar a qualidade das posturas de forma a eliminar o mais cedo possível produções de juvenis de baixa qualidade e reduzido número. Para tal, a avaliação da qualidade dos ovos pode ser realizada através da relação entre os ovos totais e os ovos viáveis produzidos diariamente (taxa de viabilidade). Outra forma mais objectiva, consiste na determinação da taxa de eclosão aparente, que relaciona o número de ovos viáveis com o total de larvas eclodidas, ou a partir das taxas de sobrevivência observadas nos primeiros dias de vida. Uma boa taxa de eclosão deixa antever uma produção de juvenis de elevada qualidade e quantidade. Outro parâmetro para avaliação da qualidade dos ovos é expresso pela taxa de eclosão, que é definida pelo número de ovos fertilizados a incubar pelo

número de larvas vivas eclodidas (24 horas depois do início da eclosão à temperatura de eclosão segundo Radonic *et al.*, (2005). Mylonas *et al.*, (2004), definiram que a uma taxa de eclosão com um sucesso de 80% corresponde uma sobrevivência larvar de 60% com 1 dia após eclosão. Com esta informação é possível tomar decisões no sentido de dar continuidade ou não, à incubação de ovos de determinado lote de reprodutores e produção larvar, poupando assim tempo, custo e esforço investidos na maternidade. Mylonas *et al.*, (2004), observaram uma correlação entre a taxa de eclosão e a taxa de sobrevivência, permite avaliar a qualidade das posturas e consequente aplicação para a produção de juvenis, com um intervalo de resposta de um dia, evitando assim grandes custos na maternidade com uma produção de larvas de má qualidade. Sakai *et al.*, (1985), consideram que a observação da simetria das células em fase de blástula, é um bom indicador para a eclosão e desenvolvimento larvar normal. Para Radonic *et al.*, (2005), a morfologia do blastómero é uma ferramenta útil para a rotina de verificação dos ovos de peixe nas maternidades, pois está demonstrado que a assimetria dos blastómeros reduz a viabilidade dos ovos. A qualidade da produção de juvenis de rodovalho (*Scophthalmus maximus*) é afectada pela qualidade inicial dos seus ovos. Deste modo os juvenis que provêm de posturas de ovos com altas taxas de anomalias nos blastómeros (assimetria), afectam o sucesso da realização da metamorfose e o desenvolvimento de um padrão normal de pigmentação (Kjórsvik *et al.*, 2003). A divisão celular simétrica no início da fase de blástula é considerada um forte indicador da previsão de uma boa eclosão e normal desenvolvimento larvar do bacalhau (*Gadus morhua*) (Kjórsvik *et al.*, 2003), rodovalho (Shields *et al.*, 1997) e outras espécies marinhas (Kjórsvik *et al.*, 1990). Também Kjorsvik *et al.*, (2003); Bromage *et al.*, (1997), referem que a simetria dos blastómeros iniciais, transparência e distribuição das gotas lipídicas, tamanho do espaço perivitelino e alterações do diâmetro do ovos depois da fertilização são bons indicadores morfológicos para a qualidade dos ovos. As alterações morfológicas das primeiras células indiferenciadas do embrião afectam a viabilidade e desenvolvimento do mesmo (Cuevas, 2003). Este autor defende que a qualidade dos ovos pode ser avaliada pelo número e distribuição de gotas lipídicas. Para o caso da dourada do Japão (*P. Major*), os ovos de cultivo normais possuem um diâmetro entre 660 a 1030 μm , contendo uma única gota lipídica com um diâmetro de 250 μm (Fukuhara, 1985) e nos ovos com mais de uma gota lipídica o seu desenvolvimento posterior é anormal (Watanabe & Kiron, 1995). Outros métodos de determinação de posturas de boa qualidade poderão basear-se nos estudos de parâmetros bioquímicos. Carrillo & Zanuy, (1995) e Brooks *et al.* (1997), referem que a qualidade do ovo e a sobrevivência embrionária dos peixes teleósteos é afectada com a composição em

PUFA em particular os n3 nos quais se inclui o DHA e o EPA, as vitaminas, sobretudo C e E, os carotenoides (astaxantina) e minerais. O incremento do nível de ácidos gordos da cadeia n3 PUFA (em particular DHA) na dieta dos reprodutores de dourada, aumenta a percentagem de ovos morfológicamente normais. Assim, como aumenta a incorporação de ácidos gordos nos ovos, melhora significativamente a percentagem da sobrevivência das larvas depois da reabsorção do saco vitelino (Férrnandez-Palacios *et al.*, 1995; Tandler *et al.*, 1995). No entanto, o excesso destes ácidos gordos podem levar à hipertrofia do saco vitelino na larva e a uma diminuição da sobrevivência larvar (Férrnandez-Palacios *et al.*, 1995). Os ácidos gordos essenciais são importantes no normal desenvolvimento dos ovos e embriões. A sua deficiente incorporação nas dietas dos reprodutores promove o aumento do número de gotas lipídicas nos ovos de dourada, (Férrnandez-Palacios *et al.*, 1995) e da dourada do Japão (Watanabe *et al.*, 1984).

Lahnsteiner & Paternello, (2004) correlacionaram a taxa de sobrevivência do embrião com alguns parâmetros bioquímicos usando-os como indicadores de qualidade das posturas. Os autores determinaram um modelo de regressão com as enzimas ácido fosfatase, adenilato quinase e ácido sialico, considerando os parâmetros bioquímicos recomendados para a determinação da qualidade dos ovos de dourada. Estes autores aplicaram esta metodologia ao sargo bicudo (*Puntazzo puntazzo*) para avaliação da qualidade dos seu ovos. Os métodos utilizados recorreram à actividade enzimática da enzima ácido fosfatase, adenilato kinase, a glucose-6-phosfatase, a transaldolase e, ainda a avaliação dos níveis de aminoácidos, monossacaridos e ácido sialico. Estas técnicas poderão vir a ser adaptadas e aplicadas ao pargo.

Segundo Salze *et al.*, (2005), Pavlov *et al.*, (2004) e Sargent *et al.*, (1997), os lípidos e os ácidos gordos essenciais, em particular os ácidos gordos polinsaturados, 20:5 n-3 (ácido eicosapentaenoico – EPA), 22:6n-3 (ácido docasahexoico – DHA) e o 20:4 n-6 (ácido araquidónico – AA) são determinantes para a reprodução em peixes marinhos afectando directamente a fecundidade, qualidade dos ovos, taxas de eclosão, malformações ao nível larvar e de pigmentação. Em determinadas espécies de peixes as dietas optimizadas são cruciais para a gestão do lote reprodutor e, para a obtenção de ovos e larvas de boa qualidade (Ashton, Farkvam & March, 1993; Czesny & Dabrowski, 1998; Gallagher *et al.*, 1998; Sargent *et al.*, 2002). Assim, baixas taxas de viabilidade e baixa qualidade de ovos e larvas estão directamente relacionadas com a composição da dieta dos reprodutores (Pavlov *et al.*, 2004).

Os tecidos nervosos são ricos em DHA, como é o caso do cérebro e dos olhos, além de ser também um constituinte importante para os ovos e larvas de peixes pelágicos, que possuem elevada percentagem de tecido nervoso relativamente à sua massa

corporal (Sargent *et al.*, 1997). Classes de lípidos específicas e ácidos gordos, influenciam o desenvolvimento dos ovos e das larvas, daí a importância de uma dieta equilibrada em lípidos para o pleno desenvolvimento embrionário (Salze *et al.*, 2005). Watanabe *et al.*, (1984), provaram que as fêmeas do lote de reprodutores quando submetidas a uma dieta deficiente em ácidos gordos essenciais produziram ovos com duas gotas lipídicas pequenas e baixa capacidade de eclosão, verificando-se ainda malformações nas larvas que conseguiram eclodir. Muir, (1988); Kjorsvik *et al.* (1990) e Bromage (1995), referem-se igualmente à importância da nutrição, pois esta pode afectar o tamanho e peso na composição do ovo. As restrições alimentares geralmente reduzem a fecundidade total e podem inibir a maturação das gónadas, assim como diminuir a proporção de animais maduros (Kjorsvik, *et al.*, 1990). O aumento da alimentação aumenta o número total de ovos, no entanto não influencia no seu tamanho, sendo de concluir que a qualidade e quantidade do alimento são factores importantes na viabilidade do ovo (Cuevas, 2003).

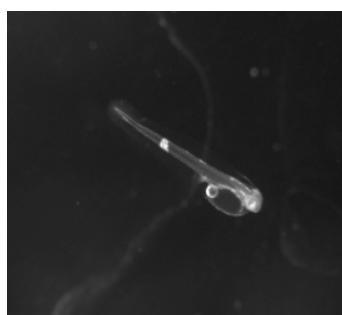
A temperatura, a salinidade e o fotoperíodo são os factores ambientais (físicos) que mais influenciam a viabilidade do ovo (Cuevas, 2003).

Buckley *et al.*, (2000), referem que existe uma relação inversa entre o diâmetro do ovo e a temperatura nas espécies de bacalhau (*Gadus morhua* e *Melanogrammus aeglefinus*), que se traduz em ovos com diâmetro superior durante a primeira metade do período de posturas e coincidindo essa primeira parte com temperaturas mais frias, e temperaturas mais elevadas na segunda fase das posturas.

6. Desenvolvimento Larvar

Sargent *et al.*, (1997) caracterizam as larvas de pargo como organismos de tamanho pequeno e apresentando um estágio de desenvolvimento pouco desenvolvido na eclosão, o que as torna muito vulneráveis para a sua criação em cativeiro e exigindo presas vivas nesse período. Machinandiarema *et al.*, (2003) e Buke *et al.*, (2005), observaram a abertura da boca entre o 3º e 4º DAE, correspondendo ao comprimento de 2,6-2,8 mm, à temperatura de 18°C e simultaneamente a completa pigmentação dos olhos e fase final reabsorção do saco vitelino. Buke *et al.*, (2005), observaram o início da alimentação de algumas larvas ao 4º DAE a 18°C, correspondendo à total reabsorção do saco vitelino, abertura da boca e ânus. Ao 5º DAE verifica-se a formação da mandíbula superior e inferior e total absorção da gota lipídica aos 18°C. A insuflação inicial da bexiga-natatória nas espécies de Sparídeos tem início ao 5º-7º

DAE (Ozden *et al.*, 2005). Na figura 4 é possível observar o desenvolvimento larvar do 1º ao 5º dia após eclosão (DAE).



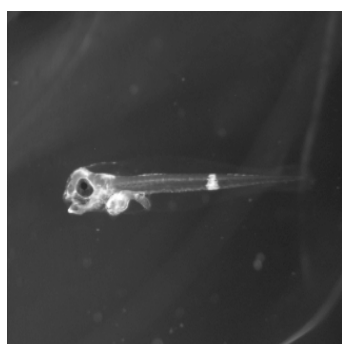
a) 1º DAE (ampl.1x)



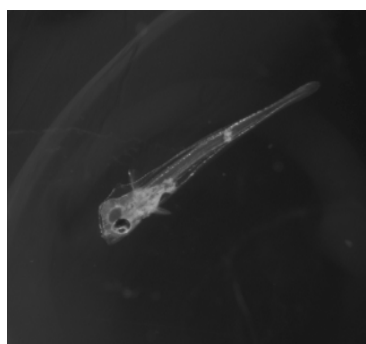
b) 2º DAE (ampl.1,6x)



c) 2º DAE (ampl.1,2 x cor)



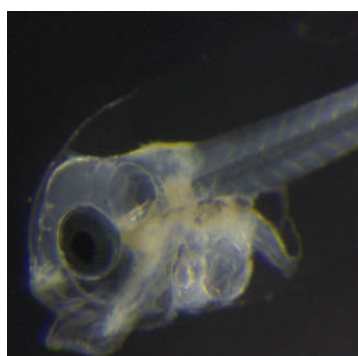
d) 3º DAE (ampl.1,2 x)



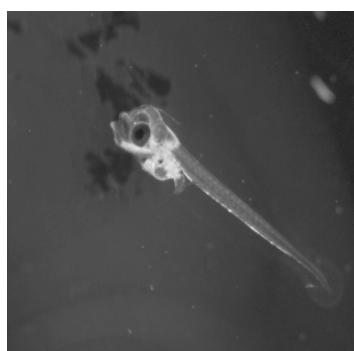
e) 3º DAE ampl.1,2 x



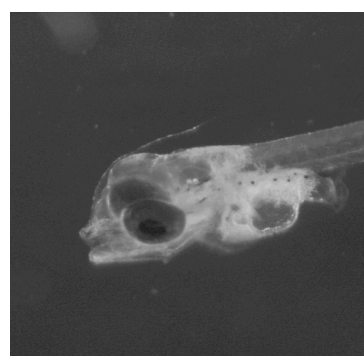
f) 4º DAE (ampl. 4x)



g) 4º DAE (ampl. 4x)



h) 5 DAE (ampl.1,2x)



i) 5 DAE (ampl.3,2x)

Figura 4 – Desenvolvimento larvar do pargo do 1º ao 5º dia após eclosão: a) larva com 1 DAE; b) larva ao 2 DAE. Observa-se em primeiro lugar uma diminuição gradual do saco vitelino em comparação à gota lipídica; c) larva ao 3º DAE, aspecto da larva a cores; d) Larva ao 3º DAE, onde já se observa a abertura da boca e o tubo digestivo formado; e) vista superior da larva ao 3º DAE, onde se observam as barbatanas peitorais e olhos bem formados; f) Larva ao 4º DAE, onde se observa os diversos órgãos do tubo digestivo; g) Larva ao 4º DAE onde se pode observar uns discos ósseos que dispostos lateralmente na cabeça que irão dar origem aos

opérculos. É possível observar a disposição dos músculos ao longo da coluna do peixe, h) e i) Larva ao 5º DAE em duas ampliações, à procura de presas vivas. Fotos Viriato Timóteo.

A insuflação da bexiga-natatória tem início ao 6º-9º DAE, verificando-se o aumento da taxa de larvas com a bexiga insuflada à medida que a gota lipídica é reabsorvida (Buke *et al.*, 2005; Mihelakakis *et al.*, 2001) enquanto que Machinandiarena *et al.*, (2003) referem que a insuflação prolonga-se até ao 12º DAE. Stephanou *et al.*, (1995), observaram que no 10º DAE 75% das larvas já tinham dado início à insuflação da bexiga-natatória.

À medida que as larvas crescem, a pigmentação aumenta e os xantóferos vão desaparecendo (Machinandierena *et al.*, 2003).

As larvas de pargo são normalmente alimentadas a partir do 4º DAE (mantidas entre 16 a 17°C), (correspondendo à reabsorção do saco vitelino e abertura da boca) com rotíferos até ao 26º DAE sendo a sua dieta gradualmente substituída por náuplios de artémia a partir do 20º-22º DAE, procedendo-se nesse período à redução gradual (Stephanou *et al.* 1995, Mihelakakis *et al.* 2001), enquanto o “desmame” tem início antes do 30º DAE (Mihelakakis *et al.* 2001). A qualidade e quantidade do alimento vivo e inerte são muito importantes no crescimento e sobrevivência larvar durante o “desmame” (Bromley & Howel, 1983; Person le Ruyet *et al.*, 1993).

Aristizabal & Suárez, (2006) a partir do dia 20 (DAE) utilizaram artémia (com administração duas vezes ao dia) à concentração de 1 nauplio/ml aumentando gradualmente até 10 náuplios/ml. Sephanou *et al.*, (1995), encontraram no estômago das larvas cheio de rotíferos em cerca de 50% das larvas observadas. As larvas de pargo desenvolveram-se de forma rápida e com uma grande variação de tamanhos. Estas adaptaram-se facilmente às alterações graduais de alimento, mas são no entanto muito frágeis e sensíveis ao stress provocado pelas perturbações causadas pela água, iluminação e má administração de alimento. Buke *et al.*, (2005), utilizaram uma estratégia para o cultivo do pargo nos primeiros estádios de vida, reduzindo a intensidade luminosa para 50 a 100 lux aos 25 a 30 dias (DAE) uma vez que a intensidade luminosa alta, conduz a elevadas mortalidades. Os mesmos autores, observaram de forma clara a curvatura da notocorda no 20º DAE. Outros autores defendem que a temperatura é o principal parâmetro para a metamorfose larvar (Laurance, 1995; Policansky, 1982; Chambers and Legged, 1992). O excesso de disponibilidade de alimentos como os rotíferos, provoca uma ingestão excessiva dos mesmos deixando o estômago e intestino das larvas distendido originando mortalidade que está associada a lesões provocadas pelos exo-esqueletos dos rotíferos seguido por infecções bacterianas (Stephanou *et al.*, 1995). Estes autores, encontraram

novamente mortalidades elevadas aos dias 35^o a 40^o DAE correspondendo ao desmame, e foram ainda encontrados nos estômagos e intestinos distendidos exoesqueletos de copépodes. Machinandiarena *et al.*, (2003) observaram o início da fase de transformação larvar ao 40^o DAE, correspondendo a um comprimento de 9mm. No final da fase larvar os espinhos operculares e préopercular desaparecem e é possível quantificar 22-23 vértebras. A espinha occipital desaparece no início da fase juvenil.

Aristizabal & Suárez, (2006) tendo em consideração estudos anteriores de diversos autores nos quais registaram elevadas mortalidades na produção intensiva de pargo em fases larvares (Conides & Glamuzina, 2001; Hernandez-cruz *et al.*, 1999) procederam a trabalhos experimentais para minimizar esse problema ao antecipar o desmame promovendo um bom desenvolvimento osteo-cartilaginoso da boca da larva de pargo pelo 20^o DAE (Aristizabal, 2003) assim como a estimulação da presença de enzimas digestivas da espécie, tal como realizado com *Pagrus major* (Kanazawa *et al.*, 1989) e a dourada (Kolkovski, 2001) nos estádios iniciais de desenvolvimento.

As primeiras tentativas para a produção do pargo em aquacultura em maternidades do Mediterrâneo, revelaram-se problemáticas nos primeiros estádios larvares registando-se elevadas mortalidades nesta fase, e ao nível da coloração da pele do pargo (Conides & Glamuzina, 2001).

As estratégias alimentares têm início após a absorção do saco vitelino e abertura da boca, ou seja a partir do quarto dia as larvas são alimentadas com rotíferos, prolongando-se até ao 26^o DAE. No método de criação larvar em água verde foram obtidos os melhores resultados (Stephanou *et al.*, 1995 e Machinandiarena, *et al.*, 2003; Buke *et al.*, 2005) com a estratégia de iluminação 16 horas luz e 8 horas escuridão, diminuindo para as 14 horas luz e 10 horas escuridão a partir do 25^o DAE, a uma intensidade luminosa entre os 300 e 500 lux (entre 4^o-25^o DAE), diminuindo para 70 a 100 lux a partir do 25^o DAE (Buke *et al.*, 2005). Estes autores, iniciaram a alimentação das larvas de pargo com rotíferos (*Brachionus rotundiformis*) duas vezes ao dia no método águas verdes a uma concentração de 7 a 10 rot/ml do 4^o-13^o DAE. A partir do 14^o até 35^o DAE, forneceu *B. plicatilis* à mesma densidade.

A administração de náuplios de artémia (Tipo - AF) surge a partir do 22^o até dia 27^o DAE. Ao 28^o DAE são fornecidos náuplios de artémia (EG) enriquecida com HUFA (Stephanou *et al.*, 1995 e Machinandiarena, *et al.*, 2003). O alimento inerte é distribuído após o dia 33^o DAE (Stephanou *et al.*, 1995 e Machinandiarena, *et al.*, 2003; Buke *et al.*, 2005). Buke *et al.*, (2005), forneceram inicialmente (a partir do 33^o DAE) alimento artificial microparticulado com 80-100 µm a uma taxa de 1-3g/m³/dia. O desmame completa-se a partir do 45^o DAE. Estes autores, iniciam o fornecimento de

artémia a partir do dia 22^o até 35^o DAE, artémia “instar I” a uma taxa de 0,5-4 milhões de nauplius/m³/dia. A partir do 32^o DAE é fornecido artémia “instar II” enriquecida com um produto comercial (DHA Selco) à taxa de 2-15 milhões de náuplius de artémia/m³/dia.

Conides & Glamuzina, (2001), estudaram o crescimento e desenvolvimento larvar do pargo, tendo aprofundado o estudo sobre as causas da elevada mortalidade nesta etapa de vida da espécie quando produzida em cativeiro. Conides & Glamuzina, (2001), descreveram três fases para o desenvolvimento larvar do pargo à temperatura de 18°C: a) uma fase inicial caracterizada por não ter mobilidade, (0-24 horas – tempo após eclosão; TAE); b) uma fase caracterizada pelo movimento activo e exploração das reservas internas de alimento (24 a 96 horas TAE (1^o-4^o DAE)) e c) uma fase caracterizada pela transição de alimentação endógena para exógena (96 a 168 horas, TAE(4^o-7^o DAE)). Estes autores observaram que não existe sobreposição entre a fase b e c, e no entanto verifica-se uma lacuna entre as 24 e 26 horas de TAE na qual as larvas esgotaram as reservas internas de alimento provenientes da gota lipídica e saco vitelino, altura em que o tubo digestivo ainda não está pronto para digerir alimento externo (rotíferos). Conides & Glamuzina, (2001), observaram uma mortalidade massiva de larvas (85%) entre os 3^o e 7^o DAE. Estes autores, descreveram o desenvolvimento larvar até às 192 horas após eclosão (correspondendo a 8 DAE) a 18°C, dados muito similares aos encontrados na dourada. A larva recém eclodida tem um comprimento total médio de 3,02 mm, o seu corpo apresenta uma curvatura na região da cabeça, olhos sem pigmentação e a boca é indiferenciada. O tubo digestivo é um tubo fino sobre o saco vitelino, estando ainda o ânus fechado.

Durante as primeiras 24 horas a larva não se move. É possível observar a barbatana primordial. Observando a larva ao microscópio tendo como fundo escuro é possível verificar células estreladas de xantóforos na barbatana primordial no zona dorsal e um cinto de xantóforos entre os miómeros 22 e 24. Ainda é possível visualizar 2 a 3 células cromatóforos no saco vitelino e gota lipídica e ainda espalhadas na zona lateral do corpo.

Durante as 12 primeiras horas após eclosão (TAE), a larva possui as mesmas características morfológicas que as apresentadas após a eclosão pese embora o seu comprimento médio seja 3,13 mm.

Às 24 horas (TAE) a larva tem 3,20 mm. Os otólitos são visíveis na zona da cabeça. O coração é visível e tem um batimento de 80 batidas por segundo. A pigmentação padrão mantém-se. A cabeça está separada do saco vitelino e o corpo é alongado. Com 48 horas (TAE), o comprimento total médio da larva é 3,30 mm. A circulação do sangue ainda não é visível embora o coração tenha um aumento da frequência

cardíaca para 170 batimentos por minuto. As lentes dos olhos já são visíveis embora sem pigmentação. Início do processo de enrolamento do tubo digestivo. A barbatana primordial ainda não está dividida.

Às 72 horas, a larva tem um comprimento total de 3,56 mm. Nesta etapa os olhos estão pigmentados e movem-se. A boca abre-se e a mandíbula move-se. Verificam-se convulsões digestivas e o coração mantém batimentos cardíacos à frequência de 163/min. Nesta etapa desaparece o anel de células de xantóforos localizadas entre os miómeros 20 e 25. A barbatana primordial mantém-se inteira e aparecem as primeiras barbatanas peitorais funcionais.

Às 96 horas (TAE), a larva tem 3,65 mm de comprimento médio. A borda da barbatana primordial é serrada. A circulação sanguínea é visível, os cromatóforos são reduzidos e desaparecem as células xantóforas. Apenas resta uma pequena porção da gota lipídica.

Às 120 horas (5 dias DAE), o comprimento médio da larva é 3,8 mm. Nesta fase a boca e o tubo digestivo são funcionais, observando-se pela primeira vez partículas de alimento no interior do tubo digestivo. Regista-se o aumento da frequência cardíaca para 208/min. Os órgãos e a circulação sanguínea densa são visíveis. O saco vitelino e a gota lipídica desaparecem. A borda da barbatana primordial prevalece serrada, apresentando apenas uma pequena reentrância na zona posterior da cabeça.

Às 144 horas (6 dias DAE), a larva possui 4,0 mm. Aparece o esboço dos raios da barbatana caudal. O órgão olfativo é visível na larva. As células cromatóforas desaparecem do corpo da larva, mantendo-se apenas espalhadas ao longo do tubo digestivo.

Às 192 h (8 dias DAE), o comprimento total da larva é 4,05 mm. O tubo digestivo está completo e plenamente funcional e cheio de comida. São visíveis as artérias laterais ao longo da larva. O corpo é formado por 25 a 26 miómeros. A frequência cardíaca mantém-se alta, a 184/min.

Conides & Glamuzina, (2001) observaram que a absorção do saco vitelino tem início logo após eclosão, enquanto que a gota lipídica começa a ser consumida quando o saco vitelino está quase absorvido. Estes autores, determinaram as equações que descrevem a absorção do saco vitelino e gota lipídica. Observaram ainda que as larvas consomem activamente rotíferos às 120 horas (5º DAE) e que no entanto existe um intervalo de 24 horas no qual não existem reservas de alimento (endógena e exógena) disponíveis.

O padrão de crescimento da larva de pargo é caracterizado inicialmente por uma de crescimento larvar rápido durante as primeiras horas, correspondendo ao rápido decréscimo do volume do saco vitelino. Roo *et al.*, (1999), referem que o facto da

larva de pargo possuir um saco vitelino pequeno exige que a larva inicie a sua alimentação o mais cedo possível após a eclosão. Após a fase de crescimento larvar rápido, característica das espécies pelágicas marinhas (Kohno *et al.*, 1986) segue-se um período de crescimento lento que corresponde à exaustão das reservas internas (Conides & Glamuzina, 2001). Klaoudatos *et al.*, (1990) argumentam que a redução do crescimento com alinhamento da cabeça. Para além desse desenvolvimento, o crescimento é também condicionado neste período, por alterações do sistema metabólico e transição entre a diferenciação interna e morfogénese externa (Conides & Glamuzina, 2001). Para estes autores, o abrandamento do crescimento larvar está ainda associado às mortalidades elevadas, abertura da boca, e à primeira alimentação exógena (120 horas TAE).

Conides & Glamuzina, (2001), registaram dois pontos de mortalidade larvar mais evidentes. O primeiro ocorre entre as 24 horas após eclosão (TAE) e as 72 horas (TAE), seguindo-se um período de mortalidade reduzida entre as 72 e as 120 horas (TAE) e posteriormente um período de mortalidade elevada. Este último período, corresponde à fase de desenvolvimento larvar onde as reservas internas estão exaustas (saco vitelino e gota lipídica) até que surja o primeiro alimento no tubo digestivo (às 120 horas ou 5 dias DAE). Entre as 24 e as 120 horas (TAE) cerca de 85% da população larvar morreu. Passado este período crítico (120 horas ou 5 dias DAE a 18°C), as larvas sobreviventes apresentam-se com apetite e o seu tubo digestivo está cheio de rotíferos. A sobrevivência final das larvas, obtida ao fim de 8 dias de vida foi de $6,65 \pm 0,63\%$. Estes resultados não estão de acordo com Kolios *et al.*, (1997), que apenas registaram o primeiro pico de mortalidade aos 9º e 10º DAE (216 - 288 horas TAE), considerando que a causa da mesma está relacionada com a falta de adaptação ao alimento ou digestão dos rotíferos. No entanto, estes autores registaram o consumo de rotíferos pelas larvas de pargo a partir do 3º DAE. Conides & Glamuzina, (2001), concluíram que as explicações de Kolios *et al.*, (1997), não têm fundamento uma vez que as larvas não podem sobreviver 6 a 9 dias após a eclosão sem terem de recorrer à alimentação externa. Conides & Glamuzina, 2001, consideram que as causas de elevada mortalidade estão relacionadas com parâmetros físicos e biológicos. Estes autores, observaram que a boca do pargo é muito pequena, comparativamente a outras espécies como o robalo (*D. Labrax*) e a dourada (*S. Aurata*), o que coloca em causa os actuais métodos de criação larvar. Os rotíferos utilizados na produção larvar de dourada e robalo, tipo S e L não são consumidos pela larva de pargo ao 5º DAE porque a sua boca é demasiado pequena para aquele alimento, sugerindo a utilização de copépodes na dieta da larva de pargo. Conides & Glamuzina, (2001), rejeitam ainda a possibilidade dos picos de mortalidade

larvar estarem relacionados com a variação térmica entre o dia e a noite, a qual podem submeter as larvas a situações de stress, atendendo que no decorrer da sua experiência a temperatura da água dos tanques foi mantida constante.

Kentouri *et al.* (1995), encontraram também dois pontos críticos de mortalidade, registando o primeiro com cerca de 80% de mortalidade quando a larva atinge o comprimento de 4,5 a 5 mm correspondendo à mudança de dieta de rotíferos para artémia (adicionado ao stress mecânico causado pelo “skimmers”), seguindo-se o segundo pico aos 8-9mm de comprimento correspondendo à fase de metamorfose, onde se verifica a super-insuflação da bexiga natatória. O crescimento da larva de pargo é inferior, quando comparado com as taxas registadas noutras espécies como o robalo, atingindo 5,63 mm às 144 horas e a dourada, que atinge os 5 mm às 12 horas (TAE) (Klaudatos & Apostolopoulos, 1986; Klaudatos *et al.*, 1990). O rápido consumo das reservas internas das larvas de pargo e o lento desenvolvimento dos órgãos internos, promovem uma lacuna de fornecimento de energia de 24 a 36 horas de tempo, entre a exaustão das reservas internas e a capacidade da larva consumir e utilizar o alimento externo, nomeadamente os rotíferos (Conides & Glamuzina, 2001). Este acontecimento é explicado pelo intervalo de tempo encontrado entre o fim das reservas da gota lipídica e o aparecimento de alimento no tubo digestivo. Esta característica nunca foi encontrada noutras espécies, especialmente nas que são utilizadas na aquacultura (Klaoudatos *et al.*, 1990). A situação encontrada tem sido apresentada de forma contrária, existe um período de adaptação à comida externa de 24 a 48 horas antes de se verificar a exaustão do saco vitelino enquanto que a gota lipídica mantém-se intacta como é o caso do robalo (Klaoudatos *et al.* 1990) e sargo (*D. Vulgaris*) (Jug-Dujakovic & Glamuzina, 1998).

O crescimento larvar é rápido, contudo estas são muito sensíveis a situações de stress, nutrição e deficiente maneio. Aos 3 meses de idade os peixes possuem 2,3 g de peso e 4,8 cm de comprimento (Stephanou *et al.*, 1995).

Aristizábal & Suárez, (2006), registaram um comprimento médio das larvas recém eclodidas de $2,32 \pm 0,12$ mm incubadas durante 48 horas, a $19,5 \pm 0,5$ °C e com uma taxa de eclosão 88%. Estes autores observaram a abertura da boca e anus ao 3º dia após eclosão (DAE), iniciando a sua alimentação ao 4º dia (DAE) após a absorção do saco vitelino. A flexão da cauda tem início ao dia 16 (DAE). Ao 20º DAE, todos os indivíduos possuem bexiga-natatória funcional. Durante os seus estudos, estes autores não detectaram lordose até ao dia 50 (DAE).

Fernandez-Palácios *et al.*, (1995), obtiveram taxas de eclosão e de sobrevivência larvar altas, indicando uma boa qualidade de ovos obtida a partir de "stocks" de reprodutores em cativeiro. Para valores altos obtidos a partir da relação dos ácidos

gordos polinsaturados DHA/EPA, são indicadores de larvas com melhores taxas de sobrevivência e taxa de crescimento larvar (Hernandez-Cruz, *et al.*, 1999). O 22:6n-3 (DHA – ácido docosaexaico) é conhecido como possuidor de maior eficiência no crescimento larvar como ácido gordo essencial do que em relação ao 20:5n-3 (EPA – ácido eicosapentaeoico) (Watanabe *et al.*, 1983).

A alimentação de rotíferos enriquecidos com alimentos ricos em DHA tem melhor crescimento, sugerindo a sua importância na incorporação nos primeiros dias de vida da larva de pargo (Hernandez-Cruz, *et al.*, 1999). Segundo vários autores demonstraram que o DHA é importante como um componente estrutural no desenvolvimento de órgãos e tecidos (Arnaiz *et al.*, 1993; Coe *et al.*, 1993), e deste modo influencia no crescimento e desenvolvimento larvar dos peixes marinhos (Watanabe *et al.*, 1989; Mourente & Tocher, 1992; Mourente *et al.*, 1993; Koven *et al.*, 1993; Izquierdo, 1999). Uma dieta inadequada em DHA pode vir a ter efeito negativo na capacidade visual do peixe reduzindo a sua habilidade para a captura de presas, influenciando assim a seu crescimento (Mourente & Tocher, 1992).

Kolios *et al.*, (1997) adoptaram um sistema de águas verdes alimentando as larvas ao 4º DAE, com rotíferos (*Brachionus rotundiformis*) produzidos com levedura e *Tetraselmis suecica* e enriquecidos durante 6 horas num meio com algas (75% *Nannochloropsis oculata* e 25% de *Isochrysis galbana*) à densidade aproximada de 1000 rot/ml a temperaturas entre os 20°C e os 22°C. O fotoperíodo utilizado entre o dia 4 e 23 (DAE) foi de 24 horas luz, depois do 23º DAE foi de 14 horas luz. Aristizábal & Suárez, (2006), testaram estratégias para alimentação larvar até ao desmame, encontrando as melhores taxas de sobrevivência e crescimento larvar na estratégia alimentar na qual posteriormente ao dia 20 (DAE) e depois da introdução dos rotíferos é aplicada em simultâneo artémia e alimento inerte. Stephanou *et al.*, (1995) e Mihelakakis *et al.*, (2001), iniciaram o “desmame” com ração inerte a partir do 32º DAE.

A metamorfose ou transformação da larva, que se caracteriza no maior crescimento da larva em altura e em proporção superior ao seu comprimento, assemelhando-se aos peixes juvenis da sua espécie, ocorre para alguns autores entre 23º-32º DAE (8,57-10,28 mm de comprimento total) (Mihelakakis *et al.*, 2001), entre 40º-51º DAE (9,5 – 13 mm) para Machinandiarena *et al.*, (2003) e entre 25º-45º DAE (10,5-15,3 mm de comprimento total) para Buke *et al.*, (2005).

Kentouri *et al.*, (1994), utilizaram os três passos tradicionais para a estratégia alimentar, iniciando a fase de “desmame” aos 26º DAE) com uma taxa de sobrevivência final de 6%. Para Aristizábal & Suárez, (2006), a habituação ao alimento inerte influencia claramente o crescimento e a sobrevivência do pargo em cativeiro. É

tradicionalmente assumido que um bom crescimento larvar se faça com alimento inerte, uma vez que as larvas têm uma baixa actividade enzimática (Lazo, 2000). Cahhu & Zambonino-Infante, (1997), explicam que a causa real do baixo crescimento está directamente relacionada com o deficiente equilíbrio nutricional das rações inertes. Além do facto das rações fornecerem os nutrientes necessários de forma digerível é igualmente importante que promovam a estimulação da ingestão (Davis & Dinis, 2002). Aristizábal & Suárez, (2006), obtiveram melhores resultados ao alimentarem as larvas com náuplios de artémia e ração inerte, utilizando os náuplios como estimuladores da ingestão para a ração inerte promovendo maior crescimento e sobrevivência larvar. Segundo estes autores a artémia é um bom veículo de incorporação de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) no seu corpo, no entanto são pobres noutros nutrientes como as proteínas. Machinandiarena *et al.*, (2003) mantiveram as larvas a uma densidade de 70 larvas/litro enquanto que Buke *et al.*, (2005), fizeram estudos de crescimento das larvas a uma densidade de 75 a 95 Larvas/litro. Os diferentes estudos para o crescimento larvar, obtiveram resultados semelhantes para o primeiro mês de vida a temperaturas de 20 a 22°C, relativamente ao seu comprimento total: 7-7,5 mm para o 20º DAE e 11-12 mm para o 30º DAE (Kentouri *et al.*, 1995; Roo *et al.*, 1999; Mihelakakis *et al.*, 2001). O comprimento médio total dos juvenis de pargo foi de 40 mm ao 50º DAE (Kentouri *et al.*, 1995) e 48 mm ao 90º DAE (Stephanou *et al.*, 2005). O peso médio registado foi de 2,98 mg ao 20º DAE (Papandroulakakis *et al.*, 2004; 1,4 g no 80º DAE (Kolios *et al.*, 1997) e 2,3 g ao 90º DAE (Stephanou *et al.*, 1995). Buke *et al.*, (2005), obtiveram valores superiores durante a fase larvar, no entanto os valores obtidos nos juvenis foram comparativamente inferiores. Machinandiarena *et al.*, (2003), observaram variação do comportamento larvar ao longo do seu desenvolvimento: no início as larvas têm pouca mobilidade própria, permanecendo numa posição oblíqua de cabeça para baixo na camada superficial da coluna de água; com o início da alimentação exógena aumenta a mobilidade da larva, movimentando-se na superfície e ao meio da coluna de água em busca de alimento; o aparecimento das barbatanas coincide com mudança da larva pelágica próxima ao fundo, adquirindo o seu comportamento/posicionamento demersal na fase juvenil.

Os juvenis numa fase inicial alimentam-se da comida artificial tanto à superfície como no fundo, movimentando-se activamente em toda a coluna de água. Buke *et al.*, (2005) e Conides *et al.*, (2000), obtiveram 40-25% de sobrevivência larvar ao 7º-10º DAE. Os resultados obtidos ao 20º DAE, quanto à sobrevivência larvar para os diferentes estudos no qual utilizaram a técnica de cultivo em águas verdes foi de 15% (Hernandez-Cruz, 1999); 40 % Pavlidis *et al.*, 2001) e 48% (Papandroulakakis *et al.*,

2004). Pavlidis *et al.*, (2001) registaram ainda uma taxa de sobrevivência de 50-60% ao 30º DAE utilizando um sistema de cultivo larvar semi-intensivo. Segundo Buke *et al.*, (2005), referem nos seus estudos que as razões para estas mortalidades prendem-se pelo facto das larvas morrerem à fome, estando esta situação relacionada com a falta de adaptação e digestão dos rotíferos. Segundo Papandroulakakis *et al.*, (2001), a quantidade e qualidade de alimento disponível entre o 7º e 10º DAE, é muito importante para a taxa de sobrevivência larvar. Ainda que exista quantidade e qualidade de alimento suficientemente disponível a larva necessita de alguns dias para adquirir e aprender o comportamento de captura das suas presas (Buke *et al.*, 2005). O “stress” mecânico causado pelos limpadores de superfície (“skimmers”) é também responsável pela morte nos primeiros dias de vida da larva. Pavlidis *et al.*, (2001), referem a importância das características comportamentais das larvas de pargo para com o alimento vivo e a qualidade nutricional da comida, na sobrevivência larvar. Determinados investigadores referem nos seus estudos problemas encontrados na transição de rotíferos para artémia, na qual o aumento no fornecimento de artémia em detrimento dos rotíferos causa problemas digestivos (Buke *et al.*, 2005; Stephanou *et al.*, 1995 e Kolios *et al.*, 1995). Buke *et al.*, (2005) entre o 22º e o 27º DAE, registaram cerca 10-15% de mortalidade, estando esta situação relacionada com o factor acima referido. Kolios *et al.*, (1997) referem ainda que o aumento da intensidade luminosa causado pelo fim do uso de algas no tanque é uma causa importante da elevada mortalidade nesse período. Stephanou *et al.*, (1995), referem-se ainda a elevadas mortalidades causadas por complicações digestivas causadas pela má adaptação ao alimento artificial. Buke *et al.*, (2005), registaram mortalidade elevada após o incremento de ração artificial a partir do 50º DAE. Estas perdas estão, segundo, Stephanou *et al.*, (1995), relacionadas com a inadequada formulação (digestibilidade e características nutricionais) das micropartículas e grânulos de ração para o pargo.

7. Juvenis

O período de adaptação ao alimento inerte dá-se aos 80 dias após eclosão a 18°C. Os juvenis pesam 1,4 gramas e a média da percentagem de sobrevivência é de 10% para esta idade (Kolios *et al.*, 1997). Os mesmos autores procederam à transferência de juvenis com 1,4 gramas para jaulas, onde cresceram até 360 ± 12 gramas em 19 meses, com uma taxa de conversão alimentar de 1,8:1 e 6% de mortalidade durante este período. No entanto depararam-se com um problema de coloração da pele dos juvenis, a qual apresentava uma cor escura quando comparado com pargos selvagens. Tsukuta, (1972) justificou a alteração da coloração do pargo devido a uma

dieta deficiente num carotenoide a astaxantina. Kalinowski *et al.*, (2005), observaram a mudança da cor rosa prateada dos pargos selvagens para um rosa acinzentado escuro quando submetidos ao cativeiro. Este factor reduz o seu valor económico devido à baixa aceitação dos consumidores. Os mesmos autores, testaram a pigmentação e crescimento do pargo a partir das 44 gramas com introdução de duas fontes de carotenoides (cantaxantina sintética e astaxantina proveniente do camarão) a diferentes concentrações. Os autores, verificaram que a inclusão de carotenoides na dieta não influenciou o crescimento. Apenas a astaxantina originária do camarão à concentração de 40 mg/kg de dieta, proporcionou uma cor mais avermelhada à pele dos peixes submetidos a essa dieta.

Machias *et al.*,(1998) demonstraram ainda que o pargo de cativeiro cresceu três vezes mais que o pargo selvagem em consequência de maior disponibilidade de alimento e temperaturas mais elevadas.

Maragoudaki *et al.*, (1999), compararam vários métodos de alimentação, concluindo que os peixes (com peso entre as 56 e 87 gramas) tendem a crescer melhor com a distribuição contínua de alimento seguindo-se a estratégia alimentar da dieta distribuída duas vezes ao dia. O lote cresce menos durante a noite pois come menos. Relativamente ao Verão o lote com tendência para o maior crescimento foi o submetido à estratégia de alimentação contínua com a densidade de peixes mais baixa (Maragoudaki *et al.*, 1999). Estes autores referem que os dados obtidos indicam que o pargo se adapta às restrições alimentares, mudando o seu comportamento de acordo com a disponibilidade de alimento. Estudos semelhantes foram relatados noutras espécies, como exemplo a truta arco íris (*Oncorhynchus mykiss.*), que prefere alimentar-se durante a luz do dia. No entanto, esta espécie tem a capacidade de alterar os seus hábitos alimentares tendo em conta o tempo de funcionamento dos alimentadores automáticos sem registarem perdas no crescimento (Boujard *et al.*, 1995). A restrição de alimento e a densidade em cativeiro, têm efeitos reduzidos no crescimento populacional do pargo, mas as condições de alimentação podem favorecer determinados tamanhos de acordo com a estação do ano (Maragoudaki *et al.*, 1999). No Inverno, os peixes maiores crescem melhor do que os outros perante condições restritas, enquanto que na Primavera os lotes criados a baixas densidades crescem significativamente melhor comparativamente a lotes criados a densidades elevadas (Maragoudaki *et al.*, 1999). No Inverno o factor que promove as diferenças de crescimento entre os diversos grupos de tamanho é a duração do tempo de alimentação, enquanto que na Primavera é a densidade que condiciona o crescimento (Maragoudaki *et al.*, 1999).

Segundo Pajuelo & Lorenzo, (1996), nas ilhas Canárias a espécie tem um crescimento rápido até ao quarto ano de vida, atingindo aproximadamente 50% do seu comprimento máximo. Após o quarto ano, a taxa de crescimento anual baixa rapidamente. Esta situação pode estar relacionada com o facto de todos os pargos atingirem a sua maturidade sexual ao a partir do 4º ano.

O índice de crescimento obtido para o pargo nas Canárias é semelhante à Carolina do Norte (Mannoch & Huntsman, 1977, Pajuelo & Lorenzo, 1996). Stephanou *et al.*, (1995), obtiveram pargos de 3 meses de idade com peso médio de 2,3 gramas e um comprimento médio de 4,8 cm, o que é muito representativo quando comparado com a dourada que necessita de 4 meses para atingir um peso médio de 2 gramas. Kentouri *et al.*, (1995), registaram o crescimento do pargo em cativeiro a temperaturas entre os 14 e os 27 °C, atingindo no primeiro ano 280 gramas e 550 gramas no segundo ano. O pargo tem uma taxa de crescimento mais alta no Inverno (taxa de conversão alimentar de índice 2), e diminui a sua taxa de crescimento a altas temperaturas (Kentouri *et al.*, 1995). O seu índice de conversão alimentar é 1,5 vezes superior ao da dourada para a mesma dieta, indicando que os requisitos nutricionais são diferentes dos da dourada pelo que é necessário identificá-los (Kentouri *et al.*, 1995). Os mesmos autores, obtiveram peixes de cultura com 20 mm em 40º DAE e os juvenis atingiram as 6 gramas aos 70º a 80º DAE a temperaturas de 17 a 20°C. A sobrevivência até à fase juvenil é referida por diversos autores de forma variada: 1-6% até ao 50º DAE para Kentouri *et al.*, (1995); 5-10% até ao 80º DAE para Kolios *et al.*, (1997); 12-19% até ao 60º DAE e 8-10% até ao 100º DAE para Buke *et al.*, (2005).

8. Patologias mais frequentes

A mortalidade no pargo é semelhante à registada na dourada, no entanto os picos de mortalidade são mais elevados durante o Verão. A mortalidade está geralmente associada com exoftalmia, temperaturas elevadas, e “stress” causado por maneiço continuado. Os olhos do pargo são muito sensíveis e a exoftalmia é um fenómeno comum. O canibalismo parece contribuir para a exoftalmia ou perda dos olhos, embora não esteja ainda identificada a origem deste tipo de doença (Kentouri *et al.*, 1995). Observaram ainda o aparecimento de uma doença de etologia desconhecida, que se manifestava apenas no Verão como pústulas, semelhantes a furúnculos causados por infecção bacteriana da pele. O aspecto desta patologia caracteriza-se por lesões em forma de V na cabeça, lesões estas por vezes visíveis nos opérculos. A doença não origina mortalidade e tem possibilidade de recuperação a não ser que surjam

infecções secundárias. Os *Mixosporidae* têm causado problemas sérios na família *Sparidae*, limitando e restringindo a introdução de novas espécies em aquacultura (Rigos *et al.*, 1999; Alvares-Palleteiro & Sitia-Bobadilla 1993 e Diamante *et al.*, 1994). O *Enteromyxum leei* é um parasita muito patogénico para o sargo, a ponto de ser equacionada a sua viabilidade para aquacultura (Athanasopoulou *et al.*, 1999). Este myxosporídio surgiu nos anos noventa causando grandes perdas no cultivo da dourada (Diamante *et al.* 1994). Estudos com diferentes espécies de *Myxidium*, infectantes para os sparídeos, nas quais se inclui o pargo, têm-se revelado como uma potencial ameaça (Rigos *et al.*, 1999; Diamante *et al.*, 1994; Le Breton & Marques, 1995). Os mixosporídeos do género *Kudoa* infectam inúmeras espécies de peixes marinhos (Moran, 1999), parasitando principalmente o músculo do peixe causando pseudocistos e uma textura mole do músculo, devido à produção de enzimas proteolíticas, tendo como consequência a desvalorização do valor nutricional e comercial do peixe (Paperna, 1982). Kolios *et al.*, (1997) observaram infecção de *Pasteurella piscida* em pargos de cultura com 30-40 gramas. Paraguassú *et al.*, (2002), ao fazerem um estudo parasitológico a exemplares selvagens provenientes da zona costeira Atlântica no Rio de Janeiro, Brasil, verificaram que todos os peixes examinados estavam parasitados, encontrando vinte espécies diferentes de parasitas. Os nematóides corresponderam a 59% do total de espécies de parasitas colhidos. *Contracaecum sp.* foi a espécie dominante, com os maiores índices de prevalência e abundância parasitária. A abundância e a prevalência do isópode *Cimothoídeo* apresentou correlação positiva com o comprimento total do hospedeiro, enquanto que a prevalência de *Parahemiurus merus* e *Polymorphus sp.* apresentaram correlação negativa. Paraguassú *et al.*, (2002), analisaram a existência de parasitas metazoários com uma dominância de estádios larvares de nematóides *Anisakis*. Esta predominância está relacionada com a sua dieta alimentar em meio selvagem bem como ao facto de ser bêntico. Estes autores, encontraram larvas de platelmintes e acantocéfalos, parasitas comuns em peixes teleósteos marinhos. Algumas espécies de parasitas aumentam em número e predominância com o tamanho do hospedeiro como é o caso dos ectoparasitas de monogenéticos e larvas de copépodes, (Fernando & Hanek, 1976). Paraguassú *et al.*, (2002) não encontraram qualquer correlação entre o sexo do hospedeiro e a prevalência e abundância da comunidade de parasitas de peixes marinhos, explicando a situação pelo facto de os ambos assumirem um comportamento, habitat e dieta comuns. Várias espécies de ectoparasitas são características dos *Sparidae*, como exemplares de *Diplectanidae*, *Microtilidae*, *Anoplodiscidae*, *Lernanthropidae* e *Caligidae*. Oliver, (1982), registou alta especificidade do género *Diplectanus* nos *Sparidae* do mediterrâneo.

9. Material e métodos

9.1 Origem dos lotes e densidade, caracterização da alimentação

Os dois lotes de reprodutores utilizados neste trabalho, foram capturados à linha com um peso médio de 100 gramas em 2000 e 2002 respectivamente. Durante cerca de um ano estes exemplares foram adaptados ao cativeiro e à alimentação inerte na Piscicultura Flutuante da Baía de Abra. Foram posteriormente transferidos no Verão de 2001 e 2003 respectivamente para uma maternidade, o Centro de Maricultura da Calheta, onde foram acondicionados em tanques de 10 m³, a uma taxa de renovação a 30% hora, à temperatura ambiente da água, com iluminação artificial que acompanhou o período de luz natural ao longo do ano (Figura 5). Este estudo foi realizado em 2005 com exemplares do Lote 6 com 6 anos e o lote 8 com 4 anos. Durante o ciclo anual da postura os lotes de reprodutores foram alimentados manualmente até a saciedade uma vez ao dia, com ração comercial extrudida para peixes reprodutores de dourada (Dourasoja da empresa Sorgal, S.A.) de 7mm de diâmetro com a seguinte composição: 50% de proteína bruta, 20% de gordura bruta, 9,5% de cinza, 0,5% de celulose e 1,5% de fósforo total. A alimentação foi complementada com cavala (*Scomber japonicus*) e pota (*Ommastrephes bartranmii*) com uma frequência de duas vezes por semana.

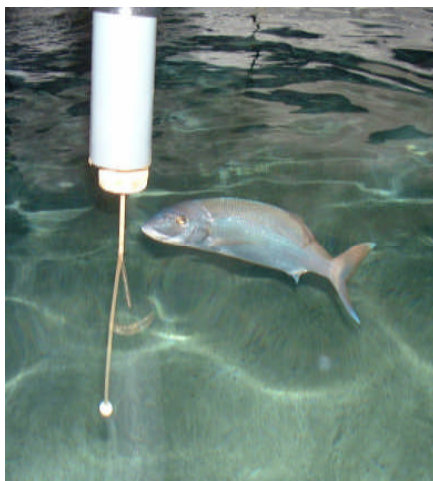


Figura 5: Reprodutor de Pargo (*P. pagrus*)

9.2 Amostragem dos reprodutores início e fim de postura

Nos dois lotes foram medidos o comprimento furcal e peso total no mês de Julho de 2004 e Junho de 2005 correspondendo ao início e final do ciclo de postura. Na amostragem foi utilizado o anestésico AQUI-S, sendo utilizada uma baixa concentração de anestésico no tanque para facilitar as capturas e reduzir o stress (7 a 10 ml/m³). Posteriormente foi utilizada uma concentração maior de forma a imobilizar completamente o peixe para a pesagem e medição de cada exemplar (15 a 20 ml/m³) (Figura 6).



Figura 6: Exemplar de pargo anestesiado para amostragem

9.3 Determinação dos sexos por lote

No final da postura foi determinado o sexo dos exemplares por compressão abdominal. Tendo em conta que os machos prolongam a produção de gâmetas por um período alargado, foram encontrados os machos, considerando assim os restantes reprodutores fêmeas.

9.4 Registo dos parâmetros: temperatura; fotoperíodo; oxigénio, pH; salinidade e turbidez.

Durante o ciclo anual de posturas foi registado diariamente a temperatura e a concentração de oxigénio dissolvido na água (com a sonda WTW Oxi 330i) , a turbidez (com um turbidímetro -T-10, OAKTON NTU- Unidades nefelométricas de turbidez). Foram medidas semanalmente a salinidade (com o refractómetro - ATAGO S-10E) e o pH (CRISON pHmeter GLP21). Ainda durante este ciclo foi gradualmente adaptada a luz artificial dos tanques período de luz natural com uma variação mensal de cerca

de 1 hora de luz. Reduziu-se uma hora entre Agosto e Outubro, e duas em Novembro e Dezembro. Posteriormente foi aumentada uma hora por mês até ao mês de Julho.

9.5 Determinação da hora das posturas diária dos dois lotes.

Para determinar a hora aproximada do início da postura diária dos dois lotes durante 24 horas foram colocadas as redes de recolha de ovos sobre a qual foram recolhidas amostras de ovos e observados à lupa de marca Zeiss ampliação 4 vezes onde foi analisada a fase do desenvolvimento embrionário.

9.6 Recolha de amostras para contagem de ovos. Caracterização de ovos viáveis e inviáveis

As posturas foram naturais e ocorreram de forma espontânea, tal como obtidas pelos autores Radonic *et al.*, (2005). Todos os ovos foram colhidos durante um período de 24 horas, a partir da recolha num colector de ovos com malha de 500 µm posicionado no esgoto de superfície do tanque para cada lote a uma taxa de renovação 30%/hora. Ao início da manhã os ovos foram transferidos para um balde de volume conhecido, sendo mantidos com arejamento (Figura 9). Antes da recolha das dez amostras de 5ml, segundo o método de Fernandez-Palacios *et al.*, (1994), todos os ovos foram homogeneizados na coluna de água. Posteriormente, os ovos foram contados e classificados em número de acordo com as suas características sendo considerados dois grupos, os ovos viáveis e ovos inviáveis (Aristizabal et al. 1997, Bromage 1994). Os ovos viáveis são ovos transparentes com flutuabilidade possuindo normalmente uma gota lipídica podendo no entanto ser observado duas ou mais gotas lipídicas enquanto que os ovos inviáveis não flutuam e frequentemente apresentam cor branca ou opaca. Ocasionalmente foram observados ovos transparentes sem gota lipídica em número reduzido correspondendo a ovos não fecundados, que no entanto são contabilizados como ovos inviáveis. Além deste método de amostragem e numa tentativa de comparar métodos de forma a que no futuro fosse possível simplificar a quantificação dos ovos foram realizados ao longo do ciclo de posturas (com a frequência de amostragem de 1 vez por semana) onde foram recolhidos e contados 3 replicados de 1 ml de ovos e posteriormente extrapolado pelo volume total de ovos viáveis recolhido nesse dia. Também foi aplicado o método da contagem dos ovos pelo peso para aferir o peso médio do ovo, recolhendo 3 amostras de ovos por cada

ponto de amostragem uma vez por semana durante do ciclo de posturas para cada lote (Figura 7 e 8).



Figura 7: Sistema de recolha de ovos



Figura 8: Tanque de recolha de ovos com cesto de rede instalado



Figura 9: Recolha dos ovos para um balde de volume conhecido para serem misturados de forma homogénea na coluna de água e realização posterior da recolha de 10 amostras de 5ml com ajuda de uma pipeta graduada sem ponta de 10 ml.

9.7 Determinação do número total de ovos, número de ovos viáveis e taxas de viabilidade e de fecundação

Após a contagem e triagem dos ovos da amostragem e realização das médias foi determinado:

a) O número total de ovos

$N_t = N_v + N_i$ em que N_t é o número total de ovos; N_v é o número de ovos viáveis e N_i é o número de ovos inviáveis.

b) O número de ovos viáveis

$N_v = (\text{Volume do balde} * \text{média do número de ovos viáveis da amostra})/5\text{ml}$.

c) O número de ovos inviáveis

$N_i = (\text{Volume do balde} * \text{média do número de ovos inviáveis da amostra})/5\text{ml}$.

d) A taxa de viabilidade

Taxa de viabilidade (%) = $(\text{número ovos viáveis} / \text{número total de ovos}) * 100$

9.8 Recolha de amostras para análises bioquímicas.

As análises bioquímicas para avaliação da qualidade dos ovos incidiram sobretudo na avaliação e análise do perfil e classes de ácidos gordos. Carrillo & Zanuy, (1995) e Brooks *et al.* (1997), referem que a qualidade do ovo e a sobrevivência embrionária dos peixes teleósteos é afectada com a composição em ácidos gordos polinsaturados (PUFA) em particular os n3 no qual se inclui o ácido docosahexanoico (DHA) e o ácido eicosapentanoico (EPA). Salze *et al.*, (2005), referem que os lípidos e os ácidos gordos essenciais, em particular os ácidos gordos polinsaturados, 20:5 n-3 (ácido eicosapentaenoico – EPA), 22:6n-3 (ácido docosahexanoico – DHA) e o 20:4 n-6 (ácido araquidónico – AA) são determinantes para a reprodução em peixes marinhos afectando directamente a fecundidade, qualidade dos ovos, taxas de eclosão, malformações ao nível larvar e de pigmentação.

Durante o período de postura foram recolhidas 12 amostras com 2 gramas de ovos de cada lote e armazenadas a -60°C. Na preparação das análises químicas, as amostras foram liofilizadas com um liofilizador (Freeze-Dryer Labconco 4.5) (Figuras 10 e 11). Na análise química recorreu-se apenas à determinação do perfil de ácidos gordos pelo método de Lepage e Roy (1986) modificado por Cohen *et al.* (1988). Este método consiste na conversão dos ácidos gordos existentes nas moléculas lipídicas em derivados não polares de baixo peso molecular, tais como os ésteres de metilo, devido ao facto de serem compostos facilmente volatilizáveis. A derivatização dos ácidos gordos em ésteres de metilo pode ser obtida através de uma esterificação/trans-esterificação ácida, onde os ácidos gordos são esterificados e os lípidos O-acilo são transesterificados por aquecimento com um excesso de metanol anidro, na presença de um catalisador ácido. O reagente mais utilizado é uma solução de ácido clorídrico em metanol a 5%. Este método também é utilizado para preparar dimetilacetais a partir de aldeídos alifáticos.



Figura 10: Aparelho para liofilizar as amostras de ovos para análise do perfil ac. Gordos.



Figura 11: Aspecto do acondicionamento das amostras em processo de liofilização.

9.9 Recolha de amostras para análise de imagem para medição diâmetro dos ovos e gota lipídica.

Procedeu-se à recolha semanal ao longo do período de postura de cerca de 30 a 50 ovos viáveis sendo fotografados através de uma lupa para posterior medição do diâmetro do ovo e da gota lipídica. Na medição dos ovos foi utilizada a máquina fotográfica ligada a um sistema informático com software adequado (Axion Vision Release 4.3.) para realizar trabalhos de medição ao diâmetro dos ovos e gota lipídica (Figura 12).

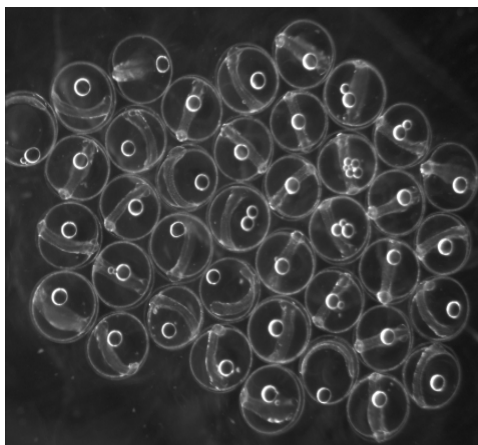


Figura 12: Registro fotográfico digital de ovos de pargo (Ampliação 1x) para posterior análise morfométrica do diâmetro do ovo e gota lipídica.

9.10 Desenvolvimento embrionário e tempo de eclosão.

Para avaliar o desenvolvimento embrionário foi colocada a incubar uma amostra de ovos onde durante 48 horas foram observados e fotografados ovos e analisado o seu desenvolvimento embrionário até à eclosão (Figura 13).



Figura 13: Tanques (jarros de 3 litros) de incubação em triplicado utilizados para determinação das taxas de eclosão e sobrevivência assim como para acompanhamento do desenvolvimento embrionário.

9.11 Método para determinação da taxa de eclosão e sobrevivência larvar

A determinação da taxa de eclosão larvar foi definida a partir da formula: número de larvas eclodidas sobre o número de ovos incubados vivos após o 1º dia segundo o autor Mylonas *et al.*, (2004). Para a determinação das taxas de eclosão foram colocados a incubar 3 replicados para cada lote de 200 ovos viáveis em jarros de 2

litros de água do mar filtrada com arejamento constante (densidade de 100 ovos/litro) (Figura 13) pois para os autores Hernandez-Cruz, *et al.*, (1999), a melhor densidade de incubação para a obtenção de larvas de pargo é de no máximo 100 ovos/l. Os jarros eram diariamente renovados em 20 % do seu volume e recolhidos os ovos inviáveis e larvas mortas (Figura 14). Cada experiência era mantida até ao 5 dia após a eclosão. Ao 4ª dia após eclosão era dada a primeira alimentação com rotíferos à concentração de 1 a 2 rot/ml. Posteriormente ao 5 dia era contabilizado o número de larvas vivas, sendo algumas recolhidas para registo fotográfico e análise do seu conteúdo estomacal. A taxa de sobrevivência larvar é determinada pela seguinte fórmula: Taxa de sobrevivência larvar (%) = (número de larvas vivas/ número de larvas eclodidas) *100

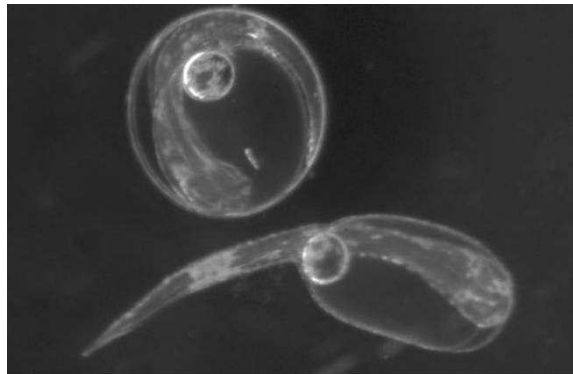


Figura 14: Aspecto de um ovo viável com embrião próximo a eclodir. Abaixo do ovo é possível observar uma larva recentemente eclodida após 48 horas de incubação a 19-20 °C.

9.12 Método para determinação de resistência larvar – testes de stress

Para a determinação da resistência larvar foi utilizado o método do stress larvar pela submissão de 3 replicados de 10 larvas cada para cada lote a uma concentração de 65 gramas de cloreto de sódio por litro de água (Dhert *et al.*, 1992 a e Dhert *et al.*, 1992 b). Em cada “goblét” foram colocadas 10 larvas em 200 ml de água com salinidade a 65 ppm sendo verificadas se estavam vivas de 5 em 5 minutos, somando no mínimo 15 pontos de observação durante 90 minutos. As larvas eram consideradas mortas se não reagissem ao toque e se apresentassem brancas e completamente deformadas. O índice de resistência larvar pontual (IRLi) é dado pela fórmula: $IRLi = ((\text{número de larvas mortas no momento (i)} - \text{número inicial de larvas}) / \text{número inicial de larvas}) * 100$.

9.13 Análise estatística

O tratamento estatístico processa-se em dois momentos: num primeiro momento descrevemos as variáveis relevantes para o estudo e depois procuraremos encontrar diferenças entre e dentro dos grupos e/ou associações entre variáveis, finalmente procuramos estabelecer um modelo que ajude a compreender a importância das variáveis no número de ovos viáveis.

Foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se os dados obtidos seguem uma distribuição normal.

Foi utilizado o teste de ajuste à normalidade Shapiro-Wilk quanto ao número de ovos viáveis, peso e comprimento dos lotes, taxas de eclosão.

O teste t student permitiu a comparação dos valores médios dos dois lotes quanto ao peso e comprimento, comparação do diâmetro do ovo e da gota lipídica e taxas de viabilidade.

Foi utilizado o coeficiente de correlação intra-classe para avaliar a fiabilidade dos dois métodos para contagem de ovos viáveis: Método das amostras 5ml e o Método do volume.

O coeficiente de correlação de Pearson serviu para encontrar associação entre vários parâmetros físicos e químicos que influenciam na produção dos ovos ao longo do ciclo de posturas. Ainda foi utilizada a Análise de Variância dupla com efeitos fixos para determinar o efeito do lote e do dia da postura na mortalidade das larvas quando sujeitas aos testes de "stress" pelo método da salinidade. O programa utilizado para a realização destes testes estatísticos foi o SPSS 14.0.

10. Resultados

10.1 Fiabilidade para os métodos de contagem de ovos viáveis: Volume da Proveta/Amostras de 5ml

Número de ovos viáveis	Correlação intra-classe	Intervalo de confiança a 95%		Teste de Levene de igualdade de variâncias			
		Limite Inferior	Limite Superior	Valor	g.l.1	g.l.2	Sig
Valor	,775(b)	,708	,829	7,897	171,0	171	,000
Média dos Valores	,873(c)	,829	,906	7,897	171,0	171	,000

Tabela 3: Comparação da fiabilidade de dois métodos para contagem de ovos viáveis obtidos nas posturas. (Coeficiente de correlação intra-classes).

O coeficiente de correlação intra-classes obtido para o número de ovos viáveis foi de 0,873, valor que indica que os métodos são concordantes, com 95% de confiança este valor varia entre 0,829 e 0,906, sendo significativamente diferente de zero pois o valor de prova do teste F é inferior a 0,05 (Tabela 3). Com base neste resultado, procurou-se construir um modelo que permitisse estimar o número de ovos viáveis para produção larvar utilizando o método do volume, que é mais rápido, sabendo que o valor médio de ovos por mililitro é de 645 (Figura 15). O modelo encontrado permite explicar 89% da variação do número de ovos viáveis à custa da variação do número de ovos pelo método do volume (Figura 16). Em média a diferença entre os dois métodos é de 4333 ovos.

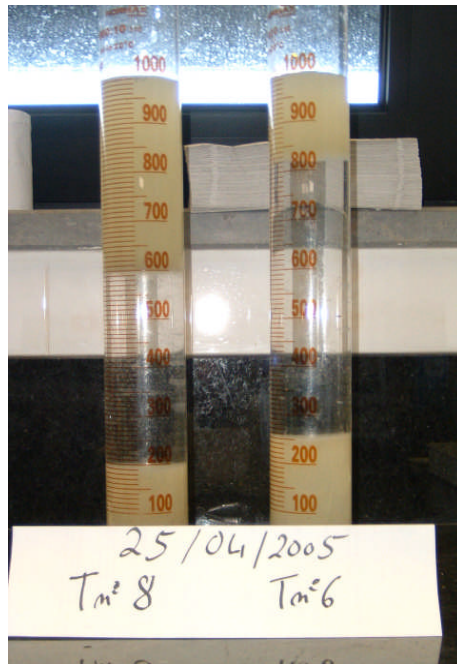


Figura 15: Observação do nº de ovos viáveis (coluna com ovos flutuantes) pelo método do volume em provetas graduadas.

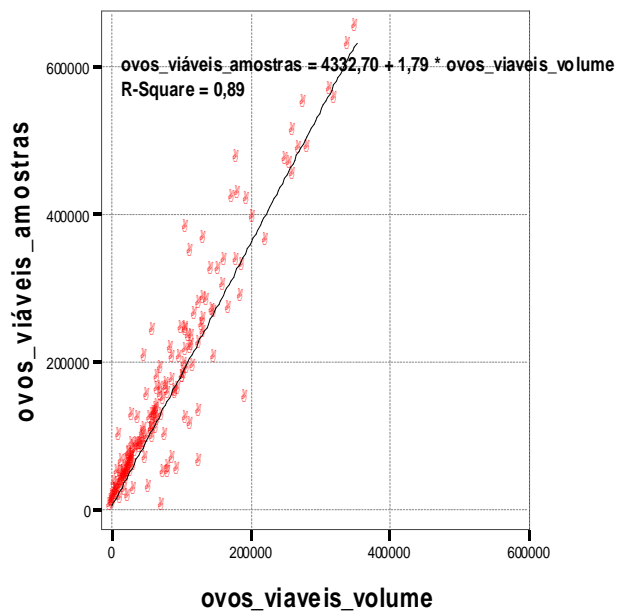


Figura 16: Gráfico da distribuição do número de ovos viáveis segundo os dois métodos utilizados.

10.2 Caracterização dos lotes

A tabela 4 apresenta os valores médios do peso e comprimento para os dois lotes.

		Lote 6	Lote 8
Peso(gr)	Média	2510,9	1419,5
	Intervalo de confiança (95%)	Limite inferior	2301,2
Limite superior		2720,7	1575,1
Desvio Padrão		473,1	424,1
Mínimo		1058,0	629,0
Máximo		3231,0	2140,0
Comprimento (cm)	Média	44,2	35,9
	Intervalo de confiança (95%)	Limite inferior	42,8
Limite superior		45,7	37,4
Desvio Padrão		3,3	4,0
Mínimo		35,1	29,4
Máximo		48,4	44,0

Tabela 4: Valores médios de peso e comprimento para os dois lotes com um intervalo de confiança a 95%.

Relativamente ao peso dos lotes, registou-se peso médio superior no lote 6 relativamente ao lote 8, as estimativas são superiores no lote 6 como é possível observar no gráfico de extremos-e-quartis (Figuras 17 e 18).

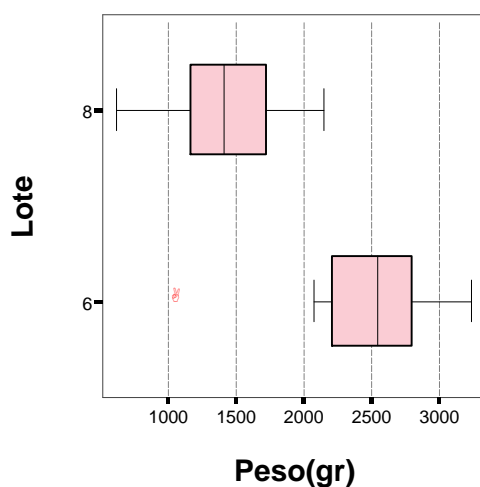


Figura 17 : Gráfico comparativo do peso entre lote 6 e 8 de extremos-e-quartis

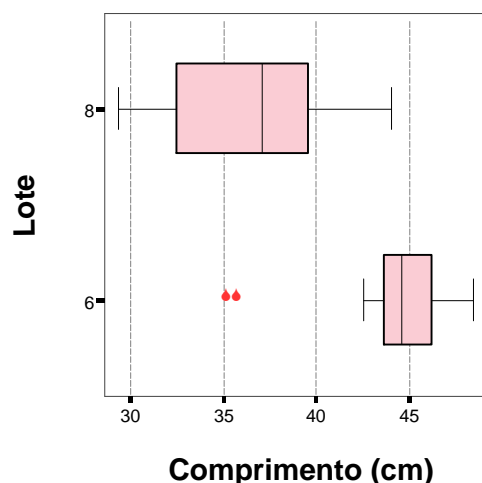


Figura 18: Gráfico comparativo do comprimento entre lote 6 e 8 de extremos-e-quartis.

Perante a indicação da existência de diferenças significativas entre os lotes tentou-se averiguar se o peso e comprimento dos peixes se ajustavam a uma distribuição normal, assim, utilizou-se estatística paramétrica para estabelecer diferenças entre os dois lotes. A tabela 3 apresenta os resultados dos testes necessários à comparação dos dois lotes.

	Lote	Shapiro-Wilk (ajustamento à normal)			Teste de Levene (Igualdade de variâncias)		Teste t-Student (Igualdade de médias)		
		Valor	gl	Sig.	Valor	sig	Valor	gl	sig
Peso(gr)	6	,917	22	,067	,003	,960	8,800	51	,000**
	8	,964	31	,366					
Comprimento (cm)	6	,798	22	,000**	6,654	,013*	8,194	49,915	,000**
	8	,936	31	,063					

Tabela 5: Comparação dos dois lotes quanto ao peso e comprimento dos peixes com recurso a vários testes para verificar se ajustam à uma distribuição normal para posterior comparação dos lotes com recurso ao teste "t student".

De acordo com os resultados obtidos na tabela 5, os níveis de significância associados ao teste de Shapiro-Wilk foram superiores a 0,05 o que permite concluir do bom ajustamento à distribuição normal, com exceção do comprimento dos peixes do lote 6. A análise exploratória permitiu concluir que esta falta de aderência à normal é provocada por dois valores extremos assinalados como outliers severos no gráfico de extremos e quartis. Por outro lado o teste de Levene garante que as variâncias dos

pesos são iguais pelo que utilizaremos o teste t-Student para comparar o peso de ambos os lotes.

A hipótese nula do teste t-Student é que o peso médio dos peixes do lote 6 é igual ao peso médio dos peixes do lote 8. Dado o nível de significância ser inferior a 0,05 rejeitou-se essa hipótese, podendo assim concluir que existem diferenças significativas no peso dos peixes de cada lote, sendo os do lote 6 os que apresentam maior peso (em média estes pesam mais 1091,4 gramas). Quanto ao comprimento, foram encontradas variâncias diferentes, sendo maior no lote 8. Essas diferenças têm significado estatístico, pelo que se utilizou o teste t-Student corrigido para estas situações, cujo valor de prova foi inferior a 0,05, pelo que se pode concluir que existem diferenças significativas no comprimento dos peixes de ambos os lotes.

10.3 Produção de ovos

Nas Figuras 19 e 20, é possível observar o perfil de posturas diárias dos dois lotes ao longo do ciclo de desova.

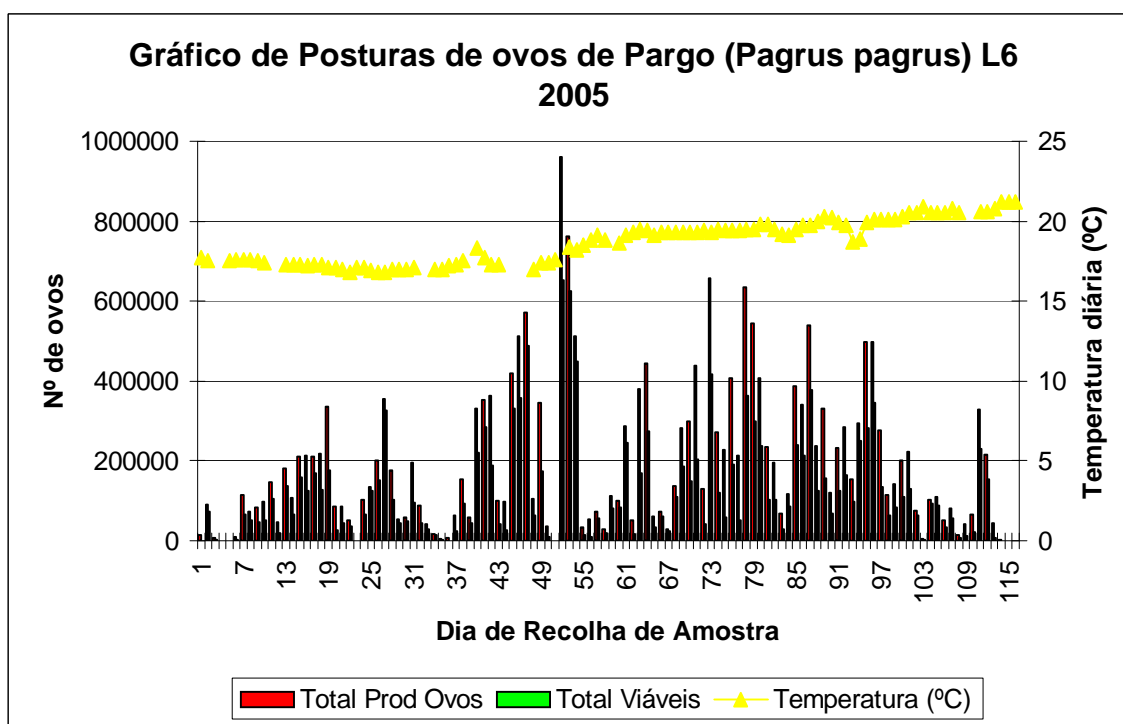


Figura 19: Gráfico do perfil de posturas diárias ao longo do período de desova do lote 6 em número total de ovos e ovos viáveis produzidos.

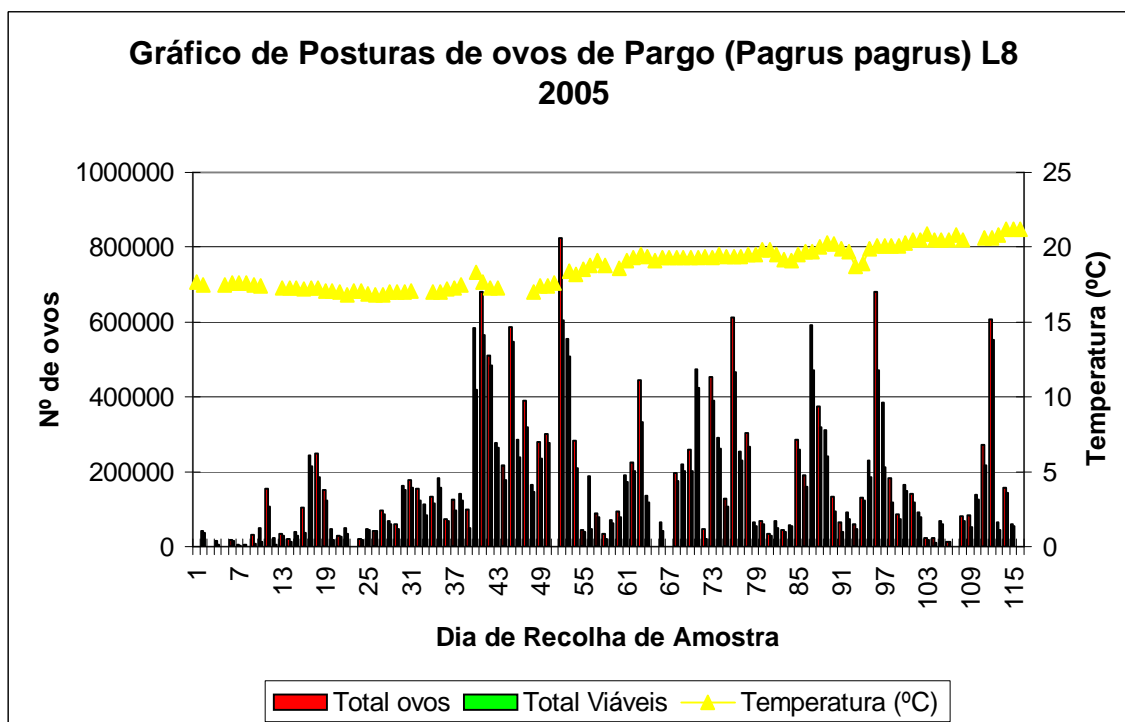


Figura 20: Gráfico do perfil de posturas diárias ao longo do período de desova do lote 8 em número total de ovos e ovos viáveis produzidos.

As figuras 19 e 20 apresentam o perfil das temperaturas e das posturas diárias (ovos totais e ovos viáveis) dos lotes de reprodutores 6 e 8 respectivamente ao longo de quatro meses (Fevereiro a Maio) de produção de ovos.

A caracterização da produção de ovos foi dividida em três grupos: caracterização inicial do número de ovos produzidos em cada lote e ao longo do tempo, avaliação e comparação das características físicas e químicas dos ovos.

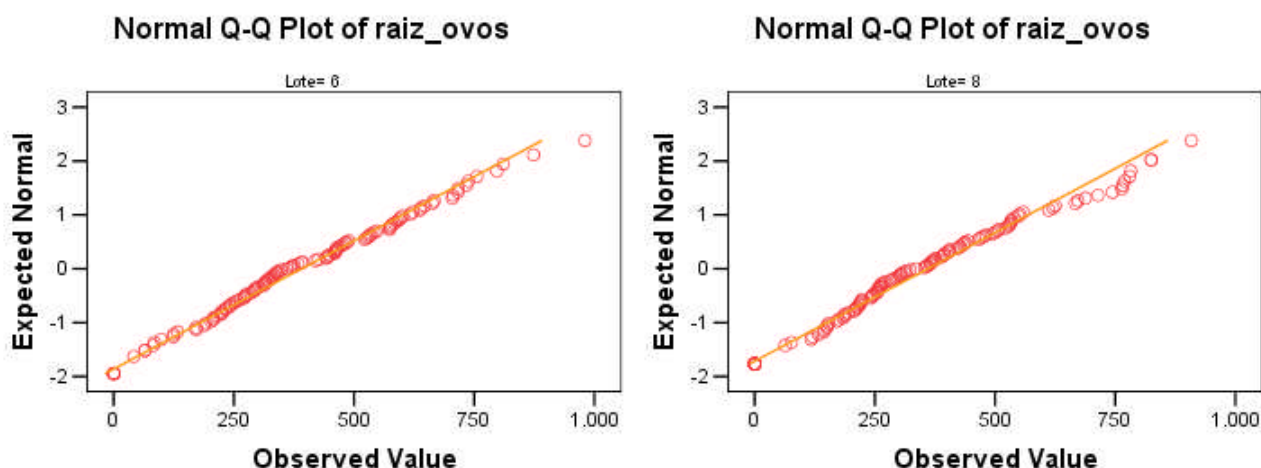
As posturas tiveram início em Fevereiro e terminaram na primeira semana de Maio. As posturas diárias ocorreram sempre no início da tarde, pelas 13 horas.

Na tabela 6 estão os primeiros indicadores da produção de ovos em cada lote durante o período de postura; são também apresentados os resultados do teste de ajustamento à distribuição normal.

			Lote	
			6	8
Total de ovos produzidos	Média		196358,11	173012,97
	Intervalo de Confiança a 95%	Limite Inferior	162454,37	140019,68
		Limite Superior	230261,86	206006,25
	Desvio Padrão		183532,83	178604,23
	Mínimo		0	0
	Máximo		960800	825200
	Coef. Simetria		960800	825200
	Teste de Kolmogorov-Smirnov	Valor	,155	,166
g.l.		115	115	
sig.		,000	,000	
Raiz Quadrada (nº de ovos)	Kolmogorov-Smirnov	Valor	,077	,071
		g.l.	115	115
		sig.	,087	,200

Tabela 6: Valores médios diários obtidos ao longo do período das posturas, assim como os testes de ajuste à distribuição normal para comparação posterior o ciclo de posturas dos dois lotes.

Em ambos os lotes, o nível de significância associado ao teste de Kolmogorov-Smirnov foi inferior a 0,05, logo é possível concluir que estes dados não são normalmente distribuídos, produto de um enviesamento positivo. Nestes casos, a transformação pelo logaritmo ou pela raiz quadrada resultam numa distribuição normal, para os dados em questão. A análise à raiz quadrada revelou ser melhor, pois os dados ajustam-se convenientemente à distribuição normal, como indica o testes de Kolmogorov-Smirnov e representam-se nos gráficos seguintes (Figuras 20 e 21).



Figuras 20 e 21: Gráficos da distribuição normal a partir da raiz de ovos viáveis obtidos em cada dia de postura para os lotes 6 e 8 respectivamente.

Verificou-se se a raiz do número de ovos produzidos é igual em ambos os lotes no período em que decorreu a postura. Embora com reprodutores diferentes, o número total de ovos não apresenta diferenças significativas entre os dois lotes, como podemos concluir do teste t-Student que apresentamos na tabela 7.

		N	Média	Desvio Padrão	Teste de Levene de igualdade de variâncias		Teste t para igualdade de médias de duas populações independentes		
					F	sig	t	g.l.	Sig.
Raiz quadrada do total de ovos	Lote 6	115	390,677	210,03	,083	,774	1,117	228	,265
	Lote 8	115	359,750	209,70					

Tabela 7: Resultados obtidos a partir do teste estatístico “t student” para determinar se o comportamento relativo à produção diária do número ovos é igual entre os dois lotes.

Dado não existirem diferenças significativas entre os dois lotes quanto ao número de ovos postos, calculou-se o total de ovos dos dois lotes, para construir um modelo que permitisse identificar quais os dias em que se registam maiores posturas. No seguinte gráfico observamos a representação da raiz quadrada do total de ovos em função dos dias decorridos após a primeira postura. Esta variável é normalmente distribuída (K-S=0,078,p=0.086) com sazonalidade, pelo que se utiliza o alisamento exponencial

como forma de minorar os extremos para construir um modelo que pode ser observado no figura 22.

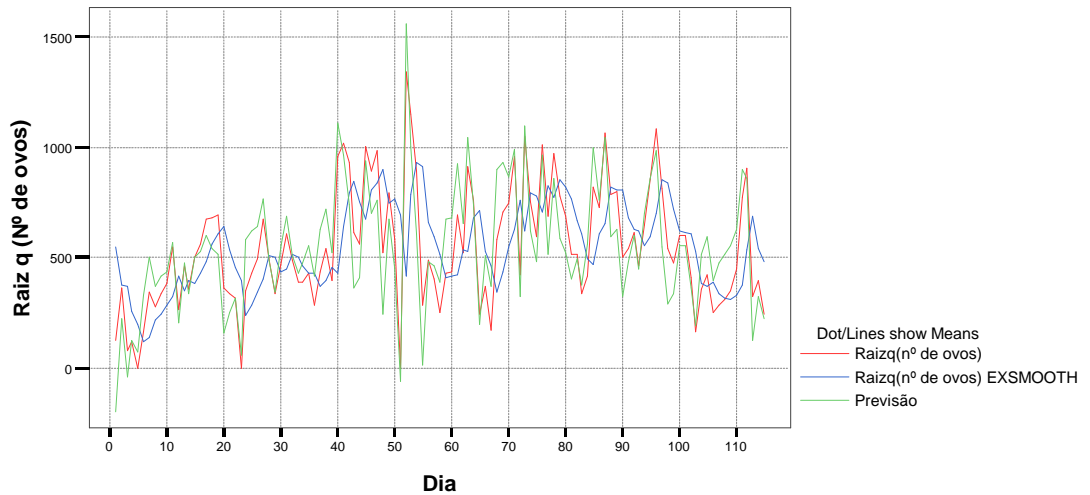


Figura 22: O gráfico construído por alisamento exponencial, permite observar qual o intervalo de dias de postura com os valores mais altos de produção total de ovos.

O modelo construído indica que os valores máximos são atingidos entre os dias 40 e 75 após o início da postura.

10.4 Ovos viáveis

O número de ovos viáveis, à semelhança do que acontece com o número de ovos produzidos em cada lote, não é uma variável normalmente distribuída, pelo que se utilizou a raiz quadrada para obter uma variável que permitisse a realização do teste t-Student para duas amostras independentes com o objectivo de saber se a viabilidade dos ovos varia significativamente entre os lotes. Essa informação é apresentada na tabela 8.

		N	Média	Desvio Padrão	Teste t-Student		
					t	g.l.	Sig.
Raiz Quadrada do nº de ovos viáveis	Lote 6	109	319,160	169,076	-1,044	214	,298
	Lote 8	107	344,066	181,342			

Tabela 8. Valores médios obtidos na produção de ovos viáveis e através do teste “t student” compara estatisticamente se os lotes são semelhantes quanto á produção de ovos viáveis.

A partir da tabela 8, é possível observar que o valor de prova indica que o número de ovos viáveis é estatisticamente igual entre os dois lotes, quer isto dizer que mesmo com reprodutores diferentes, o número de ovos viáveis é igual, por outra forma a viabilidade dos ovos não depende do lote de que foram retiradas as amostras.

10.5 Taxa de viabilidade

A taxa de viabilidade mede a proporção de ovos viáveis em cada amostra, é um indicador da qualidade dos ovos e procurou-se saber se apresentava diferenças entre os lotes. As figuras 23 e 24 apresentam as taxas de viabilidade diárias dos lotes 6 e 8 respectivamente, obtidos ao longo do período de posturas.

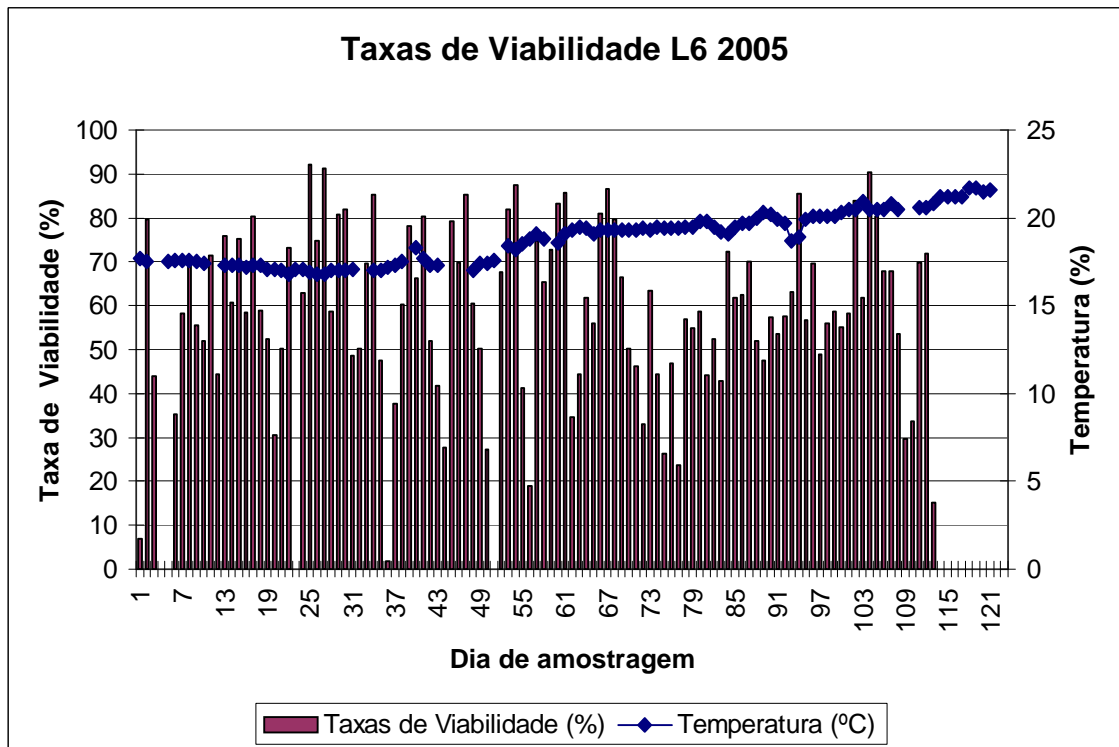


Figura 23: Taxas de viabilidade do lote 6 obtidas a partir das posturas diárias entre Fevereiro e Maio.

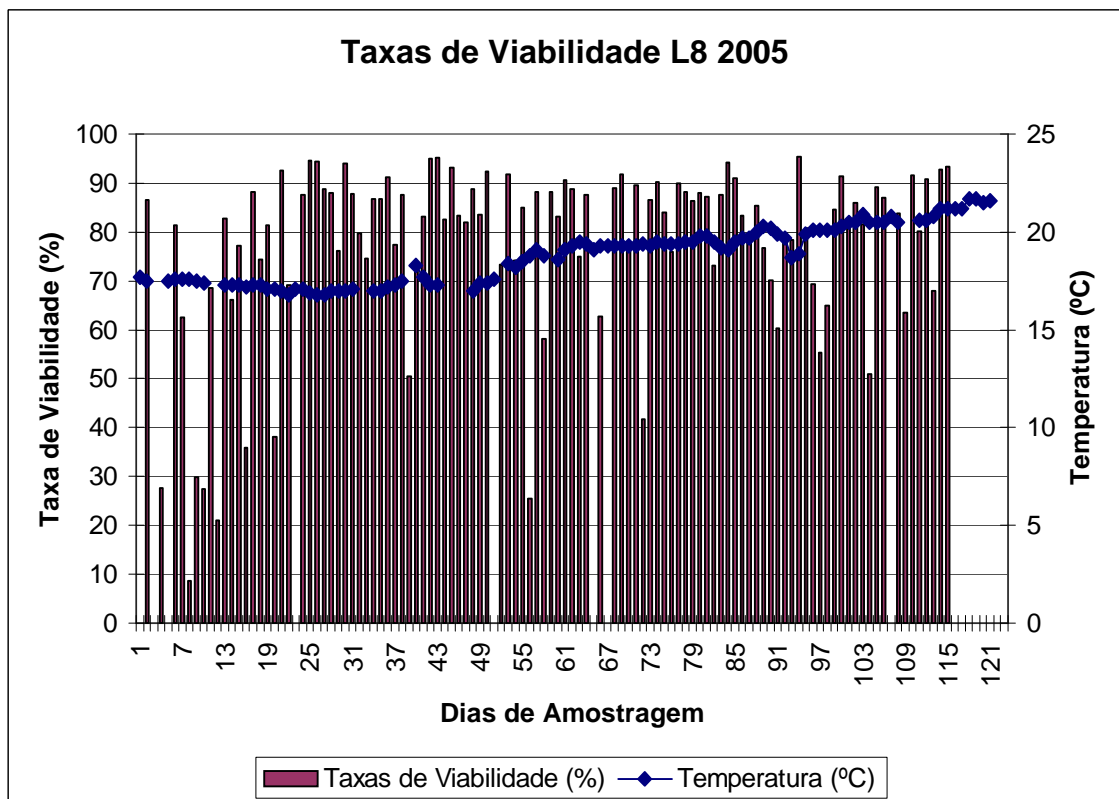


Figura 24: Taxas de viabilidade do lote 8 obtidas a partir das posturas diárias entre Fevereiro e Maio.

A normalidade da taxa de viabilidade foi testada, como se pode observar na tabela 9 mas o valor de prova do teste foi inferior a 0,05, quer no lote 6 quer no lote 8.

		Kolmogorov-Smirnov		
		valor	g.l.	sig.
Taxa de viabilidade (%)	Lote 6	,051	109	,200(*)
	Lote 8	,187	107	,000

Tabela 9: Teste da normalidade para posterior comparação das taxas de viabilidade entre os dois lotes.

Na tabela 9, é possível verificar que o afastamento à distribuição normal é provocado por valores baixos que pontualmente ocorrem no lote 6 e com maior frequência no lote 8, como podemos observar no diagrama de extremos e quartis apresentado na figura 25.

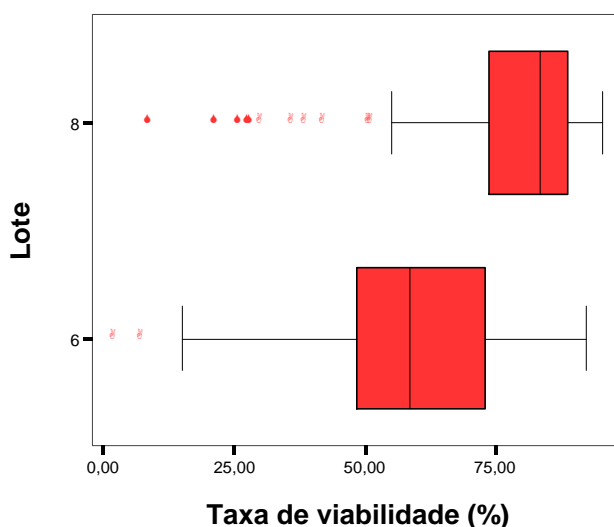


Figura 25: Diagrama de extremos-e-quartis comparativo da Taxa de viabilidade entre lote 6 e 8.

No diagrama de extremos e quartis apresentados na figura 25, podemos observar que o lote 8 pontualmente apresenta taxas de viabilidade inferiores aos 50%, sendo esses valores considerados outliers, enquanto que os ovos retirados do lote 6 a barreira de outlier se situa nos 12,15%. De acordo com esta representação podemos concluir que a taxa de viabilidade difere significativamente entre os dois lotes, sendo que o lote 8

apresenta maior taxa de viabilidade, daí a afirmação que o lote com reprodutores mais jovens é o que fornece ovos com melhor qualidade, quanto à sua viabilidade.

Na tabela 10 verifica-se que a média de taxa de viabilidade do lote 8 é 77,55%, valor superior à taxa média de viabilidade durante o período de posturas, obtida pelo lote 6 que para este último foi de 59,12%. No que toca à mediana, as taxas de viabilidade para o lote 8 foram de 83,45% correspondendo a valores superiores aos atingidos pelo lote 6 cuja mediana foi de 58,72%.

		Lote	
		6	8
Taxa de viabilidade (%)	Média	59,121	77,545
	Mediana	58,719	83,450
	Desvio Padrão	18,934	18,122
	Mínimo	1,780	8,540
	Máximo	92,140	95,370
	Coef. Simetria	-,557	-1,869

Tabela 10: Valores médios e mediana obtidos na taxa de viabilidade dos lotes 6 e 8.

As transformações da taxa de viabilidade por potências positivas e a exclusão dos outliers revelaram-se insuficientes para a normalização da variável, assim utilizou-se o teste de Mann-Whitney cujos resultados se podem observar na tabela 11.

Lote	Taxa de viabilidade (%)
Mann-Whitney U	2346,000
Z	-7,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000

Tabela 11: Resultados obtidos pelo teste Mann-Whitney

10.6 Diâmetro do ovo e gota lipídica

A distribuição destas variáveis não se aproxima de uma normal, no entanto dada a dimensão das amostras e os reduzidos coeficientes de simetria, pelo teorema do limite central considerou-se que é assintoticamente normal, procurou-se três tipos de respostas:

Se ao longo do período de postura estas características mantêm-se;

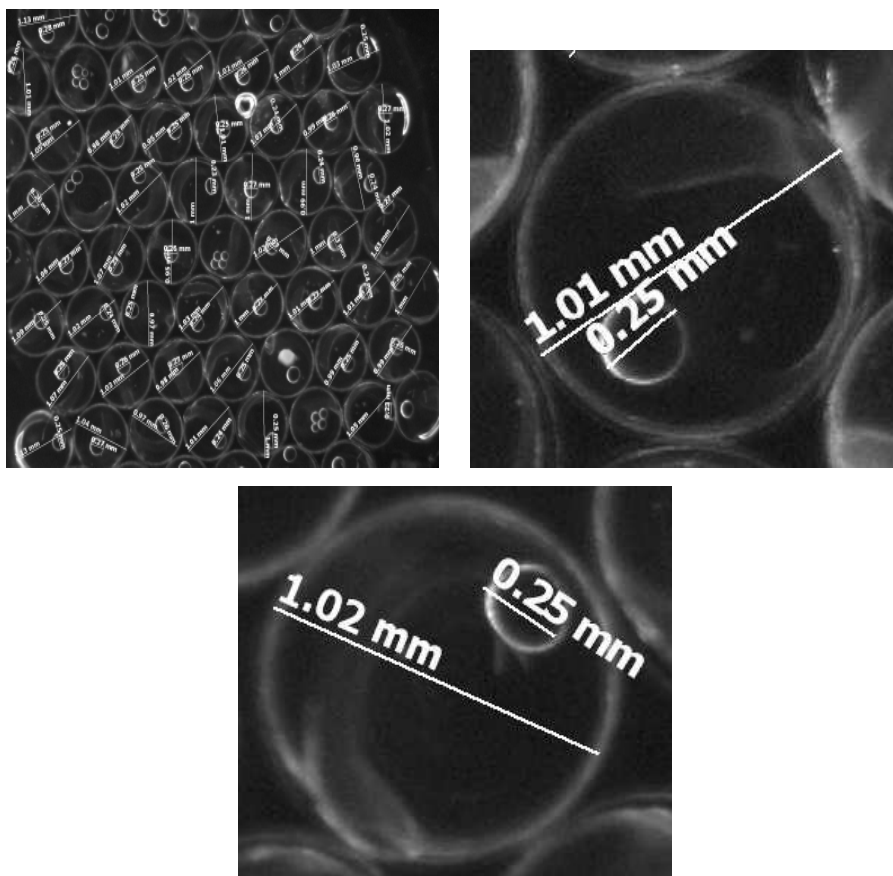
Se entre os lotes o diâmetro dos ovos e da gota lipídica são iguais;

Se existe alguma associação entre o diâmetro do ovo e da gota lipídica

Os indicadores estatísticos do diâmetro do ovo e da gota lipídica indicam que em ambos os lotes as medidas de tendência central (média e mediana) se aproximam. Os valores podem ser observados na Tabela nº.12. Nas Figuras 26, 27, 28 podemos observar as medições sobre o registo fotográfico.

		Lote	
		6	8
Diâmetro ovo (mm)	Média	1,012	1,018
	Mediana	1,010	1,020
	Desvio Padrão	,040	,041
	Mínimo	,880	,920
	Máximo	1,160	1,170
	Coef. Simetria	,586	,345
Diâmetro gota (mm)	Média	,264	,260
	Mediana	,260	,260
	Desvio Padrão	,028	,022
	Mínimo	,200	,200
	Máximo	,360	,360
	Coef. Simetria	,864	,724

Tabela 12: Valores médios obtidos para o diâmetro do ovo e diâmetro da gota lipídica para os lotes 6 e 8.



Figuras 26; 27; 28: Registo fotográfico e medição do diâmetro do ovo e gota lipídica com ampliação de 1x e 4x respectivamente.

Controlo de Variáveis			Diâmetro gota (mm)
Lote	Diâmetro ovo (mm)	Correlação	,362
		significância	,000
		g.l.	1418

Tabela 13: Resultados obtidos no teste de correlação entre diâmetro dos ovos e gota lipídica.

Analisando a tabela 13, podemos concluir que existe uma correlação entre o diâmetro do ovo e da gota, e que os coeficientes de correlação apresentados são correlações parciais sendo controlado o efeito do lote. Assim, em qualquer um dos lotes, ovos com diâmetros elevados correspondem gotas lipídicas também elevadas.

10.7 Características químicas

As características químicas envolvem

- Ácidos gordos (%)
- n3 (%)
- n6(%)
- Saturados (%)
- Polinsaturados(%)
- Monoinsaturados(%)
- EPA(%)
- DHA(%)
- DHA/EPA
- n3/n6

Após a análise pelo teste de ajustamento à distribuição normal, verificou-se que todas as variáveis se aproximam daquela distribuição e quando não se verifica tal característica as variáveis eram simétricas, pelo que podemos utilizar técnicas paramétricas, nesta situação utilizou-se o teste t-Student.

Caso a significância associada ao teste seja inferior a 0,05, rejeita-se a hipótese nula. A hipótese nula do teste t-Student é que os valores médios das duas amostras são iguais. Caso o valor de prova seja inferior a 0,05 rejeita-se esta hipótese, ou seja as duas amostras apresentam médias diferentes.

Na tabela 14 observam-se os resultados do teste e pode-se concluir:

- No Lote 6 a média de polinsaturados é significativamente inferior à média observada no tanque 8, desta forma a percentagem de polinsaturados está associada à idade dos progenitores, pois quando mais velhos forem, maior será a percentagem de polinsaturados.
- Relativamente ao n6, a média também é significativamente diferente, sendo que os progenitores mais velhos (Lote 6) apresentam valor médio superior
- Como consequência do resultado obtido para o n6, encontramos também diferença significativa entre os tanques para relação n3/n6, sendo que os ovos do Lote 6 (progenitores mais velhos) apresentam uma média inferior.

	Lote	N	Média	Desvio Padrão	t	sig
% em Acido Gordo	6	12	92,833	,783	,674	,507
	8	12	92,608	,846		
EPA (%)	6	12	6,800	,377	1,679	,107
	8	12	6,525	,425		
DHA (%)	6	12	21,100	1,247	-,262	,796
	8	12	21,225	1,082		
n3/n6(%)	6	12	6,043	,232	-4,313	,000
	8	12	6,705	,479		
n3 (%)	6	12	37,467	1,374	1,070	,296
	8	12	36,908	1,174		
n6(%)	6	12	6,200	,148	7,824	,000
	8	12	5,525	,260		
Saturados (%)	6	12	22,100	,374	-,940	,358
	8	12	22,342	,808		
Polinsaturados (%)	6	12	45,408	1,395	2,493	,021
	8	12	44,142	1,073		
Monoinsaturados (%)	6	12	25,342	1,257	-2,034	,054
	8	12	26,183	,689		
Relação DHA/EPA (%)	6	12	3,113	,268	-1,433	,166
	8	12	3,264	,249		

Tabela 14: Valores médios do perfil de ácidos gordos e suas classes recolhidos a partir de ovos viáveis ao longo do período de posturas para os lotes 6 e 8.

Procurou-se identificar a existência de associação entre os factores físicos e os bioquímicos no número de ovos viáveis, utilizando para o efeito o coeficiente de correlação de Pearson, sendo apresentados os valores significativos e os factores relevantes, que podem ser observados na tabela 15.

Lote			Temperatura (°C)	Fotoperíodo na Postura (horas Luz)	Turbidez (NTU) (Valor Médio 3 replicados)	Raiz Quadrada do total de ovos.
6	Relação DHA/EPA (%)	R	0,431	0,734	-0,415	0,001
		Sig.	0,161	0,007	0,267	0,997
		N	12	12	9	12
	Nº de ovos	R	-0,128	-0,016	0,123	
		Sig.	0,171	0,868	0,260	
		N	117	117	86	
8	Saturados (%)	R	0,818	0,729	-0,808	0,444
		Sig.	0,001	0,007	0,008	0,148
		N	12	12	9	12
	Monoinsaturados (%)	Pearson Correlation	-0,285	-0,443	0,036	-0,737
		Sig. (2-tailed)	0,369	0,150	0,926	0,006
		N	12	12	9	12
	Relação DHA/EPA (%)	Pearson Correlation	-0,421	-0,400	0,128	0,626
		Sig. (2-tailed)	0,173	0,198	0,743	0,029
		N	12	12	9	12
	Nº de ovos	R	-0,069	0,082	0,187	
		Sig.	0,461	0,378	0,085	
		N	117	117	86	

Tabela 15: Valores obtidos a partir do teste de correlação entre o número de ovos viáveis e os factores físico e bioquímicos.

Segundo os valores obtidos na tabela 15, no lote 6 a relação DHA/EPA está associada ao fotoperíodo, sendo que aquela relação é superior quanto maior for o fotoperíodo. Já no lote 8 a maior correlação regista-se entre a relação DHA/EPA e o número de ovos postos, ou seja se o número de ovos postos for elevado também a relação será elevada, em oposição ao que sucede com monoinsaturados. No tanque 6 esta correlação não tem expressão estatística, pois para um número de ovos elevado encontram-se valores elevados e reduzidos de DHA/EPA.

10.8 Taxa de eclosão e sobrevivência larvar

Durante o presente estudo o tempo de eclosão dos ovos de pargo ,foi de cerca de 44 horas, à temperatura de incubação de 20°C.

A tabela 16 apresenta o teste de ajustamento à distribuição normal a fim de se poder comparar os resultados das taxas de eclosão e de sobrevivência larvar entre os dois lotes.

Testes de Normalidade

		Shapiro-Wilk		
		Valor	g.l.	Sig.
taxa de eclosão	6	,927	21	,120
	8	,844	20	,004
Taxa de sobrevivência larvar até 1º Dia de Alimentação (5 DAE)	6	,875	21	,012
	8	,908	20	,058
Taxa de sobrevivência total até 1º Dia de Alimentação (5 DAE)	6	,927	21	,119
	8	,979	20	,927

Tabela 16: Resultados obtidos no teste estatístico Shapiro-Wilk para ajustamento à distribuição normal.

O teste de ajustamento à distribuição normal, cujos resultados se podem observar na tabela 16, indica que a taxa de eclosão no lote 6 e a taxa de sobrevivência larvar no lote 8 não se aproximam de uma distribuição normal. No entanto são simétricas, pelo que podemos utilizar o teste t-Student para averiguar se as taxas em estudo apresentam médias iguais, como se pode verificar na tabela 17. Como os valores de prova são superiores a 0,05 não temos evidência de diferenças significativas entre os lotes, isto é, as taxas de eclosão e sobrevivência são semelhantes em ambos os lotes.

	t	g.l.	Sig.	Diferença de Médias	Intervalo de Confiança da 95% da diferença de médias	
					Inferior	Superior
taxa de eclosão	-1,271	39	,211	-6,373	-16,514	3,768
Taxa de sobrevivência larvar até 1º Dia de Alimentação (5 DAE)	,125	39	,901	1,139	-17,239	19,517
Taxa de sobrevivência total até 1º Dia de Alimentação (5 DAE)	-,169	39	,867	-1,240	-16,067	13,588

Tabela 17: Resultados do teste para Amostras Independentes.

Analisou-se se a taxa de eclosão e as taxas de sobrevivência estariam associadas ao dia da postura. Tal facto não se confirmou, pois os coeficientes de correlação obtidos não foram significativos. Os resultados encontram-se apresentados na tabela 18.

		Taxa de eclosão	Taxa de sobrevivência larvar até 1º Dia de Alimentação (5 DAE)	Taxa de sobrevivência total até 1º Dia de Alimentação (5 DAE)
Dia de postura	Correlação de Pearson	-,045	-,248	,021
	Sig.	,781	,117	,896
	N	41	41	41

Tabela 18: Resultados do teste de correlações entre a taxa de eclosão e as taxas de sobrevivência alimentar.

10.9 Testes de Stress

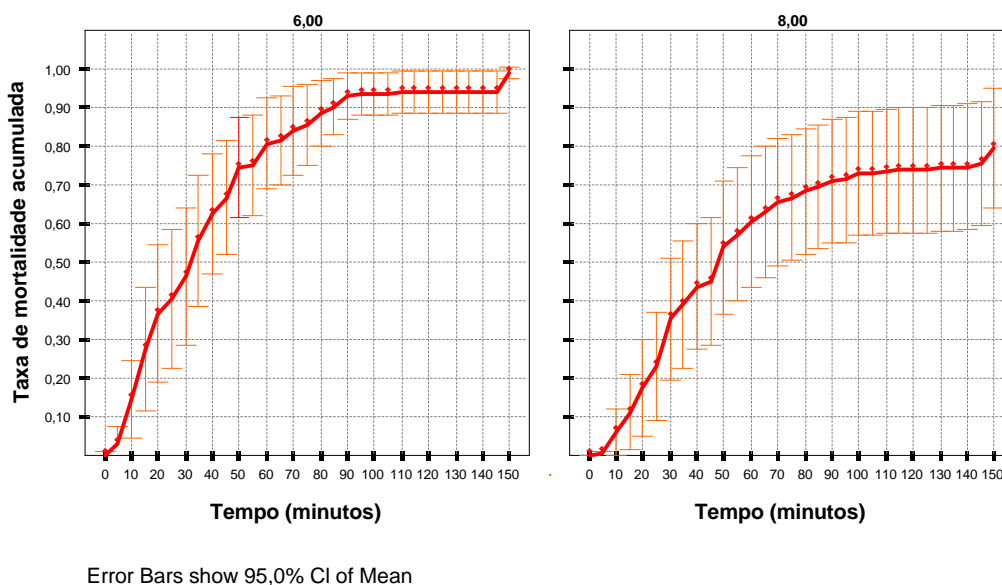


Figura 29: Representação gráfica dos resultados obtidos nos testes de stress pelo método da salinidade (65 p.p.m.) na qual regista a mortalidade acumulada em função do tempo. Os resultados para o lote 6 apresentam-se à esquerda do leitor. Os resultados para o lote 8 apresentam-se à direita do leitor.

Após a análise estatística, e uma vez que não se constataram diferenças significativas na resistência larvar quando submetida ao teste de salinidade ao longo do período de posturas, juntaram-se as amostras retiradas nos vários dias de postura. Assim os resultados observados na figura 29, demonstram uma maior resistência das larvas do lote 8 ao stress perante o teste de salinidade (a 65%) quando comparadas com os resultados obtidos no lote 6. Por sua vez, este último atinge 50% de mortalidade perante um tempo de exposição a salinidade elevada de 33 minutos enquanto que no lote 8,5% das larvas resistem até aos 47 minutos.

Foram posteriormente realizados testes entre grupos tendo como variável dependente a taxa de mortalidade acumulada. Os resultados do teste estatístico estão registados na tabela 19.

Source	Soma dos quadrados	g.l.	Média dos quadrados	F	Sig.
Modelo	668,389(a)	16	41,774	339,919	,000
Lote	11,384	1	11,384	92,635	,000
Postura	45,734	7	6,533	53,163	,000
Lote * Postura	16,578	7	2,368	19,271	,000
Erro	180,901	1472	,123		
Total	849,290	1488			

Tabela 19: Resultados do teste entre grupos tendo como variável dependente a “taxa de mortalidade acumulada”.

A tabela 20 apresenta os valores médios das taxas de mortalidade acumuladas, registadas nos testes de stress. Estes foram realizados nos respectivos dias de postura nos quais foram retiradas e preparadas as amostras. Pretendeu-se determinar se existiriam diferenças de resistência larvar ao longo do tempo no decorrer do período de posturas.

Dia da Postura	Lote	
	6	8
52	,47	,09
59	,61	,73
71	,89	,79
80	,89	,65
85	,50	,60
89	,74	,61
101	,75	,20
112	,91	,67

Tabela 20: Média da Taxa de mortalidade acumulada segundo o lote e dia de postura.

Lote	Média	Desvio padrão	Intervalo de Confiança 95%.	
			Limite Inferior	Limite Superior
6	,720	,013	,695	,745
8	,545	,013	,520	,570

Tabela 21: Valores médios globais da taxa de mortalidade acumulada resultante dos testes de “stress” larvar pelo método da salinidade (65 p.p.m.) para cada um dos dois lotes.

A taxa de mortalidade acumulada para o teste de “stress” revela um valor médio mais elevado para o lote 6 com 72% e 55% para o lote 8, apresentando-se as larvas deste último lote mais resistentes, portanto de melhor qualidade (tabela 21). Para o período estudado, verificou-se maior resistência ao teste de “stress”, nos dias iniciais de postura quando comparado com os dias finais de postura, como se pode observar na tabelas 20, 21 e 22.

Dia da Postura	N	Subset			
		1	2	3	4
52	186	,283			
101	186		,475		
85	186		,547		
59	186			,672	
89	186			,677	
80	186			,774	,774
112	186				,790
71	186				,840
Sig.		1,000	,484	,097	,597

Tabela 22: Taxa de mortalidade acumulada. Resultados do teste estatístico no qual apresenta maior resistência das larvas originárias nos dias de postura iniciais, correspondendo à primeira metade do início dos dias do ciclo de posturas.

A Tabela 23 apresenta em resumo a caracterização dos parâmetros físico-químicos mais relevantes no acondicionamento dos lotes de reprodutores de pargo L6 e L8 para o ciclo anual de posturas referente a 2005, o qual foi realizado entre o início do mês de Fevereiro e final de Maio entre os 16,8 e 21,2 °C, temperaturas consideradas ideais para o pleno desenvolvimento embrionário (Radonic *et al.*, 2005).

Parâmetros	Variação anual		Variação no período de posturas	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	16,8	25	18,8	21
Fotoperíodo (horas luz)	9	16	10	13
Oxigénio (mg/l)	5	8	5	7
pH	8	8,6	8	8,6
Salinidade (p.p.m.)	37	39	37	39
Meses de postura			Fevereiro a Maio (115 dias)	
Tipo de Tanques	Rectangulares sem arestas interiores em Concreto e 10m ³ de Volume			
Tipo de iluminação	Artificial			

Tabela 23: Resumo dos parâmetros físico-químicos registados nos lotes 6 e 8 ao longo de um ano.

Destaca-se o facto das posturas espontâneas de pargo registadas no presente estudo se realizarem acima dos 21 °C, valor que não foi observado noutros estudos (Tabela 1). É ainda de realçar a relativa semelhança na duração do ciclo de posturas entre os lotes estando esta intimamente relacionada com as temperaturas. Registaram-se posturas entre o início de Fevereiro e final de Maio, com um total aproximado de 115 dias, tendo as posturas ocorrido entre 16.8 e 21.2°C. A variação de temperatura deste o início dos dias de postura até ao fim das mesmas, foi de 4,4°C, variação esta aproximada à obtida pelos autores Mendes *et al.* (1995) ao efectuarem estudos na Grécia.

A tabela 24 apresenta de forma resumida as características biológicas dos dois lotes de reprodutores.

Caracterização dos Lotes		
	Lote 6	Lote 8
Nº de indivíduos fim da postura	23	31
Nº machos identificados fim da postura por compressão abdominal	4	2
Nº total de ovos produzidos/Kg	326318	480538
Nº total de ovos viáveis produzidos/kg	205064	390117
Nº dias de postura com taxas de viabilidade superiores a 80%	20	67
Idade dos reprodutores (anos)	6	4
Densidades de estabulação início de postura (Kg/m ³)	7,16	3,09
Densidades de estabulação fim de postura (Kg/m ³)	7,69	4,6
Peso médio início de postura (Kg)	2,32	0,9
Peso médio fim de postura (Kg)	2,52	1,42
Comprimento médio fim de postura (cm)	44,2	35,9
Mortalidade	6	0
Nº ovos viáveis/grama	1705 (159)	
Nº ovos viáveis/ml	645 (160)	
Diâmetro do ovo (mm)	1,01 (0,04)	
Diâmetro da gota lipídica (mm)	0,26 (0,02)	
Hora de postura	12:30 - 13:30	

Tabela 24: caracterização dos lotes 6 e 8 quanto a sua idade, peso, comprimento, produção de ovos viáveis e diâmetro do ovo e gota lipídica.

Na tabela resumo 24 convém realçar que o lote 8 apesar de possuir uma densidade de estabulação inferior, foi o lote mais produtivo com um total de 480538 ovos/kg de peso entre os quais 390117 ovos viáveis/Kg de peso, enquanto o lote 6 produziu um total de 326318 ovos/kg de peso sendo 205064 viáveis/kg de peso.

A percentagem de fertilização dos ovos foi elevada, (cerca de 98%) o que revela boas condições de estabulação dos dois lotes, assim como, a proporção entre sexos que fora resultante do autocontrole daquela população para o respectivo tanque.

O início de cada postura diária realizava-se aproximadamente 2 a 3 horas depois da alimentação, que era fornecida num único momento do dia entre as 12:30 e as 13:30, ao longo dos quatro meses do ciclo de postura. Os dois lotes apesar de serem distintos e localizados em tanques separados mantiveram este sincronismo ao longo de todo o ciclo de postura.

11. Discussão

Este trabalho permitiu avaliar a fiabilidade da avaliação da quantidade de ovos viáveis pelo método do volume dos ovos flutuantes na proveta graduada quando comparado com outro método mais moroso para contagem de ovos através da recolha, triagem e contagem de dez amostras de 5 ml (Fernandez-Palacios *et al.*, 1994). O erro de cálculo é de cerca de 4333 ovos por amostra, o que para um universo de 400000 ovos o erro será de 1%. O método de contagem pelo volume de ovos da proveta apresenta-se como uma mais valia na poupança de tempo de trabalho e maneiio, evitando o “stress” mecânico dos ovos.

O lote 6 e o lote 8 são diferentes em idade com 6 e 4 anos respectivamente. Os dois lotes são estatisticamente diferentes quanto ao peso e comprimento, no entanto, têm comportamentos semelhantes quanto à produção do número total de ovos e de ovos viáveis. A qualidade dos lotes estudados foi avaliada pela taxa de viabilidade. Verificou-se melhor qualidade de ovos no lote 8, comprovada pela maior resistência larvar aos testes de “stress” pelo método de salinidade (65 p.p.m.). Segundo Mylonas *et al.*, (2004), consideram ser possível tomar decisões ao nível da incubação de um lote de ovos para produção larvar, com a análise dos indicadores de taxas de eclosão, taxas de viabilidade e taxas de sobrevivência larvar, utilizando-os como indicadores de qualidade. Desta forma não se terá de comportar custos avultados na maternidade evitando comprometer a produção. As posturas de ovos de pargo em cativeiro iniciaram-se nos primeiros dias de Fevereiro e terminam no fim de Março para o ano de 2005, entre as temperaturas 16,8 e 21,2°C e o fotoperíodo de 10h dia/14h escuro a 13h dia/11h escuro.

O número de ovos produzidos por kg de reprodutor obtido neste trabalho foi de 480000 para o lote 8 e de 326000 para o lote, resultados estes, semelhantes aos obtidos por Stephanou *et al.*, (1995) que obtiveram 300000-400000 ovos/kg de peso e Bodington, (2000), obteve 300000-400000 ovos/Kg peso. Watanabe & Kiron (1995) registaram 660000 ovos/kg; Mihelakakis *et al.*, (2001) registaram 770000 ovos /kg. Segundo Kolios *et al.*, (1997), cada fêmea produz 200000 ovos por Kg de fêmea e a percentagem de fertilização foi entre 85 a 95 %. A fecundidade relativa aumenta com o tamanho da fêmea, variando entre 500000-700000 ovos/Kg de peso de fêmea durante o período de posturas (Pavlidis *et al.*, 2001).

As posturas de ovos, foram mais elevadas entre os dias 40 e 75 após o início de postura. A juntar a esta informação importa referir, que ao analisar os testes de “stress” larvar através do método da salinidade, estes revelaram de uma forma geral que são obtidas larvas mais resistentes ao “stress” (portanto larvas de melhor

qualidade) na primeira metade das posturas, verificando-se um decréscimo da resistência larvar à medida que se avança no número de dias de postura (período de postura cerca de 115 dias).

O diâmetro médio dos ovos e da gota lipídica do lote 6 foi de $1012 \pm 396 \mu\text{m}$ e $264 \pm 28 \mu\text{m}$ respectivamente enquanto que para o lote 8 o diâmetro do ovo foi de $1018 \pm 412 \mu\text{m}$ e o diâmetro da gota lipídica $260 \pm 22 \mu\text{m}$. Porém o diâmetro dos ovos e da gota lipídica entre os ovos não é estatisticamente diferente ao longo do período de posturas nem entre os dois lotes, apesar de serem distintos no que respeita ao peso, comprimento e idade. No entanto, refira-se que existe uma correlação positiva entre o tamanho do ovo e da gota lipídica, ou seja quanto maior for o ovo maior será a gota lipídica. Os valores obtidos são semelhantes aos valores de Stephanou *et al.*, (1995), que haviam registado nos ovos de pargo um diâmetro que variava entre 920 a 1050 μm e uma única gota lipídica de 220 a 250 μm de diâmetro. Kentouri *et al.* (1995) e Mihelakakis *et al.*, (2001) também registaram valores aproximados.

Do estudo realizado às análises químicas salienta-se que não se verificou um decréscimo da qualidade dos ovos ao longo do período de posturas, o que revela uma alimentação eficaz dos reprodutores quer em quantidade quer em qualidade. Muir, (1988); Kjorsvik *et al.*, (1990) e Bromage, (1995), referem-se à importância da nutrição, pois esta pode afectar o tamanho e peso da composição do ovo. As restrições alimentares geralmente reduzem a fecundidade total e podem inibir a maturação das gônadas, assim como diminuir a proporção de maduros (Kjorsvik, *et al.*, 1990). O aumento da alimentação aumenta o número total de ovos, no entanto não influencia no seu tamanho, sendo de concluir que a qualidade e quantidade do alimento são factores importantes na viabilidade do ovo (Cuevas, 2003).

A influência dos vários parâmetros físicos e químicos afectaram de forma diferente os lotes 6 e 8, uma vez que eram distintos em peso e comprimento e possuíam idades diferentes, sendo o lote 6 mais velho em cerca de dois anos. Ao realizar-se uma correlação de factores físicos e químicos em relação ao número de ovos viáveis verificou-se que:

- a) existe uma correlação positiva entre o número de ovos viáveis e a relação DHA/EPA para o lote 8;
- b) o lote 8 revela-se mais sensível às variações de parâmetros físicos, temperatura, fotoperíodo e turbidez;
- c) O lote 6 revela maior sensibilidade quanto aos valores de DHA/EPA perante o aumento de fotoperíodo ao longo do período de postura;

- d) O lote 6 apresenta valores de n6 mais elevados quando comparado com o lote 8. No entanto este ácido gordo não é tão determinante para a obtenção de posturas com ovos viáveis de qualidade, como indicam os resultados obtidos quanto às taxas de viabilidade e resistência larvar, que resultaram mais elevadas para o lote 8.

Quanto às taxas de eclosão os valores obtidos foram de 93% para o lote 6 e de 84% para o lote 8. Não se registaram diferenças significativas ao longo dos dias de posturas nem entre os dois lotes. Quanto às taxas de sobrevivência larvar, até à primeira alimentação não se registaram diferenças significativas ao longo dos dias de postura nem entre lotes, obtendo-se 88% para o lote 6 e um valor superior (91%) para o lote 8. Assim, é possível recolher ovos em qualquer momento da postura e de qualquer tanque, independentemente da idade dos reprodutores. Mylonas *et al.*, (2004), obtiveram em dois anos consecutivos taxas de eclosão no valor de 81,6 a 85,5%, taxa de sobrevivência larvar variando entre os 74,5 a 79,3% e a taxa de sobrevivência larvar ao dia 5 (DAE) entre 76,7 a 78,8%. Estes autores registaram uma correlação positiva entre a taxa de viabilidade e a sobrevivência larvar ao primeiro dia, que por sua vez tem correlação positiva significativa com a taxa de eclosão. Do trabalho realizado e comparando com os resultados dos autores acima referidos, foram obtidos valores superiores, como pode ser observado na tabela 16 e 17. Os resultados médios obtidos são indicadores de uma boa qualidade dos ovos e larvas dos dois lotes pois segundo Radonic *et al.*, (2005) uma boa taxa de eclosão deixa antever uma produção de juvenis de elevada qualidade e quantidade. As taxas de eclosão permitem seleccionar posturas de boa qualidade (Radonic *et al.*, 2005). Myolas *et al.*, (2004), definiram que para uma taxa de eclosão com sucesso de 80% corresponde a uma sobrevivência larvar com 1 dia após eclosão de 60%. Ao comparar estes valores de referência com os obtidos neste actual estudo mais uma vez revelam uma produção de ovos viáveis e larvas de boa qualidade o que deixa antever uma boa produção. Durante o estudo o tempo de incubação dos ovos até á eclosão foi de 46 a 48 horas à temperatura de 19 a 20 °C. Estes valores foram semelhantes a Aristizabel & Suárez, (2006).

Deste modo, conclui-se que ambos os lotes tiveram boas prestações apesar de possuírem características diferentes. No entanto, quando as larvas foram submetidas a testes de “stress” larvar, o lote 8 apresentou larvas de maior qualidade, pois estas resistem durante mais tempo ao teste de “stress” pelo método da salinidade.

O pargo é uma espécie abundante localmente o que facilitará o recrutamento de exemplares selvagens para reprodução em cativeiro. Esta espécie possui excelentes

capacidades de adaptabilidade ao cativeiro e às temperaturas existentes no local onde decorreu este estudo (16°C e 25°C). Tem considerável valor económico quer ao nível do mercado local quer a nível internacional. Deste modo o pargo é uma espécie eleita para a produção em aquacultura.

Além dos estudos efectuados existem áreas que merecem ainda um estudo aprofundado, nomeadamente a perda de coloração característica da pele e as elevadas mortalidades na produção intensiva, cujas causas poderão ser atribuídas às alterações dos hábitos alimentares quer em quantidade quer em qualidade, ou mesmo, devido a alterações fisiológicas no metabolismo ocorridas durante esta fase. Segundo Stephanou *et al.*, (1995), é importante ter um controlo rigoroso na transição do alimento a fim de evitar um excesso disponível, assim como, combater o aparecimento de copépodes no período de “desmame”.

Kentouri *et al.*, (1995), defendem que a sincronização das posturas e produção de ovos fora do período normal de posturas pode ser realizada através da manipulação de factores ambientais. Este autor defende ainda que deve ser estudada com mais atenção a gametogénese e o período de inversão sexual sobre os principais factores endócrinos envolvidos na regulação da reprodução e crescimento assim como na sincronização das posturas e produção de ovos fora de época natural, através da manipulação de factores ambientais.

Mylonas *et al.*, (2004), defendem a necessidade de se efectuar mais investigação referente à relação da qualidade dos ovos com a idade e tamanho dos reprodutores, proporção entre sexos e nutrição. Os ovos viáveis com mais de uma gota lipídica são ovos que foram submetidos a “stress” provocado pelo manuseio ou por acção de outros factores físicos. Desta condição resultam, portanto, ovos menos resistentes que quando submetidos a factores que originam novamente “stress” acabam por morrer. Estes ovos chegam a formar embriões e mesmo larvas que são pouco resistentes ao manuseio, acabando por morrer também. Foi possível observar que o aumento do número de ovos com gota lipídica aumenta com o número de dias de postura. Pelo que, numa produção de ovos viáveis contendo, anormalmente ovos com mais de 1 gota lipídica, a sua incubação para produção larvar deverá ser rejeitada.

Ao nível larvar podem ser aplicadas com sucesso as técnicas utilizadas para larvas de dourada na qual o crescimento é satisfatório. No entanto, a taxa de sobrevivência terá que ser melhorada, o que pressupõe um estudo mais aprofundado das necessidades tecnológicas e nutricionais.

12. Conclusões

O presente trabalho permitiu recolher a maior informação possível sobre a biologia e produção do pargo (*Pagrus pagrus*) em cativeiro, espécie esta que será uma mais valia para a indústria de aquacultura.

O recurso à contagem dos ovos de pargo pelo método do volume da proveta é um método eficaz e rápido a ser utilizado nas maternidades, podendo ser substituído pelo método de contagem de ovos através de amostras de 5ml de Fernandez-Palacios *et al.*, (1994).

Uma boa gestão do "stock" de reprodutores para obtenção de posturas de ovos de qualidade é então possível. Do estudo e observando as características dos dois lotes, os ovos de melhor qualidade obtêm-se a partir de lotes mais novos, com densidades mais baixas e com maior dispersão de tamanhos e comprimentos. À semelhança de outras espécies é importante renovar anualmente os lotes com exemplares novos e selvagens.

A avaliação da qualidade dos ovos pode ser realizada através da utilização de métodos de observação e amostragem do número de ovos viáveis, taxas de viabilidade, taxas de eclosão e taxas de sobrevivência larvar nos primeiros dias de vida. O recurso aos testes de "stress" pelo método da salinidade é um método eficaz e sensível para a determinação da qualidade das larvas nos primeiros dias de vida. Deste modo, é possível prever com antecedência a qualidade de uma produção de uma maternidade evitando elevados encargos financeiros sobre aquelas instalações.

O estudo permite também saber qual é a melhor época para escolher os ovos de melhor qualidade para iniciar o ciclo de produção larvar. Neste estudo os ovos de melhor qualidade encontraram-se na primeira metade do período de posturas.

13. Bibliografía

Abellan, E. & Basurco, B., 1999. **TECAM survey on Mediterranean marine fish farming diversification**. In: Abellan and B. Basurco (Ed.). Marine Finfish species Diversification: Current Situation and Prospects in Mediterranean Aquaculture. *Cah. Options Méditerr.* **24**, pp. 27-104.

Alekseev, F.E., 1982. **Hermaphroditism in Sparid Fishes (Perciformes, Sparidae) I. Protogyny in Porgies, *Pagrus pagrus*, *P. orphus*, *P. ehrenbergi* and *P. auriga*, from West Africa**. *J. Ichthyol.*, **22**(5), 85-94.

Alekseev, F.E., 1983. **Hermaphroditism in Porgies (Perciformes, Sparidae). II. Sexual structure of the population's mechanisms of its formation and evolution in scups, *P. pagrus*, *P. orphus*, *P. ehrenbergi*, and *P. auriga***. *Journ. Ichthyol.* **23**(2).

Allen D. D. & Dinis, M.T., 2002. **Marine larval fish production: A nutritional perspective**. *Aqua Feed International*, July-September, pp. 7-11.

Alvarez-Pelletero, P., Sitja-Bobadilla, A. 1993. **Pathology of myxosporea in marine fish culture**. *Dis. Aquat. Org.*, 1993; **17**: 229-238.

Aristizábal, E.O., Müller, M.I., Bambill, G.A., López, A.V., Sabatini, M., Costagliola, M. Incorvaia, S., Vega, A., Carrizo J.C., Manca, E., 1997. **Producción de alimento vivo y cría de besugo, período 1995-1996**. Informe Técnico Interno DNI-INIDEP, **83/1997**, 92 pp.

Aristizabal, E.O., 2003. **Bioenergética en el besugo, *Pagrus pagrus***. Tesis de Doctorado, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina, 145 pp.

Aristizábal, E. O. & Suárez, J., 2006. **Efficiency of co-feeding red porgy (*Pagrus pagrus* L.) larvae with live and compound diet**. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). *Revista de Biología Marina y Oceanografía* **41**(2): 203 – 208, Diciembre de 2006.

Arnaiz, R., Coo, A., Corcobado Oñate, F., Rua, N., Amoedo, F., 1993. **Una hipótesis nutricional de la mortalidad asociada al periodo crítico. órganos y desarrollo larvario de rodaballo_ *Scophthalmus maximus* y dorada_ *Sparus aurata*. Necesidades de DHA.** In: Cerviño, A., Landín, A., Coo, A., Guerra, A., Torre, M._Eds., Actas, IV Congreso Nacional de Acuicultura, Villagarcía de Arosa, Spain, pp. 73–78.

Basurco, B. & Abellán, E., 1999. **Finfish species diversification in the context of the Mediterranean marine fish farming development.** Options Mediterr., Ser. B: Etudes Rech. **24**, 9 – 25.

Baynes, S. M. & Howell, B. R., 1996. **The influence of egg size and incubation temperature on the condition of *Solea solea* (L.) larvae at hatching and first feeding.** Journal of Experimental Marine Biology and Ecology **199**: 59-77.

Beacham, T.; Withler, F. & Morley, R., 1985. **Effect of egg size on incubation time and alevin and fry size in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*).** Canadian Journal Zoology **63**(4): 847-850.

Bedier E, Chatain, B., Coves, D. Weppe, M., 1984. **Contribution a la production intensive de juveniles de dorade *Sparus auratus*.** In: L'aquaculture du bar et des sparidés. Barnabé G & R Billard (eds), pp. 223-236. INRA Publ., Paris.

Bodington, P., 2000. **Enterprise experiences in the culture, CIHEAM.** Options Mediterraneennes, **47**, pp: 135-139.

Booth, M., Warner-Smith, R., Allan, G., Glencross, B., 2004. **Effects of dietary astaxanthin source and light manipulation on the skin colour of Australian snapper *Pagrus auratus* (Bloch and Schneider, 1801).** Aquac. Res. **35**, 458–464.

Boujard T., Gelineau A., Corraze G. (1995). **Time of a single daily meal influences growth performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).** Aquaculture Research **26**, pp 341-349.

Braum E. 1978. **Ecological aspects of the survival of fish eggs, embryos and larvae.** In: Gerking D (ed), pp. 177-252. Ecology of freshwater fish production. Blackwell Science, Oxford.

Brooks, S., Tyler, C.R., Sumpter, J.P., 1997. **Egg quality in fish: What makes a good egg?** Rev. Fish Biol. Fish. **7**, pp 387-416.

Bromage, N. & Cumaranatunga, R., 1988. **Egg production in the rainbow trout.** In Recent Advances in Aquaculture. Eds. J. F. Muir & R. J. Roberts. London. 3: pp 63-138.

Bromage, N.; Jones, J.; Randall, C.; Trush, M.; Davies, B.; Springate, J.; Duston, J. & Barker, G. 1992. **Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).** Aquaculture **100**:141-166.

Bromage, N. R., 1995. **Broodstock management and seed quality – general considerations.** In Bromage, N. R., Roberts, R.J. (Eds), Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell, Oxford, pp. 1 -24.

Bromley PJ & BR Howell. 1983. **Factors influencing the survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximum* L., during the change from live to compound feeds.** Aquaculture **31**: 31-40.

Buckley, L.; Bradley, T. & Allen-Guilmette, J. 2000. **Production, quality, and low temperature incubation of eggs of Atlantic cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus* in captivity.** Journal of the World Aquaculture Society **31**(1): 22-29.

Campbell, P.M., Pottinger, T. G., Sumpter, J.P., 1992. **Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout.** Biol. Reprod. **47**, 1140-1150. Carolinas. PhD Thesis, North Carolina State University, Raleigh.

Canario, A.V.M., M. Pavlidis, C. Mylonas, B. Breton, M. Kentouri, P. Divanach, 1997. **Hormonal spawning induction of *Pagrus pagrus*.** In Proceedings of the 3rd International Symposium on "Research for aquaculture: Fundamental and applied Respects", 18th Annual Conference European Society for Comparative Physiology and Biochemistry, Barcelona (Spain), 24-27 August 1997, p: 50.

Carrillo, M. & Zanuy, S., 1995. **Manipulación de la reproducción de los teleósteos y calidad de las puestas**. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, C.S.I.C., Universidad de Barcelona. España. 450pp.

Carrillo, M., Zanuy, S., Oyen, F., Cerda, J., Navas, J. M., Ramos, J., 2000. **Some criteria of the quality of the progeny as indicators of physiological broodstock fitness**. In: Basurco, B. (Ed), Cahiers Options Méditerranéennes, vol. 47. Mediterranean Marine Aquaculture Finfish Species Diversification. CIHEAM, Zaragoza, Spain, pp 61-74.

Cejas, J., Almansa, E., Tejera, N., Jerez, S., Bolanós, A., Lorenzo, A., 2003. **Effect of dietary supplementation with shrimp on skin pigmentation and lipid composition of red porgy (*Pagrus pagrus*) alevins**. Aquaculture **218**, 457–469.

Cerdá, J; Carrillo, M; Zanuy, S; Ramos, J & De la Higuera, M., 1994. **Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax*. L., reproductive performance and egg and larval quality**. Aquaculture **128**(314):345-361.

Chambers, R.C., W.C. Legget, 1992. **Possible causes and consequences of variation in age and size at metamorphosis in flatfishes (*Pleuronectiformes*): an analysis at the individual, population and species levels**. Neth. J. Sea Res., **29**: 7-24.

Christiansen, R., Torrissen, O.J., 1997. **Effects of dietary astaxanthin supplementation on fertilization and egg survival in Atlantic salmon (*Salmo salar* L)**. Aquaculture **153**, 51-62.

Ciechowski, J. D. & Weiss, G., 1973. **Desove e desarrollo embrionario y larvar de besugo, *Pagrus pagrus* (L.) en el Mar Argentina (*Pisces, Sparidae*)**. Phycis. Secc. A. Oceanus Org. **32**:481-487.

Ciereszco, A. & Dabrowski, K. 1995. **Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C, an across season study**. Biology Reproduction. **52**: 982-988.

Claireaux, G., & J. P. Lagardere. 1999. **Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass.** *Journal of Sea Research*, **42**: 157–168.

Conides, A..J., I. Nengas, S.D. Aoudads, 2000. **Current advances in new marine finfish species aquaculture of the National Centre for Marinem Research (Greece).** CIHEAM-Cahier Options Mediterraneennes, **47**: 365-370.

Conides, A., & B. Glamuzina. 2001. **Study on the effects of rearing density, temperature and salinity on hatching performance of the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758).** *Aquaculture International*, **9**: 217–224

Coo, A., Moscoso, E., Arnaiz, R., Corcobado, O. F., Rua, N., Varela, J.A., López, M., 1993. **Estudio histológico, de crecimiento, mortalidad y desarrollo del aparato digestivo, branquial e hígado, en larvas de rodaballo, sometidas a ayuno y diferentes niveles de deficiencias en HUFAs w3.** In: Cerviño, A., Landín, A., Coo, A., Guerra, A., Torre, M._Eds., Actas. IV Congreso Nacional de Acuicultura, Villagarcía de Arosa, Spain, pp. 79–84.

Cotrina, C.P. and Cousseau, M.B., 1975. **Informe sobre el muestmo bioestadístico de desembarques de pescado en el Puerto de Mar del Plata, Argentina.** Periodo Enero 1972-Diciembre de 1974. Inst. Biol. Mar. Mar del Plata, Argentina.

Crook, A.C., 1997. **Colour patterns in a coral reef fish is background complexity important?** *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **217**, 237–252.

Cuevas, Patricia Gallegos, 2003. **Estudio comparativo de los parametros reproductivos hembras de puye (*Galaxias maculatus*, Jenys, 1842) silvetres y de cultivo experimental (F1).** Tesis de grado presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Licenciado en Cs. de la Acuicultura. Universidad Católica de Temuco – Escuela de Acuicultura. Temuco, 2003.

Dabrowski, K & Blom, JH. 1994. **Ascorbic acid deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and survival of embryos.** *Comparative Biochemistry and Physiology*, A. (1) **108**: 129-135.

Dhert, P., Lavens, P., Sorgeloos, P., 1992a. **A simple test for quality evaluation of culture fry of marine fish**. University of Gent 2136-2142 pp.

Dhert, P., Lavens, P., Sorgeloos, P., 1992b. **Stress evaluation: a tool for quality control of hatchery-produced shrimp and fish fry**. Aquaculture Europe 17: 6-10.

Diamant, A., Lom, J., Dykova, I 1994. ***Myxidium leei* n. sp. A pathogenic myxosporean of cultured sea bream *Sparus aurata***. Dis. Aquat. Org., 1994; 20: 137-141.

Dias, R.K., Dias, W.D. & Anderson, W.D., 1972. **Relationships of lengths and lengths (standard, fork and total) to weight in the red porgy, *Pagrus sedecim* (*Perciformes, Sparidae*), caught off South Carolina**. Trans. Am. Fish. Soc., 101: 503-506.

Divanach, P., M. Kentouri, G. Charalambakis, F. Pouget, and A. Sterioti. 1993. **Comparison of growth performance of six Mediterranean fish species reared under intensive farming conditions in Crete Greece, in raceways with the use of self feeders**. In: Barnabe, G., Kestemont, P. Eds. Production, Environment and Quality. Bordeaux Aquaculture '92. European Aquaculture Society Special Publication No. 18 Ghent, Belgium, pp. 285–297.

Duray, M.N., Estudillo, C.B., Alpasan, L.G., 1996. **The effect of background colour and rotifer density on rotifer intake, growth and survival of grouper (*Epinephelus suillus*) larvae**. Aquaculture 146, 217– 224.

Fernandez-Palacios, H., Montero, D., Socorro, J., Izquierdo, M. S., 1994. **First Studies on spawning, embryonic and larval development of *Dentex gibbosus* (Rafinesque, 1810) (*Osteichthyes, Sparidae*) under controlled conditions**. Aquaculture 122: 63-73.

Fernandez-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Salhi, M., Vergara, J.M., 1995. **Effect of *ny3* HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.)**. Aquaculture 132, 325–337.

Fernández-Palacios, H.; Izquierdo, M.; Robaina, L.; Valencia. A.; Salí, M. y Montero, D. 1997.**The effect of dietary protein and lipid from squid and fish meals on egg**

quality of broodstock for Gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture. **148**:233-246.

Fernando, C. H. & Hanek, C., 1976, Gills. **Ecological aspects of Parasitology.** In: C. R. Kennedy (ed.). North-Holland Publishing Company, Amsterdam, pp. 209-226.

Fostier, A., Le Bail, P.Y., Breton, B., Kentouri, M. Divanach, P., Pavlidis, M. Kokokiris, L. Canário, A., Menn, F., 1996. **Sexual cycles and growth performance in the common sea-bream, *Pagrus pagrus*, in rearing conditions : applications to spawners breeding and a spawning induction.** AIR 2-CT93-1589, Final Report, pp 196.

Fostier A.; Mourot B.; Kokokiris L.; Le Menn F.; Pavlidis M.; Divanach P.; Kentouri M., 1999. **Recent advances in reproductional aspects of *Pagrus pagrus*.** In . *Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification* . Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 2000. p. 181-192

Foscarini, R., 1988. **A review: intensive farming procedure for red sea bream (*Pagrus major*) in Japan.** Aquaculture **72**, 193–240.

Fowler, H.W. (1936). **The marine fishes of West African based on the collection of the American Museum Congo Expedition, 1909-1915.** *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, **70**: 607-1 493.

Furuita H, H Tanaka, T Yamamoto, M Shiraishi & M Takeuchi. 2000. **Effects of n-3 HUFA levels in broodstock diet on the reproductive performance and egg and larval quality of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*.** Aquaculture **187**: 387–398.

Gisbert, E., Williot, P. & Castelló-Orvay, F., 2000. **Influence of egg size on growth and survival of early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) under small scale hatchery conditions.** Aquaculture **183**: 83-94.

Golomazou, E., Athanassopoulou, F., Vagianou, S., Sabatakou, O., Tsantilas, H., Rigos, G., Kokkokiris, L. 2006. **Diseases of White Sea Bream (*Diplodus sargus* L.) Reared in Experimental and Commercial Conditions in Greece.** Turk. J. Vet. Anim. Sci.**30**: 389-396.

Hattori M, Y. Sawada, N. Sudou, M. Seoka, N. Hattori, S. Miyashita, O. Murata & H. Kumai, 2004. **Oxygen consumption during embryonic development in red sea bream (*Pagrus major*)**. *Suisanzoshoku* **52** (1): 17-22.

Healey, E.G., 1999. **The skin pattern of young plaice and its rapid modification in response to graded changes in background tint and pattern**. *J. Fish Biol.* **55**, 937–971.

Hernández-Cruz, C. M., Salhi, M., Bessonart, M., Izquierdo, M.S., González M.M. & Fernández-Palacios, H., 1999. **Rearing techniques for red porgy (*Pagrus pagrus*) during larval development**. *Aquaculture* **179**: 489-497.

Herzig, A. & Winkler, J. 1986. **The influence of temperature on the embryonic development of three cyprinid fishes, *Abramis brama*, *Chalcalburnus chalcoides mento* and *Vimba vimba***. *Journal Fish Biology* **28**: 171-181.

Hood, P. B., Johnson, A. K. (2000). **Age, growth, mortality, and reproduction of red porgy, *Pagrus pagrus*, from the eastern Gulf of Mexico**. *Fishery bulletin* (Washington, D.C.), **98**(4), 723-735.

Izquierdo, M.S., Socorro, J., Arantzamendi, L., Hernandez-Cruz, C.M., 1999. **The interaction between lipid nutrition, fatty acid metabolism and growth in marine fish**. *Fish Physiol. Biochem.*, in press.

Izquierdo, M., Fernández-Palacios, H. & Tacon, A. 2001. **Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish**. *Aquaculture* **197**: 25-42.

Jones, A. (1972). **Marine fish farming: An examination of the factors to be considered in the choice of the species**. Laboratory leaflet **Nº 24**, Fisheries Laboratory Lowestoft, 16pp.

Jug-Dujacovic, J. and Glamuzina, B., 1988. **Preliminary studies of reproduction and early life history of *Diplodus vulgaris* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1817) in captivity**. *Aquaculture*, **69**:367-377.

Kanazawa A, S Koshio & S Teshima. 1989. **Growth and survival of larval red sea bream *Pagrus major* and Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed microbond diets.** Journal of the World Aquaculture Society, 20(2): 31-37.

Kentouri, M., O'Neil, D., Divanach, P. & Charalabakis, G., 1994. **A study of the quantitative water requirements of red porgies *Pagrus pagrus* L. (*Pisces, Sparidae*), during early on growing under self-feeding conditions.** *Aquaculture and Fisheries Management* **25**, 741–752.

Kentouri M., Pavlidis, M., Papandroulakis, N. & Divanach, P., 1995. **Culture of the red porgy, *Pagrus pagrus*, in Crete. Present knowledge, problems and perspectives.** Workshop on Diversification in Aquaculture, Cyprus, Cahier Options Mediterranee **16**: 65-78.

Kinne, O. & Kinne, E. M., 1962. **Rates of development in embryos of cyprinodont fish exposed to different temperature-salinity-oxygen combinations.** Can. J. Zool. **40**: 231-253.

Kjørsvik, E., Mangor-Jensen, A. & Holmefjord, I., 1990. **Egg quality in fishes.** *Advances in Marine Biology* **26**: 71-113.

Kjørsvik E. 1994. **Egg quality in wild and broodstock cod *Gadus morhua* L.** Journal of the World Aquaculture Society **25**: 22-29.

Kjørsvik E., Hoehne-Reitan, K. & Reitan, K., 2003. **Egg and larval quality criteria as predictive measures for juvenile production in turbot (*Scophthalmus maximus* L.).** *Aquaculture* **227**: 9-20.

Klaudatus, S. & Apostolopoulos, I., 1986. **Experimental results of the reproduction and cultivation of the euryhaline fish, *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*, under controlled conditions.** Proceedings of the 3rd Panhellenic Congress Oceanography and Fisheries, May 23-25, 55-64.

Klaudatus, S., Tsevis N. and Conides, 1990. **Energy sources during early larval development of the European Sea Bass, *Dicentrarchus labrax* (L.).** *Aquaculture*, **87**:361-372.

Kohno, H., Hara, S. & Taki, Y., 1986. **Early larval development of the sea bass *Lates calcarifer* with emphasis on the transition of energy sources.** Bull. Japan Soc. Sci. Fish., 52 (10) 1719 – 1725.

Kokokiris, L., 1998. **The reproductive cycle and hermaphrodite pattern in *Pagrus pagrus*.** PhD thesis, University of Crete, 219 pp.

Kokokiris, L., Bruslé, S., Kentouri, M., Fostier, A., 1999. **Sexual maturity and hermaphroditism of the red porgy *Pagrus pagrus* (Teleostei, Sparidae).** Marine Biology, 134: 621-629.

Kolios P., Kiritsis, S. & Katribusas, N., 1997. **Larval-rearing and growout of the red porgy (*Pagrus pagrus*) in the Riopesca hatchery (Greece).** Hydrobiologia 358: 321-325. Kolkovski S. 2001. **Digestive enzymes in fish larvae and juveniles - implications and applications to formulated diets.** Aquaculture 200: 181-201.

Koven, W., Tandler, A., Sklan, D., Kissil, G., 1993. **The association of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in the phospholipids of different age *Sparus aurata* larvae with growth.** Aquaculture 116: 71–82.

Labropoulou, M., Machias, A., Tsimenides, N., 1999. **Habitat selection and diet of juvenile red porgy, *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758).** Fish. Bull. 97: 495– 507.

Lahnsteiner, F., & Pataenello, P., 2004a. **Egg quality determination in the gilthead seabream (*Sparus aurata*), with biochemical parameters.** Aquaculture, 237: 443-459.

Lahnsteiner, F., & Pataenello, P., 2004b. **Biochemical egg quality determination in the gilthead seabream (*Sparus aurata*): reproducibility of the method and its application for sharpnose seabream (*Puntazzo puntazzo*).** Aquaculture, 237: 433-442.

Laurence, G., 1975. **Laboratory growth and metabolism of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* from hatching through metamorphosis at three temperatures.** Mar. Bio., 32: 223-229

Lazo J., 2000. **Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos.** In: Cruz-Suárez L., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar, M., Olivera-Novoa M. & Civera-Cerecedo, R. (eds), Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 19-22, México, pp. 300-312.

Le-Breton, A. & Marques, A. 1995. **Occurrence of an histozoic *Myxidium* in two marine cultured species: *Puntazzo puntazzo* and *Pagrus major*.** Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 1995; **15**: 210-212.

Lozano, I., Caldentey, M., Gonzalez, J., Carrillo, J. & Santana, J., 1990. **Taha de primera madurez sexual de seis esparidos de interés pesquero en Canarias.** Inf. Tee. Inst. Esp. Oceanogr. **84**: 39 pp.

Machias, A. Tsimenides, N., Kokokiris, L., Divanach, P., 1998. **Ring formation on otoliths and scales of *Pagrus pagrus*: a comparative study.** Journal of Fish Biology (1998) **52**: 350–361.

Machinandiarena, L., Müller, M. & López, A., 2003. **Early life stages of development of the red porgy *Pagrus pagrus* (Pisces, Sparidae) in captivity, Argentina.** Investigaciones Marinas, Valparaíso **31** (1): 5-13.

Manooch III, C., 1975. **A study of the taxonomy, exploitation, life history, ecology and tagging of the red porgy, *Pagrus pagrus* Linnaeus of the Carolinas.** PhD Thesis, North Carolina State University, Raleigh.

Manooch III, C., 1976. **Reproductive cycle, fecundity and sex ratio of the red porgy, *Pagrus pagrus* (Pisces, Sparidae) in North Carolina.** Fisheries Bulletin 74: 775-781.

Manooch III, C., Huntsman, G., Sullivan, B. & Elliot, J., 1977. **Conspecific status of the sparid fishes *Pagrus sedecium*, Ginsburg and *Pagrus pagrus*, Linnaeus.** Copeia, **4**: 678-684.

Manooch III, C., & Huntsman, G., 1977. **Age, growth and mortality of the red porgy, *Pagrus pagrus*.** Trans. Am. Fish. Soc., **106**: 26-33.

Manooch III, C.S. and Hassler, W.W., 1978. **Synopsis of biological data on the red porgy, *Pagrus pagrus* (Linnaeus)**. NOAA Tech. Rep. NMFS Circ., **412**: 1-19.

Manooch III, C., Abbas, L. and Ross, J., 1981. **A biological and economic analysis of the North Carolina charter boat fishery**. Mar. Fish. Rev., **43**: 1-11.

Maragoudaki, D., Paspatis, M., & Kentouri, M., 1999. **Influence of stocking density of juvenile red porgy (*Pagrus pagrus*) under different feeding conditions**. Aquaculture Research **30**: 501-508.

Marangos C, H Yagi & HJ Ceccaldi. 1986. **Rôle de la température et de la salinité sur le taux de survie et la morphogenèse au cours du développement embryonnaire chez les oeufs du loup de mer *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) (*Pisces, Teleostei, Serranidae*)**. Aquaculture **54**: 287-300.

Marzouk C.N.,Kartas F., 1987. **Denture et regime alimentaire des espèces du genre *Pagrus* (*Pisces, Sparidae*) des cotes Tunisiennes**. Cybium I 1 (1) : 3-19.

Mendez, E., Anastasiadis, P., Kentouri, M., Pavlidis, M. and Divanach, P.,(1995). **Preleminary data on spawning activity of five Mediterranean teleostspecies kept in captivity, in Crete (Greece)**. In Actas del VI Congreso Nacional de Aquicultura, Universitat de Barcelona, Castelló i Orvay, F. and Calderer i Reig, A. (eds.), pp. 398-403.

Mihelakakis, A., & Yoshimatsu, T., 1998. **Effects of salinity and temperature on incubation period, hatching rate and morphogenesis of the red sea bream**. Aquaculture International, **6**:171–177.

Mihelakakis A., Yoshimatsu T. & Tsoikas, T., 2001. **Spawning in captivity and early life history of cultured red porgy, *Pagrus pagrus***. Aquaculture **199**: 333-352.

Moran, J., Whitaker, D., Kent, M., 1999. **A review of the myxosporean genus *Kudoa* Meglitsch, 1947, and its impact on the international aquaculture industry and commercial fisheries**. Aquaculture, 1999; **172**: 163-195.

Mourente, G. & Tocher, D., 1992. **Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid_{22:6n3} levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus*, L.)**. *Aquaculture* **105**: 363-377.

Mourente, G., Rodríguez, A., Tocher, D., Sargent, J., 1993. **Effects of dietary docosahexaenoic acid_{DHA}; 22:6n3, on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*, L.) larvae during first feeding**. *Aquaculture* **112**: 79-98.

Muir, J., & Young, J., (1998). **Strategic issues in new species development for aquaculture**. In: Proc. XXXIII Int. Synp. On New Species for Mediterranean Aquaculture, Enne, G. and Greppi, G.F. (eds), Alghero (Italy), 22-24 April. Elsevier, Paris, pp. 85-96.

Mylonas C., Papadaki, M., Pavlidis, M., & Divanach, P., 2004. **Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons**. *Aquaculture* **232**: 637-649.

Nelson, R., 1988. **A study of the life history, ecology, and population dynamics of four sympatric reef predators (*Rhomboplites aurorubens*, *Lutjanus ampechanus*, *Lutjanidae*; *Haemulon melanurum*, *Haemulidae*; and *Pagrus pagrus*, *Sparidae*) on the east and west Flower Garden Banks, northwestern Gulf of Mexico**. Ph.D. diss., North Carolina State Univ., Raleigh, NC, 197 pp.

Olivier, G., 1982. **Quelques aspects de la spécificité parasitaire chez les *Diplectanidae* Bychowsky, 1957 (*Monogenea*, *Monopisthocotylea*)**. *Mem. Mus. Natl. Hist. Nat.*, Paris, v. **123**, p. 295-300.

Özden, O., Büke, E., Firat, K.Saka, S., 2005. **Culture of red porgy (*Pagrus pagrus*)**. (1st ed.), Published by Ministry of Agriculture and Rural Affairs, General Directorate of Agricultural Production and Development, Ankara, 72pp.

Pajuelo, J. & Lorenzo, J., 1996. **Life history of the red porgy *Pagrus pagrus* (*Teleostei*, *Sparidae*) off the Canary Islands, central east Atlantic**. *Fish. Res.* **28**: 163- 177.

Papandroulakis, N., Divanach, P., Anastasiadis, P., Kentouri, M., 2001. **The pseudo-green water technique for intensive rearing of sea bream (*Sparus aurata*) larvae.** Aqua. Int., **9**: 205-216.

Papandroulakis, N., Moroudio, K., Divanach, P., 2004. **Biological performance of red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae under intensive rearing conditions with the use of an automated feeding system.** Aqua. Int., **12**: 191-203.

Paperna, I., 1982. ***Kudoa* infection in the glomeruli, mesentery and peritoneum of cultured *Sparus aurata*, L.** J. Fish Dis., **5**:539-543.

Papoutsoglou, S., Mylonakis, G., Miliou, H., Karakatsouli, N., Chadio, S., 2000. **Effects of background colour on growth performances and physiological responses of scaled carp (*Cyprinus carpio*, L.) reared in a close circulating system.** Aquac. Eng. **22**, 300– 318.

Paraguassú, A. , Lique, J. & Alves, D., 2002, **Community ecology of the metazoan parasites of red porgy, *Pagrus pagrus* (L., 1758) (*Osteichthyes, Sparidae*), from the coastal zone of the state of Rio de Janeiro, Brazil.** *Acta Scient.*, **24**: 461-467.

Pavlidis M., Kokokiris L., Papandroulakis N., Divanach P., Fostier A. & Kentouri M., 2001. **Intensive culture of red porgy, in the Mediterranean: biological background and technological status.** Workshop on New Species for Aquaculture. Center of Marine Sciences (CCMAR), University of Algarve, Aquaculture Research Group, Faro, Portugal.

Person Le Ruyet, J., Alexandre, J., Thebaud, L. & Mugnier, C., 1993. **Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey?** Jour. W. Aqua. Soc. **24**: 211-224.

Policansky, D., 1982. **Influence of age, size and temperature on metamorphosis in the starry flounder, *Platichhys stellatus*.** Canadian J. Fish. Aquat. Sci., **39**: 514-517.

Polo, A., Yufera, M. & Pascual, E., 1991. **Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata*, L.** European Aquaculture Society Special Publication, Bredene, Belgium, **10**: pp. 207-208.

Qun Lin, M., Ushio, H., Ohshima, T., Yamanaka, H., Koizumi, C., 1998. **Skin color control of the red sea bream (*Pagrus major*)**. Lebensm-Wiess Technol. **31**, 27–32.

Radonic, M., López, A., Oka, M., Aristizábal A., 2005. **Effect of the incubation temperature on the embryonic development and hatching time of eggs of the red porgy *Pagrus pagrus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Sparidae)**. Revista de biología marina y oceanografía, **40**(2): 91-99.

Rana, K., 1990. **Influence of incubation temperature on *Oreochromis niloticus* (L.) eggs and fry. I. Gross embryology, temperature tolerance and rates of embryonic development**. Aquaculture **87**: 165-181.

Ranzi, S., 1969. ***Sparidae* - eggs, larvae and juvenile stages of teleostei**. In: **Fauna and Flora of the Bay of Naples**. Parts I-II. S. Lo Bianco (Editor). ISRAWL Program Scientist Translation, Monogr. **No. 38**, Jerusalem, 417 pp.

Rigos, G., Christophologiannis, P., Yiagnisi, M., Andriopoulou, A., Koutsodimou, M., Nengas, I., Alexis, M., 1999. **Myxosporean infections in Greek mariculture**. Aquacult. Int., **7**: 361-364.

Roo F., Socorro, J., Izquierdo, M., Caballero, M., Hernández-Cruz, C., Fernández, A. & Fernández-Palacios, H., 1999. **Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits**. Aquaculture **179**: 499-512.

Rotllant, J., Tort, L., Montero, D., Pavlidis, M., Martinez, M., Wendelaar Bonga, S.E., Balm, P.H.M., 2003. **Background colour influence on the stress response in cultured red porgy *Pagrus pagrus***. Aquaculture **223**: 129-139.

Saka, Ş., Firat, K., Kamacı, O., Büke, E., 2005. **The effect of temperature on embryonic development of the red porgy (*Pagrus pagrus*) eggs**, Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, in press.

Sakai, K., Nomura, M., Takashima, F., 1985. **Characteristics of naturally spawned eggs of red sea bream**. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. **51**: 1395-1399.

Sandnes, K.; Ulgenes, Y.; Braekkan, O. & Utne, F. 1984. **The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of rainbow trout (*Salmo gairdneri*)**. Aquaculture **43**:167-177.

Sargent J., McEvoy L. & Bell, J., 1997. **Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds**. Aquaculture **155**: 117-128.

Schuchardt, D., Vergara, J.M., Robaina, L., Montero, D., 2000. **The effects of varying dietary protein and lipid levels on growth, feed efficiency, protein utilization and body composition of red porgy fingerlings**. The Ninth Intern. Symp. on Nutrition and Feeding in Fish 2000, Miyasaki, JAPAN, 91pp.

Shields R., Brown, P. & Bromage N., 1997. **Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability**. Aquaculture **155**: 1-12.

Shimma, H. & Tsujigado, A., 1981. **Some biochemical qualities of brood scorpenoid fish, *Sebastiscus marmoratus*, and activities of their larvae**. Bulletin of National Research Institute of Aquaculture **2**: 11-20.

Stephanou, D., Georgiou, G. & Shoukri, E., 1995. **Reproduction and larval rearing of the common sea bream (*Pagrus pagrus*), an experimental culture**. Workshop on Diversification in Aquaculture, Cyprus, Cahier Options Mediterranee **16**: 79-87.

Springate, J. & Bromage, N. 1984. **Broodstock management husbandry and the ripening of eggs**. Fish Farmer **7**(3): 22-23.

Sugimoto, M., 1993. **Morphological colour changes in the medaka *Oryzias latipes*, after prolonged background adaptation: I. Changes in the population and morphology of the melanophores**. Comp. Biochem. Physiol. A **104**: 513-518.

Suquet M.; Quemener L.; Gaignon J.L.; Divanach P., 2002 . **Criteria for cost-effective diversification for European finfish mariculture**. In: *Seafood market studies for the introduction of new aquaculture products* . Paquotte P. (ed.), Mariojouis C. (ed.), Young J. (ed.). Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 2002. 119-128 pp.

Tandler, A., Helps, S., 1985. **The effect of photoperiod and water exchange rate on growth and survival of gilthead seabream_ *Sparus aurata*, Linnaeus, Sparidae from hatching to metamorphosis in mass rearing systems.** *Aquaculture* **48**, 71–82.

Tandler, A., Harel, M., Wilks, M., Levinson, A., Brickell, L., Christie, S., Avital, E., Barr, Y., 1989. **Effect of environmental temperature on survival, growth and population structure in mass rearing of gilthead seabream, *Sparus aurata*.** *Aquaculture* **78**, 277–284.

Timóteo, V., Andrade, C., Gouveia N., Gomes, J., 2001. **Gestão de Reprodutores – Adaptação de Peixes Selvagens ao Cativeiro.** XI Congresso de Zootecnia – “A Zootecnia nas Regiões da União Europeia” – Desenvolvimento e Ciência – Ilha da Madeira, 15 a 17 Novembro de 2001.

Timóteo, V., Andrade, C., Gouveia N., Gomes J., Pontes, E. Nascimento, F., 2003. **Effect of high suspended solids and human handling on egg quality and production from two sparid fish: *Sparus aurata* and *Pagrus pagrus*.** II International Symposium Island Ecosystems, Outubro 2003, Funchal.

Tsukuda, N., 1972. **Studies on the discoloration of fishes.** Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. **No 70**.

Vassilopoulou, V., 1989. **Some biological parameters of red porgy (*Pagrus pagrus*) in the Kastellorizo area.** *FAO Fisheries Report* **412**: 108–115.

Vassilopoulou, V. & Papaconstantinou, C., 1992. **Age, growth and mortality of the red porgy, *Pagrus pagrus*, in the eastern Mediterranean Sea (Dodecanese, Greece).** *Vie et Millieu* **42**: 51–55.

Voughan, D., Huntsman, G., Manno III, C., Rhode, F., Ulrich, G., 1992. **Population Characteristics of the Red Porgy, *Pagrus pagrus*, Stock off the Carolinas.** *Bulletin of Marine Science*, **50** (1): 1-20.

Wallace, J. & Heggberget T., 1988. **Incubation of eggs of Atlantic salmon (*Salmo salar*) from different Norwegian streams at temperatures below 1°C.** *Canadian Journal of Fishery Aquatic Science* **45**: 193-196.

Walker, E.T., 1950. **Spawning records of fishes seldom reported from North Carolina waters.** Copeia, 1950: 319.

Watanabe, T., Tamiya, T., Oka, A., Hirata, M., Kitajima, C., Fujita, S., 1983. **Improvement of dietary value of live foods for fish larvae by feeding them v3 highly unsaturated fatty acids and fat soluble vitamins.** Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. **49**: 471-479.

Watanabe, T., Takeuchi, T., Saito, M. & Nishimura, K., 1984a. **Effect of low protein-high calorie or essential fatty acid deficiency diet on reproduction of rainbow trout.** Bull. JPN. Soc. Fish. **50**: 1207-1215.

Watanabe, T., Arakawa, T., Kitajima C., & Fujita S., 1984b. **Effect of nutritional quality of broodstock diet on reproduction of red sea bream.** Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries **50** (3): 495-501.

Watanabe, T., Izquierdo, M., Takeuchi, T., Satoh, S., Kitajima, C., 1989. **Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream.** Nippon Suisan Gakkaishi **55**: 1635–1640.

Watanabe, T., Lee, M., Mizutani, J., Yamada, T., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T., Arakawa, T., 1991. **Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream (*Pagrus major*) eggs.** Nippon Suisan Gakkaishi **57** (4): 681-694.

Watanabe, T. & Kiron, V. 1995. **Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream (*Pagrus major*).** In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Eds. Bromage, N. & Roberts, R. J. Editorial Blackwell Science. 424 pp.

Woynarovich, E. & Horvath, L., 1980. **The artificial propagation of warm-water finfishes. A manual for extension.** FAO Fishery Technical Paper 201:183 pp.

www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.

Zar, J.H., 1999. Biostatistical Analysis, (4th ed.) Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. 663 pp.

Zohar, Y., Harel, M., Hassin, S., Tandler, A., 1995. **Broodstock management and manipulation of spawning in the gilthead seabream, *Sparus aurata***. In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Sci. Press. (N. Bromage and R.J. Roberts, eds.) London. 94-117pp.

Zohar, Y., Mylonas, C., 2001. **Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes**. Aquaculture, **197**: 99-136.