

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA

**BIOLOGIA REPRODUTIVA, DETERMINAÇÃO DE
ESTRUTURA ETÁRIA E CRESCIMENTO DA
GAROUPA-VERDADEIRA *Epinephelus marginatus*
(Lowe, 1834) EM FUNDOS ROCHOSOS NO
EXTREMO SUL DO BRASIL**

MARIO VINICIUS CONDINI

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Oceanografia Biológica
da Universidade Federal do Rio Grande,
como requisito parcial à obtenção do título
de MESTRE.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Miranda Garcia

**RIO GRANDE
Dezembro 2012**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Prof. Dr. Alexandre Miranda Garcia pela confiança depositada em mim para a execução desse trabalho e por sua orientação. Ao amigo Garcia por esses quase 10 anos de ótimo convívio. Realmente, muito obrigado.

Ao Profs. Dr. Gonzalo Velasco (FURG), Dr. Luis Romano (FURG) e Dra. Beatrice Padovani Ferreira (UFPE) pelas colaborações científicas imprescindíveis nas abordagens apresentadas neste trabalho, e agradeço também pela disponibilidade em compor minha banca de mestrado.

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado, e a Fundação O Boticário de Proteção à Natureza (0753-20072 e 0831-20092).

A toda equipe do Laboratório de Ictiologia, inclusive todo o pessoal que já está longe, obrigado pelos momentos memoráveis, pelos churrascos, conversas no café (leia-se chimarrão), idéias, sugestões e críticas... Com certeza cada um contribuiu um pouco, ou muito para a realização de trabalho. Obrigado pelo apoio pessoal.

Agradecimento especial a toda minha família. Obrigado por todo amor, apoio, suporte, amizade e confiança incondicional.

ÍNDICE

RESUMO	01
ABSTRACT	03
I. INTRODUÇÃO GERAL	05
I.1. Objetivos	10
II. CAPÍTULO 1: Determinação de idade e análise do crescimento da garoupa-verdadeira (<i>Epinephelus marginatus</i>) no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste	11
Introdução	12
Material e Métodos	15
Resultados	20
Discussão	23
Conclusão	33
Tabelas	35
Figuras	38
III. CAPÍTULO 2: Biologia reprodutiva da garoupa-verdadeira (<i>Epinephelus marginatus</i>) no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste	45
Introdução	46
Material e Métodos	49
Resultados	51
Discussão	53
Conclusão	61

Tabelas	62
Figuras	64
IV. APÊNDICE I: First record of the dusky grouper <i>Epinephelus marginatus</i> [Actinopterygii: Epinephelidae] undergoing sexual transition in the Western Atlantic	72
V. APÊNDICE II: Age and growth of dusky grouper <i>Epinephelus marginatus</i> from its southernmost population in Southwestern Atlantic, with a size comparison between offshore and littoral habitats	84
VI. REFERÊNCIAS CITADAS	115

RESUMO

A presente dissertação trata da biologia reprodutiva, estrutura etária e crescimento da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* no Parcel do Carpinteiro (PC), um elevado de fundo rochoso entre 15 e 25 m de profundidade, a cerca de 16 milhas náuticas a sudeste da desembocadura da Lagoa dos Patos (Rio Grande, RS), no limite austral da distribuição da espécie no Atlântico Sudoeste (32°16'S; 051°47'O). A espécie é classificada como em perigo de extinção (EN) pela União Internacional de Conservação a Natureza ("International Union for Conservation of Nature" - IUCN) e como sobre-explotada pelo IBAMA (Instrução Normativa Interministerial nº 5, 2004). Portanto, informações sobre a sua biologia são cruciais no esforço de minimizar os impactos da crescente pressão pesqueira, e como subsídios aos planos de conservação da espécie. Um total de 201 exemplares de garoupa-verdadeira foram adquiridos junto a frota pesqueira de Rio Grande entre janeiro de 2008 e abril de 2011. Em laboratório, os indivíduos foram medidos e pesados, as gônadas foram extraídas, pesadas e fixadas, assim como foram extraídos o par de otólitos *sagittae* para determinação da idade. O estágio gonadal dos indivíduos e o comprimento médio de primeira maturação (L50) das fêmeas foram determinados com base nas análises microscópicas das gônadas. A partir dessas informações foi constatado que o período reprodutivo da garoupa-verdadeira no extremo sul do Brasil ocorre durante o final da primavera e início do verão, com seu pico reprodutivo em dezembro. O comprimento médio de primeira maturação (L50) para a população estudada foi estimado em 496 mm. A formação anual dos anéis de crescimento nos indivíduos analisados foi validada com base na análise da frequência de bandas opacas e translúcidas na borda dos otólitos ao longo

do ano e pela variação anual do incremento marginal. A idade máxima estimada para a espécie na área de estudo foi de 40 anos, sendo que a média da idade dos indivíduos coletados foi de 7,4 anos. Os parâmetros da equação de von Bertalanffy foram: $L_{\infty} = 888,2$ mm, $K = 0,133$ e $T_0 = -0,96$. Conclui-se que o PC representa uma importante área de reprodução e crescimento da garoupa-verdadeira no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste.

Palavras chaves: Espécie ameaçada de extinção, período reprodutivo, otólito, Parcel do Carpinteiro.

ABSTRACT

This dissertation deals with the reproductive biology, age structure and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* in the Carpinteiro Seamount (PC), a rocky bottom between 15 and 25 m deep, situated about 16 nautical miles southeast of the mouth of Patos Lagoon estuary (Rio Grande, RS), at the southern limit of the species in the Southwest Atlantic (32°16'S; 051°47'W). The species is listed as endangered by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) and overexploited by IBAMA (Instruction Normative nº 5, 2004). Therefore, information about your biology is crucial in order to minimize the impacts due to the increased fishing pressure and to subsidize conservation plans for the species. A total of 201 individuals of dusky grouper were acquired by a commercial fishing fleet from the Rio Grande between January 2008 and April 2011. In the laboratory, all individuals were measured and weighted, their gonads extracted, weighted and fixed, and the pair of *sagittae* otoliths were also extracted for age determination. The gonadal stage of the individuals and the length at first sexual maturity (L50) of females was determined based on microscopic analysis of the gonads. This information allowed the determination of the reproductive season of the dusky grouper in southern Brazil, which was found to occur during late spring and early summer, with spawning peaks in December. The length at first sexual maturity (L50) for the population studied was 496 mm. The validation of the annual formation of growth rings in the individuals was based on the frequency analysis of opaque and translucent bands of otolith edges along the year and the annual variation of the marginal increment. The maximum estimated age for the species in the study area was 40 years, and the average age of individuals collected was 7.4 years. The von

Bertalanffy growth parameters were: $L_{\infty} = 888.2$ mm, $K = 0.133$ and $T_0 = -0.96$. In conclusion, we found that the PC is an important reproduction and growth area for the dusky grouper in the austral limit of its distribution in the Southwest Atlantic.

Key words: Endangered species, spawning season, otolith, Carpinteiro Seamount.

Palavras chaves: Espécie ameaçada de extinção, período reprodutivo, otólito, Parcel do Carpinteiro.

I. INTRODUÇÃO GERAL

Em estudo recente, Smith e Craig (2007) concluíram que a família Serranidae (sensu Nelson, 2006) era um grupo polifilético, onde as garoupas e afins (Sub-família Epinephelinae) estariam separadas das demais espécies das Sub-famílias Anthiinae e Serraninae, que juntas formam a nova família Serranidae, sendo essa agora monofilética. Com isso, a Sub-família Epinephelinae foi elevada a família Epinephelidae. Essas famílias redefinidas incluem aproximadamente 160 (Epinephelidae) e 245 (Serranidae) espécies. Dentre as espécies da família Epinephelidae, diversas dessas ocorrem em ambientes costeiros do litoral brasileiro (Hostim-Silva et al. 2006). As garoupas estão geralmente associadas a fundos rochosos e são encontradas em águas tropicais e subtropicais, sendo comumente, espécies com elevado valor econômico (Heemstra & Randall, 1993). A espécie de garoupa investigada na presente dissertação é *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), a qual é conhecida popularmente como garoupa-verdadeira. Em recente revisão, a partir de análises genéticas, Craig & Hastings (2007) sugeriram que 6 espécies do gênero *Epinephelus* passassem a fazer parte do gênero *Mycteroperca*, entre elas está a *Epinephelus marginatus*, que os autores sugerem a nova denominação *Mycteroperca marginata*. No entanto, alguns autores em estudos de ecologia ainda tem mantido o gênero *Epinephelus* (Gibran 2007; Reñones et al., 2007; La Mesa et al., 2008; Machado et al., 2008; Reñones et al., 2010), pois há controvérsias entre os resultados genéticos que parecem não ser suportados pelas sinapomorfias morfológicas (Gibran, 2007) e, além disso, o próprio Craig et al. (2011) refuta a proposta de mudança de gênero da

espécie. Assim, o presente estudo continuará usando a denominação, *Epinephelus marginatus*.

A garoupa-verdadeira é uma espécie de corpo robusto de grande porte, podendo atingir 120 cm de comprimento total (Heemstra & Randall, 1993) e pesar até 60 kg (Figueiredo e Menezes, 1980). A espécie está frequentemente associada a fundos rochosos habitando tocas e fendas entre rochas, sendo comum em águas costeiras, especialmente em recifes e costões rochosos. Os adultos ocorrem, em maior densidade, em locais com até 50 m de profundidade, mas podem ser encontrados em profundidades de até 250 m (Bruslé, 1985; Heemstra & Randall, 1993), enquanto os juvenis podem ser comumente encontrados em poças de marés (Azevedo et al., 1995). A espécie possui uma ampla distribuição, ocorrendo ao longo do Mar Mediterrâneo e em ambas as costas do Oceano Atlântico. Na costa leste do Oceano Atlântico esta espécie distribui-se desde as Ilhas Britânicas até a África do Sul (Heemstra & Randall, 1993), estendendo-se ao Oceano Índico no sul-sudeste do continente africano (Fennessy, 2006). Na costa oeste do Oceano Atlântico, a garoupa-verdadeira ocorre do Rio de Janeiro até a região do Golfo Novo na Patagônia Argentina (Figueiredo & Menezes, 1980; Irigoyen et al. 2005).

A garoupa-verdadeira é uma espécie territorialista de hábito sedentário e solitário, principalmente os indivíduos maiores de 20 cm, os quais permanecem a maior parte do tempo em suas tocas, saindo apenas para curtas expedições a procura de alimento, enquanto que os juvenis, menores que 20 cm, preferem áreas abertas, vagando a procura de alimento, sendo que nessa fase eles chegam a apresentar uma formação de

pequenos grupos, com até três indivíduos (Gibran, 2007). A garoupa-verdadeira é uma espécie predominantemente carnívora, predando preferencialmente crustáceos, peixes e moluscos (Barreiro & Santos, 1998; Reñones et al., 2002; Linde et al., 2004; Machado et al., 2008; Condini et al. 2011). Essa espécie tem uma importante função nos fundos rochosos, no sentido de manutenção do equilíbrio ecológico desses ambientes, pois geralmente constitui um dos principais predadores na sua área de ocorrência (Parrish, 1987; Reñones et al., 2002; Condini et al. 2011).

A garoupa-verdadeira é uma espécie longeva e de crescimento lento (Chauvet, 1988; Reñones et al., 2007), hermafrodita protogínica monândrica (Bruslé & Bruslé, 1975; Marino et al. 2001), ou seja, todos os indivíduos nascem fêmeas, sendo que a reversão sexual para macho ocorre a partir de determinado tamanho (geralmente acima dos 52 a 77 cm) (Reñones et al. 2010) ou devido a pressão populacional (Sadovy de Mitcheson & Liu, 2008; Erisman et al., 2010) entre os 7 e 17 anos de idade (Reñones et al. 2010). Portanto, todos os machos da população são provenientes de fêmeas sexualmente maduras. Outra característica importante da espécie está relacionada ao comportamento reprodutivo, pois assim como outras garoupas, a garoupa-verdadeira também apresenta agregações reprodutivas na forma de haréns, onde há vários indivíduos fêmeas para cada indivíduo macho (Zabala et al. 1997a; Zabala et al. 1997b).

A garoupa-verdadeira é uma espécie muito visada na atividade pesqueira, tanto comercial (artesanal e industrial) quanto recreativa (Figueiredo & Menezes, 1980; Heemstra & Randall, 1993; Reñones et al. 1999; Condini et al., 2007), em todos os locais onde a espécie ocorre. As características biológicas apresentadas acima tornam

a garoupa-verdadeira altamente vulnerável à sobre-exploração, e com o aumento da pressão pesqueira sobre a espécie, ela já está classificada pela União Internacional de Conservação da Natureza - (“International Union for Conservation of Nature” - IUCN) como “ameaçada de extinção” (EN A2d) (Cornish & Harmelin-Vivien, 2004), e pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis) como sobreexplorada (Instrução Normativa nº 5, 2004).

No Brasil a garoupa-verdadeira é uma espécie emblemática, tanto que foi escolhida para ilustrar a cédula de 100 Reais, por ser um dos peixes mais conhecidos da costa brasileira. No Brasil, há poucos estudos sobre a ecologia e biologia da garoupa *Epinephelus marginatus*, sendo estes restritos a estudos de biologia reprodutiva (Andrade et al., 2003; Seyboth et al., 2011) e estrutura de idade e crescimento (Seyboth et al., 2011), além dos estudos de ecologia alimentar (Machado et al., 2008; Begossi & Silvano 2008; Condini et al., 2011), pesca (Condini et al. 2007), comportamento (Gibran, 2007) e piscicultura (Sanches et al., 2006, 2007, 2008). A maioria desses estudos foram realizados na região sul do Brasil, para populações da costa de Santa Catarina (SC) e do Rio Grande do Sul (RS), sendo que os trabalhos realizados no RS (Condini et al., 2007; Condini et al., 2011; Seyboth et al., 2011) estão restritos a fundos rochosos artificiais na zona litorânea (<5 m), na desembocadura da Lagoa dos Patos (os molhes da barra de Rio Grande).

A espécie é incomum em zonas rasas ao longo da costa gaúcha, provavelmente porque os fundos arenosos que predominam nessa região não são habitats propícios para sua ocorrência. Assim, os molhes da Barra de Rio Grande, localizado na desembocadura da

Lagoa dos Patos, constituem uma importante exceção, pois seu substrato rochoso parece constituir um habitat adequado para que a garoupa-verdadeira ocorra em abundância suficiente a ponto de permitir sua pesca regular (Condini et al. 2007). A espécie também ocorre em fundos rochosos com profundidades maiores que 10 m (MVC, observação pessoal), os quais são conhecidos como parcéis. Segundo entrevistas informais com pescadores, um dos parcéis mais citados pelos pescadores da garoupa-verdadeira na região é o Parcel do Carpinteiro (PC) (32°16' S; 51°47' O), o qual está situado na isóbata dos 20 m, a 16 milhas náuticas a sudeste da desembocadura do estuário da Lagoa dos Patos. Trata-se de um elevado topográfico submerso composto por arenitos de praia altamente cimentados por carbonato de cálcio recristalizado, situado na antepraia do extremo sul do Brasil, o topo do PC está situado a 15 m de profundidade e sua base a 25 m (Buchmann et al., 2001; Abreu & Calliari, 2005). Na região sul do RS há dois grupos principais de pescadores da garoupa-verdadeira, um formado por pescadores artesanais que ocorre nos molhes da Barra de Rio Grande (Condini et al., 2007) e outro, por alguns marinheiros da frota industrial (MVC, observação pessoal) que, de modo oportunista, pescam no PC, quando retornam do alto mar em direção a Rio Grande (RS). No entanto, nos relatórios anuais do IBAMA não há registros, tampouco dados de estatística pesqueira da garoupa-verdadeira para o Rio Grande do Sul.

I.I. Objetivos da dissertação

Esse estudo teve como objetivo principal investigar a estrutura populacional da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Epinephelidae) na região do Parcel do Carpinteiro, extremo sul do Brasil.

Os objetivos específicos foram:

- Determinar os estágios reprodutivos da garoupa-verdadeira nesta área;
- Determinar o período reprodutivo da garoupa-verdadeira;
- Determinar o comprimento médio de primeira maturação da garoupa-verdadeira;
- Comprovar a formação anual de anéis de crescimento da garoupa-verdadeira;
- Determinar a estrutura etária da garoupa-verdadeira;
- Estimar os parâmetros de crescimento da garoupa-verdadeira.

II. PRIMEIRO CAPÍTULO DA DISSERTAÇÃO

Determinação de idade e análise do crescimento da garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste

Mario V. Condini ^{1*}, Cristiano Q. Albuquerque² & Alexandre M. Garcia¹

¹Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Ictiologia, CP 474, 96.201-900, Rio Grande, RS, Brasil

²Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Oceanografia e Ecologia, 29075-90, Espírito Santo, RS, Brasil

*E-mail correspondência: mvcondini@yahoo.com.br

Introdução

A garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) pertence à família Epinephelidae, cujos indivíduos habitam preferencialmente ambientes de fundos rochosos. Os adultos ocorrem em maior densidade em locais com até 50 m de profundidade, mas podem ser encontrados em profundidades de até 250 m (Bruslé, 1985; Heemstra & Randall, 1993), enquanto os juvenis podem ser comumente encontrados em poças de marés (Azevedo et al., 1995). A espécie possui uma ampla distribuição, ocorrendo ao longo do Mar Mediterrâneo e em ambas as costas do Oceano Atlântico. Na costa leste do Oceano Atlântico esta espécie distribui-se desde as Ilhas Britânicas até a África do Sul (Heemstra & Randall, 1993), estendendo-se ao Oceano Índico no sul-sudeste do continente africano (Fennessy, 2006). Na costa oeste do Oceano Atlântico, a garoupa-verdadeira ocorre do Rio de Janeiro até a região do Golfo Novo na Patagônia Argentina (Figueiredo & Menezes, 1980; Irigoyen et al. 2005).

Assim como outras espécies de Epinephelidae, a garoupa-verdadeira apresenta um crescimento lento, maturação sexual tardia, hermafroditismo protogínico e baixa taxa de mortalidade natural (Manooch, 1987). Além disso, por ser uma espécie de grande porte e alto valor comercial, a garoupa-verdadeira é uma espécie bastante visada pela pesca em toda sua área de ocorrência (Heemstra & Randall, 1993). Esses fatores fazem com que a garoupa-verdadeira seja uma espécie altamente vulnerável a sobreexploração, sendo atualmente listada na “International Union for Conservation of Nature” (IUCN) como “em perigo de extinção” (EN A2d) (Cornish & Harmelin-Vivien, 2004).

A garoupa-verdadeira é a única espécie de Epinephelidae de grande porte que ocorre com frequência na costa do extremo sul do Brasil, sendo capturada por pescadores artesanais em fundos rochosos (Condini et al., 2007) ou em parceiros (>10 m) ao longo da costa. Nesses parceiros, a espécie é capturada por pescadores da frota industrial (tripulantes de traineiras, arrasteiros e barcos de emalhe) que, antes de regressar ao porto para realizar o desembarque do pescado, costumam permanecer sobre eles para capturar a garoupa-verdadeira (MVC, observação pessoal). Um dos locais mais frequentados por esses pescadores é o Parcel do Carpinteiro (PC) (32°16' S; 51°47' O) (Fig. 1), que está situado entre 165 e 25 m e é formado por fundos rochosos submersos colonizados superficialmente por organismos incrustantes, como briozoários, esponjas, poliquetas, crustáceos e algas coralíneas (Buchmann et al., 2001). Provavelmente, essa seja a região mais austral dos oceanos onde há registro de uma população de *E. marginatus* explorada frequentemente pela pesca.

De acordo com a Sociedade Americana de Pesca (*American Fisheries Society* - AFS), os peixes recifais, como as garoupas, devem ser explorados de forma conservadora para se evitar o colapso nos estoques, pois muitas espécies, principalmente as que possuem crescimento lento e maturação tardia, são mais vulneráveis à sobre-exploração (Coleman et al., 2000). Nesse contexto, a avaliação de idade e parâmetros de crescimento fornece informações importantes para subsidiar a criação de medidas de manejo das espécies comercialmente exploradas. Tais informações são praticamente inexistentes no limite austral da distribuição da garoupa-verdadeira no Atlântico Sudoeste. O único trabalho disponível até o presente momento nessa região é o de Seyboth et al. (2011), que foi realizado com espécimes capturados em fundos rochosos

na região litorânea (< 5 m), mais especificamente num par de molhes de pedra (*rock jetties*) localizado na desembocadura da Lagoa dos Patos (32°S). Segundo os autores, essa região abriga apenas indivíduos jovens ainda imaturos sexualmente ou fêmeas maduras em repouso. Não foi detectada nessa região litorânea a presença de fêmeas em estágios de maturação avançada ou de machos, o que levou os autores a conclusão que esse habitat litorâneo representa uma zona de berçário para jovens e não um local de reprodução. Nada se conhece, porém, sobre a estrutura de idade e o crescimento da garoupa-verdadeira que vem sendo explorada nos fundos rochosos mais profundos ao longo da costa, como o Parcel do Carpinteiro (15-25 m).

Nesse contexto, o presente trabalho investigou a estrutura etária e os parâmetros de crescimento da garoupa-verdadeira que habita fundos rochosos distantes da zona litorânea no intuito de avançar o conhecimento sobre a biologia dessa espécie ameaçada no extremo sul do Oceano Atlântico Sudoeste. Além disso, avaliamos a hipótese de que os fundos rochosos mais profundos (15-25 m) constituem manchas de habitats de maior qualidade (*sensu* Pulliam 1988) para a espécie, quando comparado a fundos rochosos situados na zona litorânea (< 5 m).

Material e Métodos

O Parcel do Carpinteiro (PC) está situado na isóbata dos 20 m, cerca de 16 milhas náuticas a sudeste da desembocadura do estuário da Lagoa dos Patos (Fig. 1). Trata-se de um elevado topográfico submerso composto por “beach rocks” altamente cimentados por carbonato de cálcio recristalizado, situado na antepraia do extremo sul do Brasil. O topo do PC está situado a 15 m de profundidade e sua base a 25 m (Buchmann et al., 2001; Abreu & Calliari, 2005).

Um total de 211 garoupas-verdadeiras (*Epinephelus marginatus*) foram coletadas durante o desembarque da frota industrial da cidade de Rio Grande entre janeiro de 2008 e abril de 2011. De acordo com entrevistas realizadas com os mestres das embarcações, verificou-se que os exemplares coletados foram provenientes do PC (Fig. 1). Há duas frentes de pesca da garoupa-verdadeira no extremo sul do Brasil, uma conduzida por pescadores artesanais atuando num par de molhes de pedra (conhecido localmente como “Molhes da Barra de Rio Grande”) na desembocadura da Lagoa dos Patos (Condini et al., 2007) e outra por alguns marinheiros da frota industrial que pescam nos parais ao longo da costa (MVC, observação pessoal), ambas sendo realizadas manualmente por meio de linha de mão e anzol.

Para cada espécime coletado foi mensurado o comprimento total (CT) em milímetros (mm), o peso total (PT) em gramas (g). As gônadas foram extraídas e o sexo foi identificado macroscopicamente seguindo Marino et al. (2001). Os otólitos *sagittae* (Fig. 2a) foram extraídos, limpos e armazenados em local seco para determinação de idade. Posteriormente, eles foram incluídos em resina de poliéster e cortados em

secções de 0,4 a 0,6 mm de espessura com uma serra metalográfica *Isomet Buelher*. Os cortes mais próximos ao núcleo foram escolhidos para análise e foram fixados em uma lâmina histológica com cola de secagem rápida. Em seguida, cada lâmina foi desbastada com lixas de granulometria variando de 2000 a 8000 para melhoria da visualização dos anéis de crescimento. Por fim, o corte foi imerso em uma solução histológica (Entellan) e coberto por uma lamínula.

As leituras dos cortes dos otólitos foram realizadas em estereoscópio binocular com magnificação de 10-20x, usando luz transmitida. Sendo assim, as bandas opacas apareceram como zonas escuras e as bandas translúcidas apareceram como zonas claras (Fig. 2b). Para determinação da idade foram contados os números de bandas opacas ao longo da margem ventral do *sulcus acusticus* (Fig. 2a). Para cada otólito foram realizadas três leituras com um intervalo de um mês entre cada uma e sem conhecimento prévio do tamanho do peixe analisado ou dos resultados das leituras anteriores. Foram utilizados apenas os otólitos que tiveram ao menos duas leituras iguais. Otólitos que não tiveram nenhuma coincidência entre as três leituras foram descartados. Foi utilizado o índice de erro médio percentual (APE; Campana, 2001) para quantificar a precisão entre as leituras dos otólitos.

Para validar a periodicidade da formação das bandas de crescimento, foram utilizadas duas metodologias: (I) proporção de bandas opacas e translúcidas na borda ao longo do ano, sendo o otólito, analisado ao longo da face proximal, próximo à margem do *sulcus acusticus*, preferencialmente foi escolhido o otólito direito e (II) variação do incremento marginal (IM) médio ao longo do ano, sendo que o IM expressa a

proporção do crescimento atual do otólito em relação ao seu crescimento total no ano anterior.

$$IM = (R_t - R_{t-1}) / (R_{t-1} - R_{t-2}), \quad (\text{Equação 1})$$

onde: R_t é a distância entre o núcleo e a borda do otólito; R_{t-1} é a distância entre o núcleo e a borda proximal da última banda opaca; R_{t-2} é a distância entre o núcleo e a borda proximal da penúltima banda opaca (Manickchand-Heileman & Phillip 2000).

Devido à menor captura da garoupa-verdadeira entre os meses de agosto e outubro, as medidas de IM foram agrupadas em verão (janeiro a março), outono (abril a junho), inverno (julho a setembro) e primavera (outubro a dezembro). Como os dados analisados não apresentaram normalidade nem homocedasticidade, as diferenças entre as estações do ano foram avaliadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e, para determinar as diferenças entre as amostras, foi usado o teste de post-hoc de Mann-Whitney (Zar, 1999). Para auxiliar na interpretação da flutuação sazonal do IM foram calculadas médias sazonais do fator de condição (ver mais abaixo) e da temperatura superficial da água do mar (TSM).

A TSM foi analisada para uma série temporal de 40 anos, calculando-se temperaturas médias para cada estação do ano nas áreas próximas ao PC (entre as latitudes de 32° e 32°50'S e longitudes 50° e 52°O). Os dados de TSM foram cedidos pelo Laboratório de Oceanografia Costeira e Estuarina da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

A relação peso-comprimento da garoupa-verdadeira foi determinada segundo a fórmula:

$$PT = a \times CT^b, \quad (\text{Equação 2})$$

onde: a corresponde ao intercepto e b é um coeficiente angular, PT é o peso total e CT é o comprimento total da garoupa-verdadeira. A variação do valor do coeficiente de crescimento alométrico (b) foi avaliada através do teste “t” (Zar, 1999).

O fator de condição (k') foi determinado através da equação proposta por Le Cren (1951).

$$k' = PT / CT^b, \quad (\text{Equação 3})$$

onde: k' é o fator de condição, e as demais variáveis são as mesmas descritas para a equação (2).

Os dados de idade e comprimento total obtidos para cada indivíduo foram ajustados ao modelo de crescimento de von Bertalanffy, através de um método não linear de ajuste (Ricker, 1975).

$$Lt = L_{\infty} (1 - e^{-K(t-t_0)}), \quad (\text{Equação 4})$$

onde: L_{∞} é o comprimento assintótico máximo; K é o coeficiente de crescimento, t_0 é a idade teórica na idade zero. O índice de performance de crescimento (ϕ) foi calculado segundo Pauly & Munro (1984).

$$\phi = \text{Log}(K) + 2\text{Log}(L_{\infty}), \quad (\text{Equação 5})$$

onde: K e L_{∞} correspondem aos parâmetros descritos na equação 4.

Os parâmetros de crescimento de von Bertalanffy foram calculados para toda a amostra e também apenas para fêmeas. Não foram calculados os parâmetros apenas para os machos devido ao baixo número de indivíduos amostrados.

Estimativa da taxa instantânea de mortalidade total (Z) da garoupa-verdadeira foi obtida através do método de curvas de capturas e comprimentos convertidos em curvas de capturas. Esse método foi proposto por Beverton & Holt (1957) e é baseado na análise gráfica da regressão linear entre o logaritmo natural do número de peixes das capturas por classes de comprimento e sua respectiva idade. O logaritmo natural do número de peixes em cada classe de idade (Nt) foi plotado contra a idade correspondente (t), onde a partir da equação da reta teremos 'a' como o intercepto e 'b' o coeficiente angular da reta de regressão, o qual representa a taxa instantânea de mortalidade Z.

A taxa instantânea anual de mortalidade natural (M) da população de garoupa-verdadeira foi estimada usando a equação empírica proposta por Hoenig (1983).

$$\ln(M) = 1,46 - 1,01 \ln(t_{max}) \quad (\text{Equação 6})$$

Onde: t_{max} corresponde à idade máxima do peixe, em anos.

A hipótese de que os fundos rochosos mais profundos (15-25 m) constituem habitats de maior qualidade do que os fundos rochosos litorâneos (< 5m), propiciando maior disponibilidade de alimento e de abrigo (tocas) para a espécie (Gibran, 2007), foi testada utilizando o tamanho (CT, mm) dos indivíduos como um *proxy* para o seu melhor desempenho em cada mancha de habitat. Para tanto, diferenças no CT médio

(mm) das garoupas-verdadeiras que habitam a região mais profunda (15 – 25 m; PC) e litorânea (< 5 m; Molhes da Barra de Rio Grande) foram avaliadas por meio de ANOVA unifatorial (Zar, 1999), em cinco diferentes idades (entre 3 e 7 anos). Foram utilizados apenas dados de indivíduos entre 3 e 7 anos de idade, pois essas idades foram as únicas com número amostral suficiente (mais de 30 indivíduos por classe de idade) entre os dois locais. Os indivíduos da zona litorânea (<5 m) foram provenientes das coletas realizadas em 2007-2009 por Seyboth et al. (2011). Os pressupostos de normalidade e homoscedasticidade de variância foram alcançados ($\alpha = 0,05$), segundo os testes de Kolmogorov-Smirnov e Cochran, respectivamente (Zar, 1999).

Resultados

As bandas opacas e translúcidas dos otólitos da *Epinephelus marginatus* foram claramente distintas (Fig. 2b), possibilitando estimar a idade de maneira confiável, não havendo grandes discrepâncias entre as diferentes leituras dos anéis de crescimento de cada otólito. O APE referente às leituras dos otólitos analisados foi estimado em 6,7%. Assim, dos 211 otólitos coletados, 189 foram efetivamente analisados para a avaliação de idade e crescimento de *E. marginatus*, sendo que 22 otólitos foram excluídos das análises devido a discordâncias entre as três leituras. As garoupas-verdadeiras que tiveram seus otólitos analisados variaram de 150 a 1160 mm de CT, com média de $534,1 \pm 175,0$ mm (DP) (Fig. 3), sendo que aproximadamente 80% das garoupas-verdadeiras avaliadas apresentaram comprimentos totais variando entre 300 e 700 mm.

A relação peso-comprimento da garoupa-verdadeira na área de estudo foi: $PT = 0,00001 \times CT^{3,094}$ ($n=211$ e $r^2 = 0,985$). O coeficiente alométrico foi significativamente diferente de 3 (teste-t, $p < 0,0003$) (Fig. 4), revelando um maior crescimento em PT (g) que em CT (mm).

O incremento marginal apresentou uma flutuação anual com diferenças significativas entre as estações do ano (K-W, $p < 0,003$; Fig. 5A), com o inverno apresentando média significativamente menor que primavera (post-hoc Mann-Whitney, $p < 0,005$) e verão (post-hoc Mann-Whitney, $p < 0,018$). Os menores valores de IM encontrados nos meses de inverno coincidiram com as menores médias da TSM ($15,0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2,1 \text{ EP}$; Fig. 5A). O fator de condição (k') também apresentou valores menores nos meses de inverno (Fig. 5B), contudo esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p < 0,258$). A análise das bordas mostrou uma menor proporção de bandas opacas no período de inverno (Fig. 5C). A proporção de bandas opacas apresentou forte correlação com as médias sazonais de TSM ($R^2 = 0,841$). A interpretação conjunta de todas estas variáveis suporta a conclusão de que os otólitos da garoupa-verdadeira têm formação anual de anéis de crescimento na área de estudo.

As garoupas-verdadeiras analisadas apresentaram idades entre 1 e 40 anos, sendo que a maioria (85%) com idades entre 2 e 8 anos. Os machos apresentaram idades maiores quando comparados às fêmeas, sendo que a idade dos machos ($n = 11$) variou entre 20 e 40 anos (média de $26,7 \pm 6,3 \text{ DP}$) e das fêmeas ($n = 178$) variou entre 1 e 27 anos (média de $6,1 \pm 4,9 \text{ DP}$). Como esperado, os machos apresentaram maior CT (média: $890,2 \pm 122,2 \text{ mm DP}$) comparados às fêmeas ($512,1 \pm 152,9 \text{ mm DP}$).

Os parâmetros de crescimento de von Bertalanffy estimados para a população de garoupas-verdadeiras do PC foram: $L_{\infty} = 900,8$ mm, $K = 0,129$, $t_0 = -1,45$ anos, enquanto o índice de performance de crescimento apresentou valor de 3,01 (Fig. 6). No entanto, ao retirarem-se os indivíduos machos da análise houve uma diminuição de cerca de 50 mm nos valores de L_{∞} (851,6 mm) e um pequeno aumento nos valores de K (0,153) e ϕ (3,03) (Tabela I). É possível observar que a garoupa-verdadeira apresentou um crescimento mais acentuado durante os primeiros oito anos de vida (Tabela II e Fig. 6), onde atingiu cerca de 70% de seu L_{∞} .

A análise da curva de captura demonstrou que a população de garoupa-verdadeira, que ocorre no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste, começa a ser recrutada pela pesca a partir dos dois anos, mostrando ainda que os indivíduos entre dois e sete anos (aproximadamente entre 300 e 700 mm de CT) estão sob intensa pressão pesqueira. No entanto, não foi possível determinar a taxa instantânea de mortalidade (Z) da população de garoupa-verdadeira devido ao baixo número de indivíduos com idades superiores a 12 anos. Porém, quando considerada a faixa etária de 2 a 11 anos foi possível estimar o valor de Z em 0,33 ao ano ($y = -0,338x + 4,538$; $R^2 = 0,772$; $n = 159$), o que corresponde a uma taxa de sobrevivência $S = 0,71$ ao ano. Como esperado, a taxa de mortalidade natural (M) para a população estudada foi baixa (0,10).

A análise de variância mostrou que há diferenças estatisticamente significativas entre os tamanhos (CT, mm) das garoupas-verdadeiras que ocorrem na região litorânea (<5 m) e profunda (15-25 m) ($F = 22,39$, $p < 0,001$). A análise post-hoc (teste de Tukey;

$p=0,05$) mostrou que as garoupas-verdadeiras são maiores na região profunda em todas as idades analisadas ($p<0,05$), com exceção da idade sete ($F=0,00$, $p=0,94$) (Fig. 7).

Discussão

Validação da periodicidade na formação de anéis anuais

A garoupa-verdadeira apresentou otólitos com anéis de crescimento bem definidos, com bandas translúcidas formando-se durante o inverno e bandas opacas formando-se principalmente ao longo do verão, como demonstrado pela variação anual do incremento marginal e pela frequência de bandas opacas e translúcidas na borda do otólito ao longo do ano. Essa sazonalidade também foi observada na TSM e no fator de condição, ambos com valores mínimos registrados no inverno. A análise do incremento marginal, contudo, não é considerada a técnica mais adequada para a avaliação da taxa de formação de anéis de crescimento em peixes (Campana, 2001), particularmente para ambientes onde não existem fortes variações ambientais que sincronizem o metabolismo do animal à variação das estações do ano. Longhurst & Pauly (1987) sugerem que diferenças sazonais de temperaturas entre 4 e 5 °C seriam suficientes para causar a formação de anéis de crescimento em otólitos. Na região em estudo, observa-se uma considerável variação anual da temperatura, na ordem de 11°C (Fig. 5), o que parece ter sido suficiente para a marcação consistente dos anéis anuais de crescimento.

Embora o mecanismo que regula o padrão de formação de bandas de crescimento em otólitos não seja totalmente compreendido, é bem aceito que as bandas se formam devido ao contraste anual das variáveis ambientais (Wright et al., 2002), que promovem alterações metabólicas que influenciam na taxa de crescimento dos peixes (Secor et al., 1995). Em uma revisão de 94 espécies de peixes em 36 famílias, Beckman e Wilson (1995) observaram que a formação de zonas opacas foi parcialmente correlacionada com a temperatura local e que, em apenas 19% das espécies, houve correlação entre a formação de zonas opacas e a estação reprodutiva. Portanto, estes autores concluíram que as formações das bandas de crescimento estavam relacionadas a uma combinação de fatores ambientais (e.g. temperatura) e endógenos (e.g. reprodução). No presente estudo, observou-se que houve uma forte correlação entre TSM média e a proporção de bordas opacas. Embora essa correlação tenha sido estatisticamente significativa ela não implica necessariamente uma relação de causa e efeito entre a temperatura e a formação das bandas de crescimento. Uma vez que o fator de condição também foi significativamente correlacionado com a TSM, e ainda pelo fato da reprodução provavelmente ocorrer no verão (MVC, em preparação), não podemos descartar efeito da reprodução na formação de bandas. De qualquer forma, nos parece plausível a hipótese de que a temperatura é o principal fator influenciando a formação anual dos anéis de crescimento em otólitos da garoupa-verdadeira na área de estudo. Essa hipótese parece ser corroborada pela marcada variação de temperatura na região ($>10^{\circ}\text{C}$). Além disso, outros autores têm reportado um padrão anual de formação de anéis de crescimento para *E. marginatus* no Mar Mediterrâneo (Reñones et al., 2007) e no sul da África (Fennessy, 2006). Outras espécies de

garoupas também apresentaram padrões anuais de formação de anéis de crescimento em otólitos, como *Mycteroperca microlepis* (Harris & Collins 2000), *M. interstitialis* (Manickchand-Heileman & Phillip 2000), *M. rosácea* (Díaz-Uribe et al., 2001), *Epinephelus coioides* (Grandcourt et al., 2005) e *M. fusca* (Bustos et al., 2009), concordando com os resultados encontrados no presente estudo.

Estrutura etária e parâmetros de crescimento

As garoupas são reconhecidamente peixes de vida longa como é o caso da *Epinephelus nigritus* (Manooch & Manson, 1987), *E. niveatus* (Costa et al., 2011), *Mycteroperca bonaci* (Crabtree & Bullock, 1998) e *M. interstitialis* (Manickchand-Heileman & Phillip 2000) que atingem 41, 54, 33 e 41 anos, respectivamente. A garoupa-verdadeira capturada no presente estudo apresentou parâmetro de crescimento próximo aos observados em outros estudos com a mesma espécie (vide Tabela III), sendo observados indivíduos com até 40 anos. Alguns estudos com a mesma espécie também apresentaram idades elevadas, como Reñones et al. (2007) e Chauvet (1988) (61 e 36 anos, respectivamente). Em contrapartida, existem trabalhos mostrando indivíduos consideravelmente mais novos quando comparados ao que encontramos em nosso estudo. Por exemplo, Bouchereau et al. (1999) e Fennessy (2006) também analisaram indivíduos com amplitudes de tamanhos semelhantes ao nosso trabalho, porém as idades máximas determinadas nesses estudos (14 e 16 anos, respectivamente) são bem inferiores ao nosso valor máximo de 40 anos (vide Tabela III). A diferença encontrada por Bouchereau et al. (1999) pode ser explicada pela diferença de estrutura de aposição utilizada para determinação de idade, visto que a escama usada

por eles não é a estrutura de aposição mais indicada para definir idade de peixes com idades elevadas (Beamish & McFarlane, 1995), pois tende a subestimar as mesmas.

Nenhum macho foi capturado entre os indivíduos jovens (menores que 5 anos) analisados neste estudo. Esse padrão pode ser explicado pelo fato de se tratar de uma espécie hermafrodita protogínica monândrica, onde os indivíduos nascem fêmeas, maturam a primeira vez como fêmeas em média por volta dos 5 anos (Reñones et al., 2010) e podem realizar a reversão sexual após os 7 anos (Reñones et al., 2010). Portanto, é comum a predominância de fêmeas nas idades mais jovens e ocorrência de machos apenas para idades mais avançadas (Fennessy, 2006; Reñones et al., 2007). Porém, os poucos trabalhos que realizaram uma análise concomitantemente da estrutura etária e do gênero sexual mostraram bastante variabilidade em relação a idade e tamanho nos quais os machos surgem na população (Fennessy, 2006; Reñones et al., 2007; Seyboth et al., 2011; presente estudo). Por exemplo, o macho menor e mais jovem encontrado em nosso estudo apresentou 760 mm de CT e 20 anos, ao passo que o macho menor e mais jovem encontrado por Fennessy (2006) no Oceano Índico apresentou tamanho maior e idade significativamente menor (810 mm de CT e 9 anos). Já os machos encontrados por Reñones et al. (2007) no Mar Mediterrâneo apresentavam tamanhos e idades expressivamente menores (584 mm de CT e 7 anos).

Essas diferenças poderiam estar relacionadas a vários fatores. Primeiramente, poderiam haver diferenças na metodologia de captura e esforço amostral empregados em cada trabalho, as quais poderiam favorecer ou não a captura de machos. Um segundo fator poderia ser em relação as diferenças nas condições ambientais entre as

regiões onde as espécies ocorrem. Por ser um ambiente fechado, o Mar Mediterrâneo (38°24'N; 09°09'E) apresenta características físico-químicas diferentes da nossa área de estudo (Oceano Atlântico Sudoeste). Por exemplo, a TSM média do Mar Mediterrâneo (20,5 °C) (NOAA 2012) é consideravelmente maior que a TSM média encontrada no Oceano Atlântico Sudoeste (18,5 °C), onde nosso estudo foi realizado. A costa sul do Brasil recebe influência do ramo costeiro da corrente das Malvinas, que leva águas da corrente circumpolar antártica para o sul da América do Sul, promovendo um ambiente mais frio, o que poderia causar o retardamento da reversão sexual (Pandian, 2011). Um terceiro fator que também poderia estar gerando essas variações de tamanho da população de machos seria às diferenças na pressão pesqueira exercida entre esses locais. Com o aumento da pressão pesqueira, a população explorada pode apresentar mudanças nas taxas de crescimento e padrões reprodutivos de seus indivíduos (Gulland, 1983). Assim as garoupas do Mediterrâneo e do Índico poderiam estar antecipando sua idade de reversão sexual (Reñones et al., 2010), quando comparada a região do Atlântico Sudoeste estudada no presente trabalho.

De acordo com os dados de estatísticas pesqueiras da FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), houve um aumento considerável do esforço pesqueiro no Mar Mediterrâneo de 1950 até meados do ano 2000, seguido de uma diminuição no desembarque nas últimas décadas. O mesmo tem acontecido com a pesca da garoupa-verdadeira no Mediterrâneo e no Índico (Cornish & Harmelin-Vivien, 2004), havendo um decréscimo substancial em sua população. Em contraste, na região de estudo do presente trabalho não há uma pescaria industrial voltada exclusivamente

para a garoupa-verdadeira. No extremo sul do Brasil, a pesca da garoupa-verdadeira ocorre de forma esporádica e como complemento de renda por alguns marinheiros da frota industrial da região (MVC, observação pessoal), sendo ainda realizada de modo bem rudimentar, por meio de linha de mão. Outra diferença importante no esforço de pesca entre as regiões é o fato de a espécie ser muito visada pela pesca recreativa esportiva no Mar Mediterrâneo e do Índico (Chauvet, 1988; Heemstra & Randall, 1993; Reñones et al. 2007) que tem como alvo principal os indivíduos de maior porte, enquanto que essa atividade pesqueira é inexistente em nossa área de estudo. Portanto, parece plausível supor que o esforço pesqueiro sobre a população de garoupa-verdadeira na região estudada do Atlântico Sudoeste é menor quando comparada ao Mar Mediterrâneo e ao Oceano Índico.

Ao longo de nosso estudo a maior garoupa encontrada mediu 1160 mm de CT, valor bastante próximo aos 1200 mm de CT proposto por Heemstra & Randall (1993) como tamanho máximo da espécie. No entanto, nosso L_{∞} estimado (900,8 mm de CT) esteve expressivamente abaixo desses valores. Isso pode ser explicado pelo baixo número de indivíduos de grande porte capturados e analisados, o que pode estar relacionado ao aumento da exploração pesqueira nos últimos anos, que retira preferencialmente os indivíduos de grande porte dos estoques (King 1997) ou à seletividade das artes e operações de pesca utilizadas para capturá-los. De acordo com os pescadores locais, a pesca da garoupa-verdadeira no Parcel do Carpinteiro ocorre pelo menos, desde a década de 1960. Visto que a frota pesqueira tem aumentado na região sul do Brasil, podemos assumir que o esforço em cima da espécie também aumentou ao longo dos

últimos anos. No entanto, não existem dados de estatísticas pesqueiras para garoupa-verdadeira na região que permitam corroborar essa hipótese.

Quando comparados ao presente estudo, os parâmetros de crescimento propostos por von Bertalanffy, analisados em diferentes trabalhos no Mar Mediterrâneo, mostraram algumas variações ao longo dos estudos, com uma tendência de crescimento mais lento e maior comprimento assintótico (Tabela III). Essas diferenças podem estar associadas às diferentes metodologias utilizadas entre esses trabalhos, visto que foram usadas análises de otólitos seccionados, otólitos inteiros e também análises de escamas. As duas últimas tendem a subestimar as determinações de idade (Beamish & McFarlane, 1995; Reñones et al., 2007) podendo, conseqüentemente, alterar os valores estimados de K e L_{∞} . Uma vez que a exploração pesqueira no Mediterrâneo mudou nos últimos 40 anos, essas variações podem ainda estar associadas aos diferentes regimes de pesca que ocorriam quando as amostragens de cada estudo foram realizadas.

As garoupas-verdadeiras no sul do Atlântico Sudoeste apresentaram um valor de K relativamente maior ($K=0,129$) que os demais estudos (Tabela III). Como discutido anteriormente, esse maior valor de K não quer dizer obrigatoriamente que as garoupas-verdadeiras de nosso estudo apresentam crescimento mais rápido que os indivíduos dos demais trabalhos. Esse valor de K poderia estar associado com o aumento da exploração pesqueira na região e a subsequente retirada dos indivíduos de maior porte e mais velhos. A ausência desses indivíduos poderia levar a uma estimativa do L_{∞} abaixo do esperado e um K acima do esperado. Um método

complementar que permite comparar as informações de crescimento entre populações é o índice de performance de crescimento (ϕ) que busca identificar possíveis diferenças entre estoques em relação às características energéticas, nicho ecológico e erros de estimativas para cada espécie. O resultado desse índice ($\phi = 3$) sugere que a garoupa-verdadeira que habita nossa área de estudo apresenta um padrão de crescimento similar as garoupas-verdadeiras de outras pesquisas (ver Tabela III).

Os indivíduos de *E. marginatus* foram totalmente recrutados pela pesca de linha de mão a partir dos 2 anos, já os indivíduos menores não estiveram vulneráveis a essa arte de pesca. A garoupa-verdadeira apresentou uma baixa taxa de mortalidade total ($z = 0,33$). Embora essa estimativa tenha sido feita apenas para uma parte da população (entre 2 e 11 anos), acreditamos que esse valor é representativo, visto que usamos uma parcela expressiva da população (a mais abundante) e que é especificamente impactada pela arte de pesca. Como esperado, por se tratar de uma espécie longeva, a garoupa-verdadeira apresentou uma baixa taxa de mortalidade natural ($M = 0,10$), o mesmo encontrado para outros epinephelidae, como para *E. marginatus* no Mediterrâneo ($M = 0,16$; Kara & Derbal, 1995), *E. coioides* no Golfo da Arábia ($M = 0,19$; Grandcourt et al., 2005) e *E. morio* na costa da Flórida ($M = 0,15$; Lombardi-Carlson et al., 2008).

Variações no tamanho entre habitats profundos e litorâneos

Comparações de tamanhos entre locais para indivíduos entre 3 e 7 anos mostraram que as garoupas-verdadeiras que habitam locais mais profundos (15-25 m) são

significativamente maiores que as que habitam fundos rochosos rasos da zona litorânea (< 5 m). Esse resultado parece corroborar a hipótese de que fundos rochosos mais profundos (15-25 m) e distantes da costa (16 milhas náuticas) constituem manchas de habitats de maior qualidade para a garoupa-verdadeira no extremo sul do Atlântico Sudoeste, do que fundos rochosos adjacentes ao litoral (< 5 m). Segundo o modelo metapopulacional de fonte-sumidouro (*source-sink model*), manchas de habitat de menor qualidade não possuem todos os requerimentos necessários para que a espécie se reproduza e complete seu ciclo de vida (*sink*), sendo dependente da dispersão de indivíduos (larvas e/ou juvenis) de manchas de habitat de maior qualidade (*source*) (Pulliam, 2000). De acordo com esse modelo, portanto, a região litorânea estudada poderia ser considerada uma mancha de habitat de menor qualidade, tendo em vista que não teria todos os requisitos ambientais e biológicos que satisfaçam o nicho ecológico da garoupa-verdadeira para que ela se reproduza e complete seu ciclo de vida nesse local.

As diferenças entre as duas regiões poderiam estar relacionadas a fatores associados às condições oceanográficas locais, à complexidade estrutural do habitat e a oferta de alimento. Por exemplo, as águas que banham a região litorânea estudada (os Molhes da Barra de Rio Grande) são diretamente afetadas pelas águas do estuário da Lagoa dos Patos, especialmente em anos de El Niño, quando a descarga continental empurra a pluma estuarina para fora da lagoa, diminuindo assim a salinidade na região costeira adjacente (Moller et al., 2001), o que afeta a ictiofauna na região (Garcia et al., 2003; Garcia et al., 2004). Portanto, há uma ampla variação de salinidade (10,6 a 35,1) ao longo do ano nessa região litorânea, o que poderia causar um estresse fisiológico nas

garoupas-verdadeiras que habitam esse local, resultando num grande gasto energético desses peixes para manter seu equilíbrio osmótico (Schmidt-Nielsen, 2002). Essa hipótese parece ser corroborada por experimentos em laboratório que mostraram que a garoupa-verdadeira tem um melhor crescimento em águas com maiores salinidades (Gracia López & Castelló-Orvay 2003). Em contraste, a amplitude de variação da salinidade ao longo do ano na região mais profunda (15-25 m) é quase três vezes menor (de 26,8 a 36,6), quando comparada a litorânea.

Outro fator poderia estar relacionado às diferenças na disponibilidade de espaço (tocas) entre a região mais profunda e litorânea. Trabalhos anteriores têm demonstrado que a ocorrência de grandes epinephelideos está correlacionada com o tamanho e disponibilidade das tocas (Gibran, 2007). A área da região mais profunda (15-25 m) é consideravelmente maior que a área da região litorânea (<5 m) estudada, portanto, a disponibilidade de tocas é provavelmente maior na primeira do que na segunda. Isso poderia explicar a ocorrência de indivíduos maiores, incluindo machos, na região mais profunda e não na litorânea.

Um último fator poderia ser as diferenças na oferta de alimento entre os dois locais. Na região litorânea a garoupa-verdadeira consome principalmente pequenos caranguejos (Condini et al., 2011), enquanto na região mais profunda as garoupas-verdadeiras consomem presas de maior tamanho, especialmente peixes (MVC, dados não publicados). Os peixes são presas com maior conteúdo energético (músculo) comparado aos caranguejos (possuem alta quantidade de carapaça, quitina), e como as presas de maior tamanho tendem a apresentar uma maior contribuição energética

(Reñones et al., 2002), é plausível supor que os indivíduos que habitam as regiões mais profundas teriam seu crescimento favorecido por uma condição mais propícia de forrageamento.

Os fatores e mecanismos apontados acima não são necessariamente excludentes entre si, sendo necessários estudos futuros para entender como eles influenciam o crescimento da espécie entre a região profunda e litorânea. Estudos sobre a dispersão e movimento dos indivíduos entre essas regiões, por meio de técnicas como telemetria e microquímica de otólitos, também deveriam ser realizados para poder avaliar as hipóteses propostas e, desse modo, avançar o conhecimento sobre a distribuição e o ciclo de vida da garoupa-verdadeira que habita o extremo sul do Atlântico Sudoeste.

Conclusão

Os resultados apresentados pela presente dissertação corroboram a hipótese de formação anual dos anéis de crescimento para a população de garoupa-verdadeira do extremo sul do Brasil. Os indivíduos analisados neste estudo apresentaram uma lenta taxa de crescimento ($K = 0,129$), sendo registrada a presença de exemplares longevos, alcançando até 40 anos. Essas características ilustram a alta vulnerabilidade desta espécie a sobrepesca, pois uma população com crescimento lento e longa apresentará uma recuperação lenta frente a retirada de indivíduos do estoque pela pesca. Atualmente, a garoupa-verdadeira consta como “em perigo de extinção” (IUCN), assim, medidas devem ser tomadas no sentido de evitar não só a sobrepesca de recrutamento, mas também a sobrepesca de crescimento, pois essa também afeta

muito as espécies de peixes de crescimento lento, como no caso da *Epinephelus marginatus*. A definição do Parcel do Carpinteiro como área de preservação permanente poderia contribuir no sucesso para a recuperação do estoque da garoupa-verdadeira no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste.

Tabela I - Parâmetros de crescimento de Von Bertalanffy para machos e fêmeas e apenas para as fêmeas de garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* do Parcel do Carpintero

	L_{∞} (mm)	k (anos ⁻¹)	t_o (anos)	GP	n
<i>Epinephelus marginatus</i> (Fêmeas e machos)	900,8	0,129	-1,45	3,01	189
<i>Epinephelus marginatus</i> (apenas fêmeas)	851,6	0,153	-1,06	3,03	178

Tabela II - Idade (anos), número de indivíduos (n), comprimento total (CT, mm) médio ($\pm$ DP), amplitude do comprimento total (CT, mm), peso total (PT, g) médio ($\pm$ DP) e amplitude do peso (PT, g) total da garoupa verdadeira *Epinephelus marginatus*

Idade	n	CT (Média $\pm$ D.P.)	CT Amplitude	PT (Média $\pm$ D.P.)	PT Amplitude
1	2	160,0 $\pm$ 14,1	150 - 170	58,2 $\pm$ 14,6	47,9 - 68,5
2	27	325,7 $\pm$ 38,0	290 - 405	602,3 $\pm$ 196,6	314,5 - 1227,9
3	28	385,9 $\pm$ 38,0	277 - 453	1081,2 $\pm$ 297,6	400,0 - 1675,8
4	28	464,1 $\pm$ 48,4	365 - 561	1890,8 $\pm$ 661,5	1015,0 - 3513,0
5	15	526,9 $\pm$ 44,4	420 - 635	2806,0 $\pm$ 977,9	1284,0 - 5902,0
6	22	563,9 $\pm$ 45,2	485 - 680	3415,8 $\pm$ 1053,9	2108,7 - 6530,0
7	21	587,3 $\pm$ 60,6	475 - 671	4135,1 $\pm$ 1384,0	2103,3 - 7045,0
8	12	658,1 $\pm$ 38,6	606 - 713	5824,9 $\pm$ 1553,5	4080,0 - 8950,0
9	1	532	532	3171,0	3171
10	3	709,7 $\pm$ 57,6	650 - 765	7213,3 $\pm$ 2725,1	4590,0 - 10030,0
11	2	744,0 $\pm$ 50,9	708 - 780	7137,5 $\pm$ 88,4	7075,0 - 7200,0
14	3	748,3 $\pm$ 72,9	665 - 800	7785,8 $\pm$ 2671,2	4725,8 - 9651,5
15	2	774,0 $\pm$ 28,3	754 - 794	9390,0 $\pm$ 3620,4	6830,0 - 11950,0
17	2	729,5 $\pm$ 36,1	704 - 755	6715,0 $\pm$ 792,0	6155,0 - 7275,0
18	3	762,3 $\pm$ 87,9	668 - 842	7746,7 $\pm$ 3225,9	5100,0 - 11340,0
19	1	764,0	764	7025,0	7025,0
20	1	850,0	850	10000,0	10000,0
21	1	770,0	770	8100,0	8100,0
22	2	825,0 $\pm$ 7,1	820 - 830	10900,3 $\pm$ 423,8	10600,6 - 11200,0
23	4	845,0 $\pm$ 98,0	765 - 985	11122,5 $\pm$ 4941,7	6030,0 - 17850,0
24	2	881,0 $\pm$ 12,7	872 - 890	10657,5 $\pm$ 2605,7	8815,0 - 12500,0
25	1	933,0	933	15100,0	15100,0
27	1	910,0	910	16300,0	16300,0
28	1	864,0	864	11100,0	11100,0
29	1	917,0	917	14335,0	14335,0
31	1	875	875	10560,0	10560
34	1	981	981	11700,0	11700
40	1	1160	1160	25000,0	25000

Tabela III - Área de estudo, estruturas duras para determinação das idades (Esc, escamas; Os, otólito seccionado; Oi, otólito inteiro), variação do comprimento total (CT), variação de idade (anos), número de espécimes capturados (n), relação comprimento-peso (P= peso total do peixe; *P= peso evicerado; CT= comprimento total), R2= coeficiente de correlação da relação comprimento-pesp e dos parâmetros de crescimento de Von Bertalanffy da garoupa verdadeira <i>Epinephelus marginatus</i> . (*) dados não publicados.											
Referência	Áreas de estudo	Estrutura idade	Variação de CT (mm)	Variação de idade (anos)	n	P=aCT ^b	R ²	L _∞ (mm)	k (anos ⁻¹)	t ₀ (anos)	GP
Rafail et al. (1969)	Egito	Esc	166-475	1-7	251	W=0.00692Lt ^{3,222}	-	800	0,112	-1,08	2,86
Chauvet (1988)	Mar Mediterraneo - Tunísia	Esc e Oi	53-1180	0-36	270	**W=0.01256Lt ^{3,073}	0,996	1144	0,09	-0,75	3,07
Kara & Derbal (1995)	Mar Mediterraneo - Argéria	Esc	197-567	1-7	41	W=0.0081Lt ^{3,014}	0,996	785	0,16	-0,73	2,99
Bouchereau et al. (1999)	Mar Mediterraneo - França	Esc	200-1200	1-14	22	W=0.125Lt ^{2,600}	0,949	1359	0,080	-0,8	3,16
Fennessy (2006)	Sudeste do Oceano Índico - África do Sul	Os	95-1020	1-16	215	-	-	1249	0,090	-1,43	3,14
Reñones et al. (2007)	Mar Mediterraneo - Espanha	Os	66 - 1056	0-61	358	W=0.0098 Lt ^{3,140}	0,990	955	0,087	-1,12	2,89
Seyboth et al. (2011)	Sul do Oceano Atlântico - Brasil	Os	260-800	2-12	108	W=0.00001 Lt ^{3,071} (*)	0,979 (*)	1249	0,069	-1,49	3,03
Present study	Sul do Oceano Atlântico - Brasil	Os	150-1160	1-40	190	W=0.00001 Lt ^{3,084}	0,985	900	0,129	-1,45	3,00

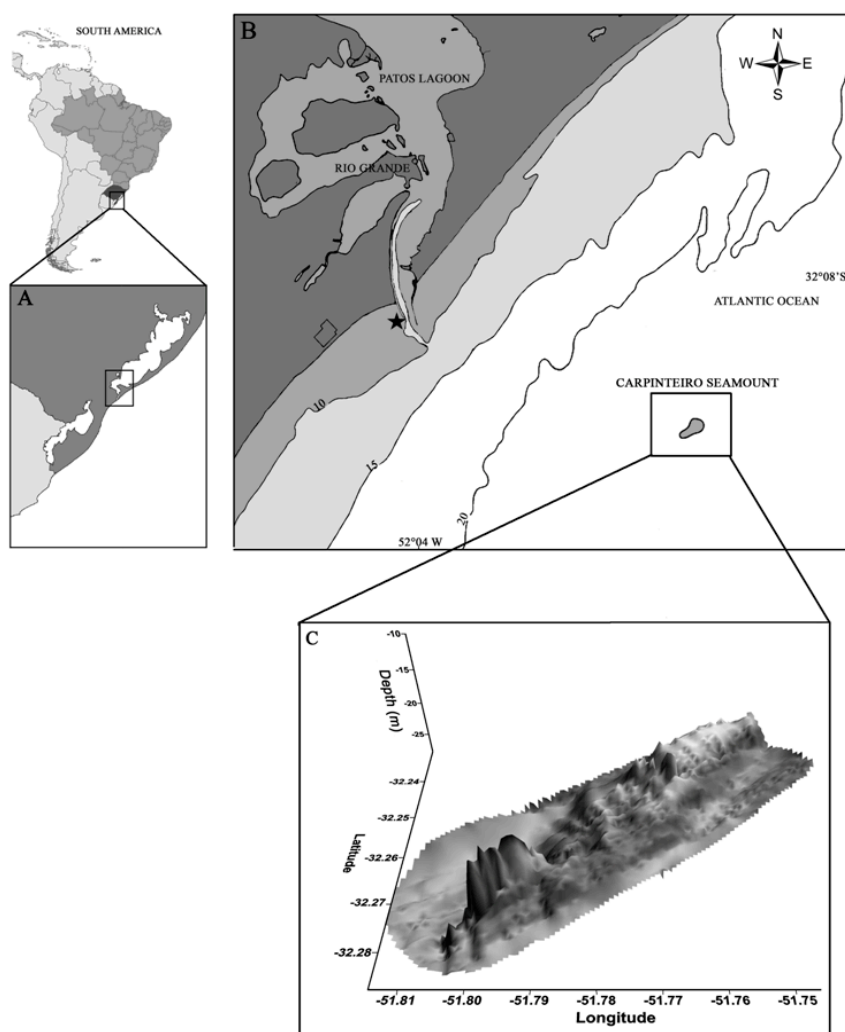


Figura 1 – Lagoa dos Patos (10.360 km²) e sua zona estuarina no sul do Brasil (A), mostrando a localização do Parcel do Carpinteiro na área marinha adjacente (B) e uma representação gráfica em 3D indicando sua topografia (C). As linhas ao longo da costa denotam as isóbatas 10, 15 e 20 m, respectivamente.

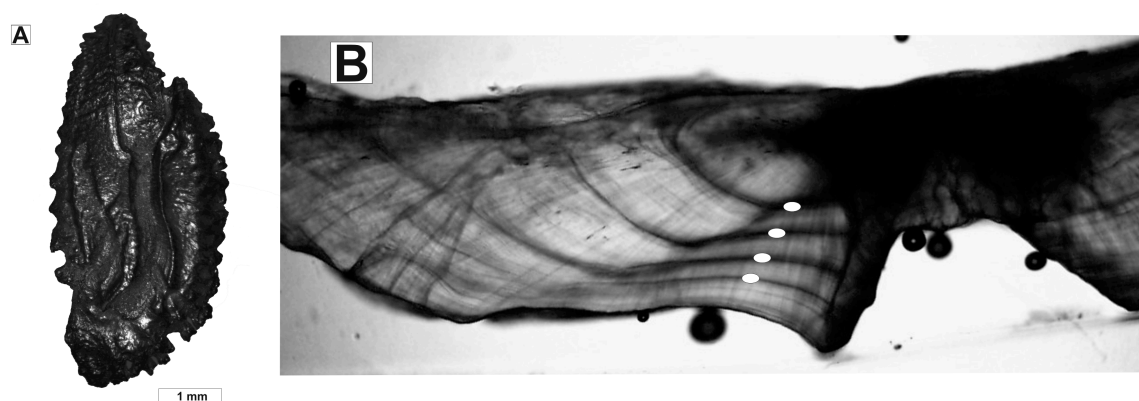


Figura 2 – Otólito *sagittae* esquerdo da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (A). Corte transversal do otólito sagittae (10X) de uma garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (B) com 470 mm de CT e com idade estimada em 4+ anos. A leitura foi realizada com luz transmitida, evidenciando clara diferença entre as bandas opacas (escura) e translúcidas (claras).

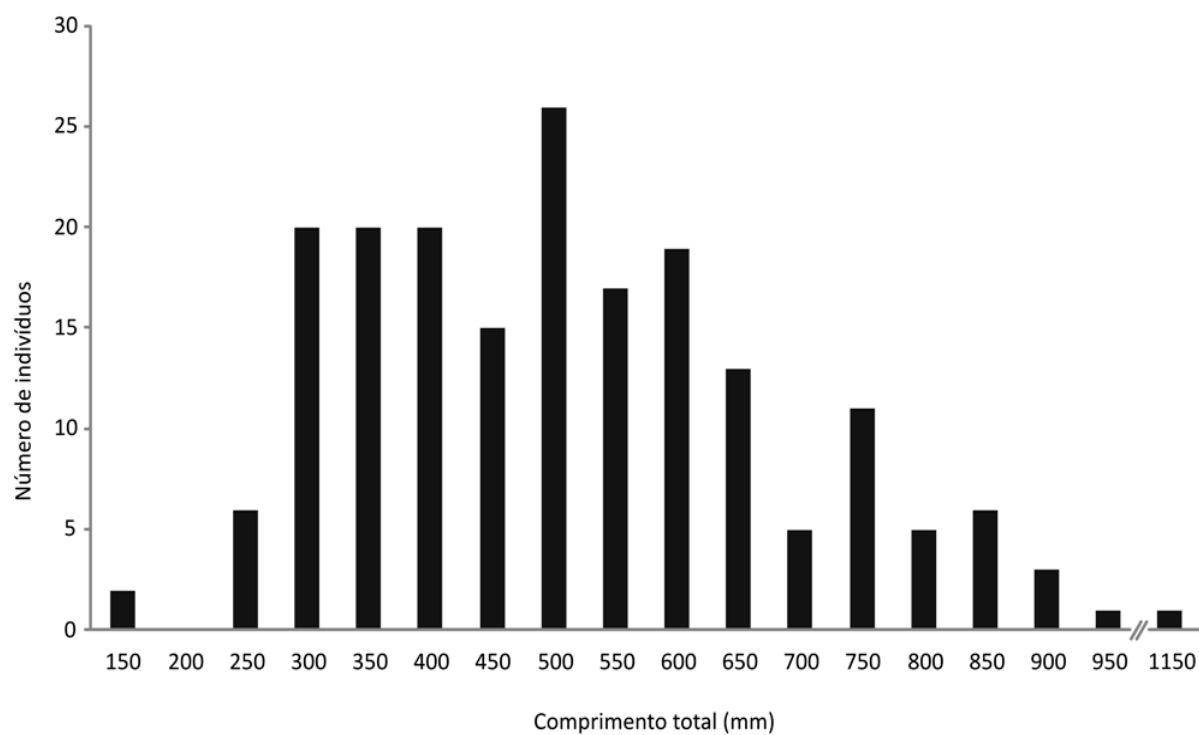


Figura 3 – Histograma dos comprimentos totais (mm) dos exemplares de garoupa-verdadeira capturados no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste. n=189.

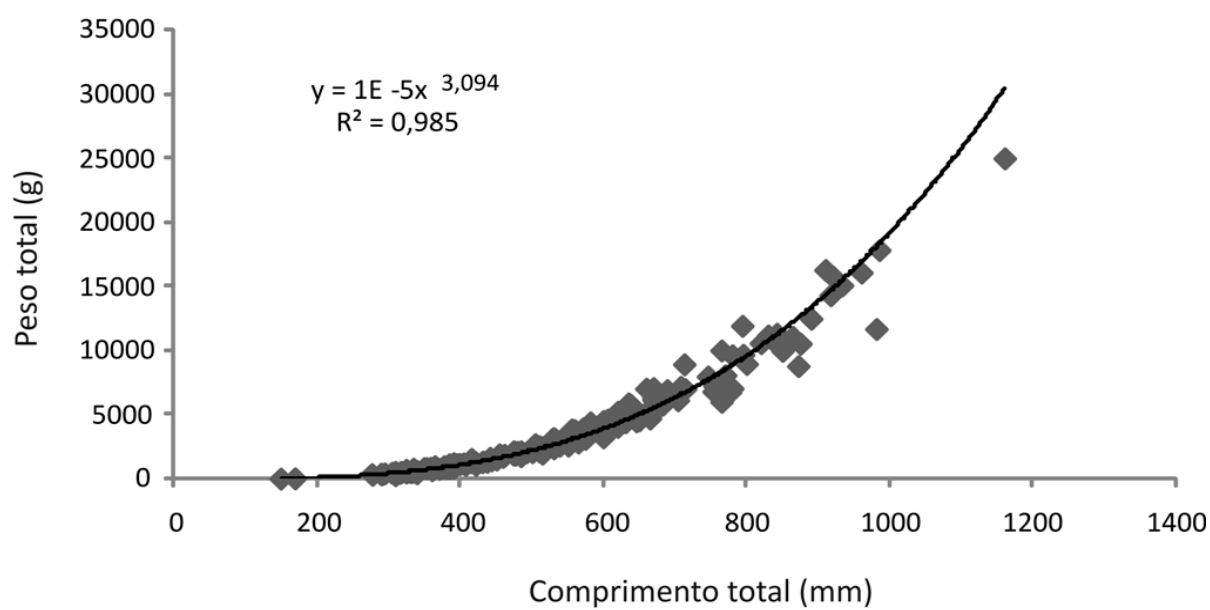


Figura 4 – Relação peso–comprimento da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste. n=211.

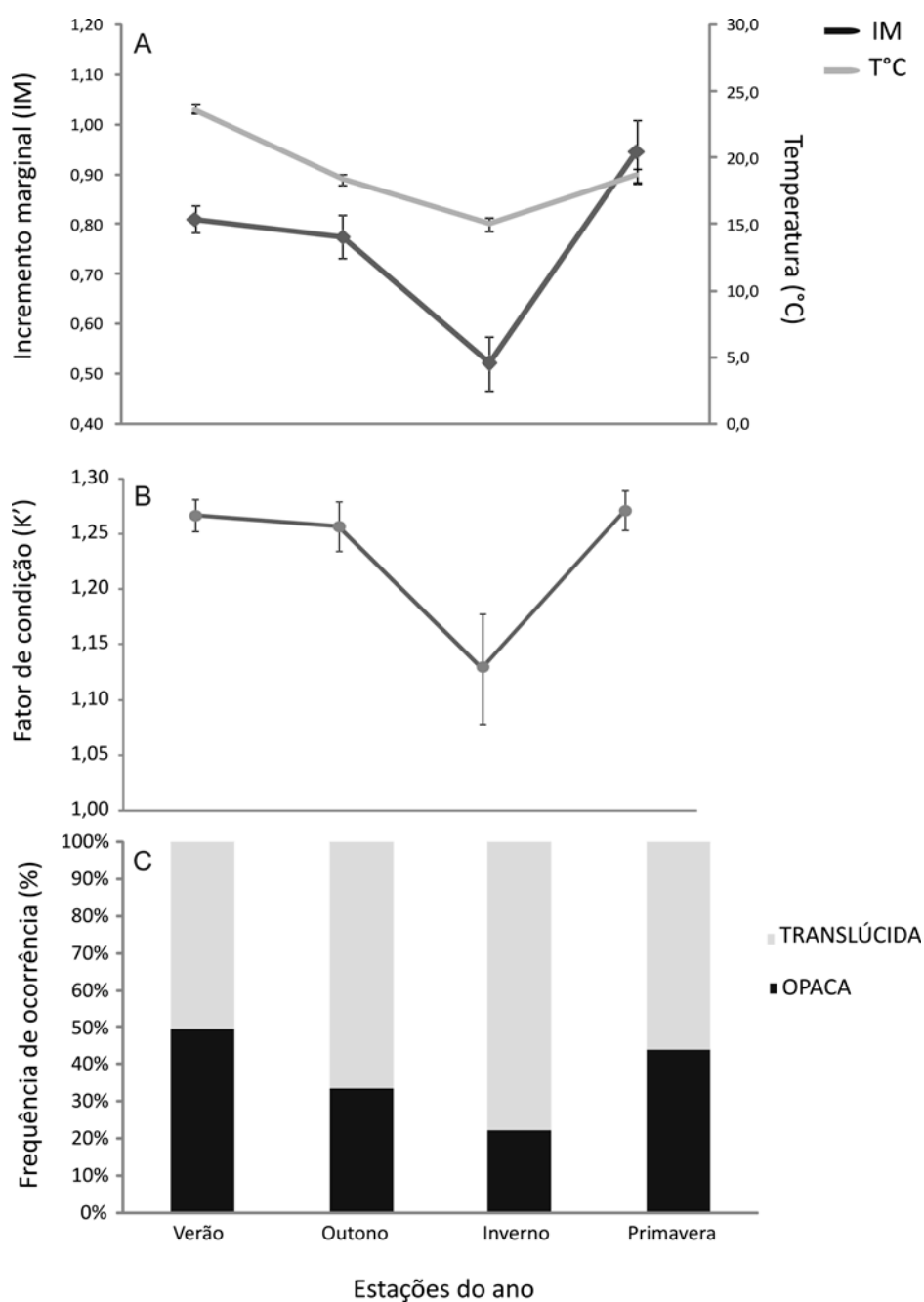


Figura 5 – Variação sazonal nos valores médios ($\pm$ IC) do incremento marginal e temperatura da água do mar (A), fator de condição (B) e frequência de ocorrência das bordas opacas e translúcidas (C). n=189.

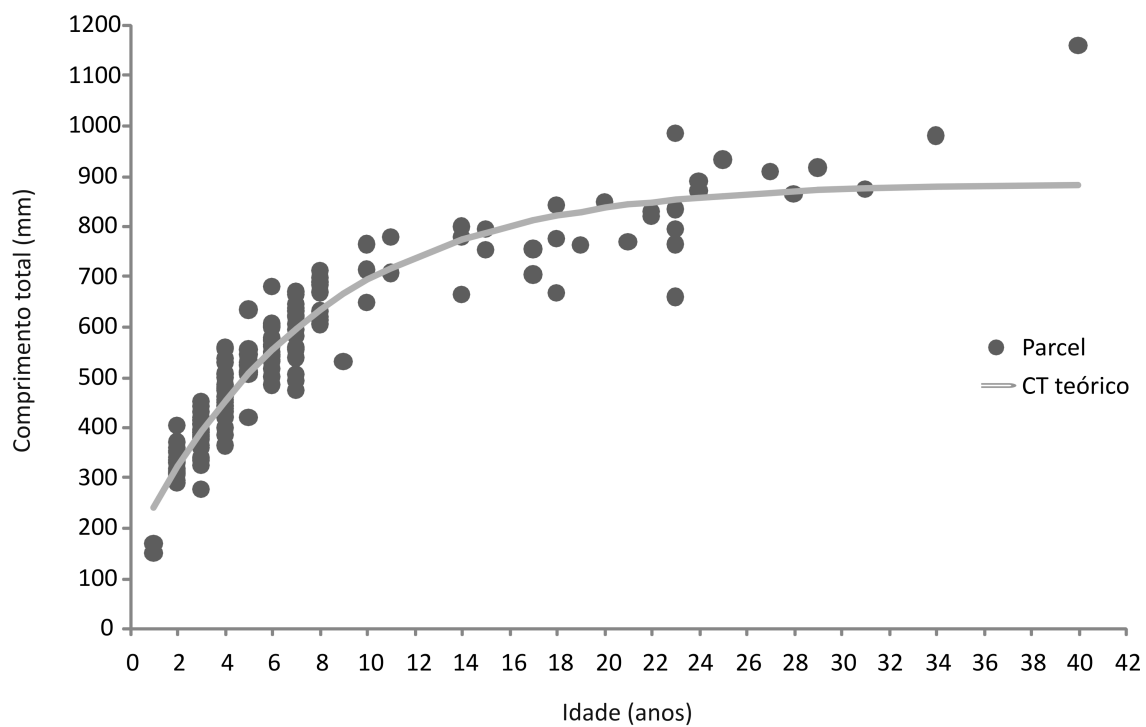


Figura 6 – Curva de von Bertalanffy ajustada para idade e comprimento da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* coletada no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste. n=189.

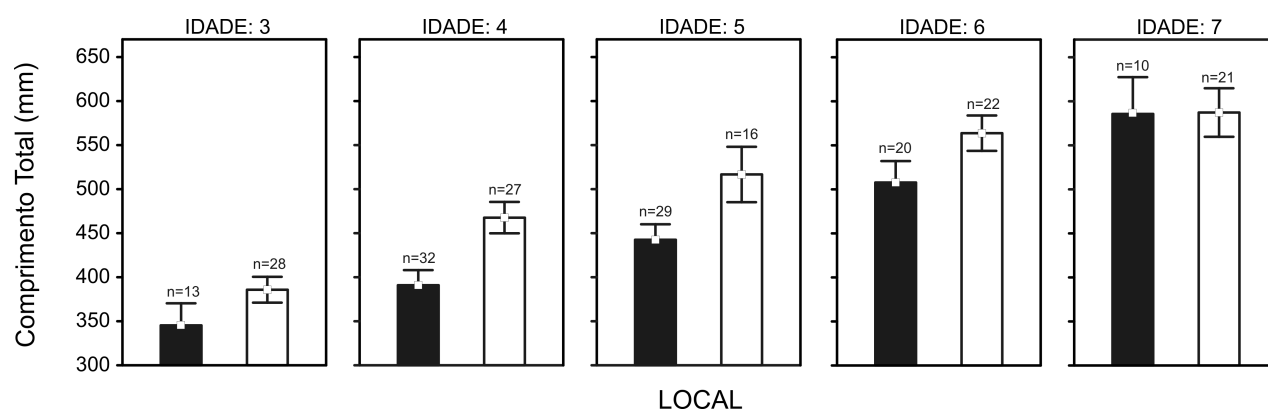


Figura 7 – Média do comprimento total ($\pm$ IC) por classe de idade das garoupas-verdadeiras *Epinephelus marginatus* coletadas entre dois locais, região litorânea rasa (barras em preto) e na região profunda (barras em branco).

III. SEGUNDO CAPÍTULO DA DISSERTAÇÃO

Biologia reprodutiva da garoupa-verdadeira (*Epinephelus marginatus*) no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste.

Mario V. Condini ^{1*}, Luís F. Fávaro², Antônio S. Varela Jr.³ & Alexandre M. Garcia¹

¹Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Ictiologia, CP 474, 96.201-900, Rio Grande, RS, Brasil

²Universidade Federal do Paraná, Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas, Curitiba, PR, Brasil

³Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Histologia, 96.201-900, Rio Grande, RS, Brasil

*E-mail correspondência: mvcondini@yahoo.com.br

Introdução

As garoupas são representadas por diversas espécies de grande importância nos ecossistemas marinhos, e desempenham um papel fundamental na manutenção e no equilíbrio da cadeia alimentar, atuando muitas vezes como predadores de topo dos ecossistemas em que estão inseridos (Parrish, 1987; Reñones et al., 2002). As diferentes espécies de garoupas apresentam características de organismos com tendência K estrategista, com um complexo modo reprodutivo, maturação sexual tardia e lenta taxa de crescimento (Manooch, 1987). Estas características, associadas ao seu grande valor comercial em toda a sua área de ocorrência (Heemstra & Randal, 1993), tornam estas espécies mais sensíveis à sobre-exploração pesqueira (Hunstman et al., 1999; Coleman et al., 2000).

A garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) é uma espécie hermafrodita protogínica monândrica (Marino et al. 2001) pertencente à família Epinephelidae. Esses indivíduos possuem ampla distribuição nos oceanos, ocorrendo ao longo do Mar Mediterrâneo e em ambas as costas do Oceano Atlântico. Na costa oeste do Oceano Atlântico, a garoupa-verdadeira é registrada do Rio de Janeiro até a região patagônica da Argentina (Figueiredo & Menezes, 1980; Irigoyen et al., 2005), enquanto que na costa leste ela distribui-se das Ilhas Britânicas até a África do Sul (Heemstra & Randall, 1993). A garoupa-verdadeira também é encontrada no Oceano Índico, na costa sul e sudeste do continente africano (Fennessy, 2006). Habitam locais de fundos rochosos, até 250 m de profundidade, mas ocorrem em maior densidade nas profundidades de até 50 m (Bruslé, 1985; Heemstra & Randall, 1993; Harmelin &

Harmelin-Vivien, 1999). Assim como outras espécies de garoupas, devido a sua complexa estratégia de vida e o aumento da pressão pesqueira, a garoupa-verdadeira é considerada pela “International Union for Conservation of Nature” (IUCN) como “ameaçada de extinção” (EN A2d) (Cornish & Harmelin-Vivien, 2004).

Assim, devido ao seu precário estado de conservação, nos últimos anos tem havido um maior interesse de pesquisas em vários países em estudar a ecologia da garoupa-verdadeira, a fim de estabelecer medidas de gestão pesqueira (Marino et al. 2001; Fennessy, 2006; Reñones et al. 2010), bem como informações que auxiliem seu cultivo em cativeiro (Marino et al., 2003; Sanches et al., 2007; Cunha et al. 2009) e no repovoamento de locais degradados (La Messa et al. 2008). A população de garoupa-verdadeira do Mar Mediterrâneo, em particular, é a que tem sido mais intensamente estudada em relação à ecologia trófica (Reñones et al. 2002; Linde et al., 2004; López & Orvay, 2005), estrutura etária e crescimento (Chauvet, 1988; Kara & Derbal, 1995; Bouchereau et al., 1999; Reñones et al., 2007), e cultivo visando repovoamento (La Mesa et al., 2008). Os estudos de biologia reprodutiva, em especial, têm recebido bastante atenção dos pesquisadores e são considerados de grande importância na medida em que geram informações cruciais para a conservação da espécie, tais como: determinação da localização de agregações reprodutivas (Zabala et al. 1997), determinação da estação de desova (Kara & Derbal, 1999; Marino et al., 2001; Reñones et al., 2010), comprimento médio de primeira maturação das fêmeas e registro de indivíduos em transição sexual (Marino et al., 2001; Reñones et al., 2010). Entretanto, os estudos com garoupa-verdadeira no Oceano Atlântico são poucos,

sendo escassos os estudos sobre a biologia reprodutiva da espécie (Andrade et al., 2003; Seyboth et al., 2011).

O único trabalho sobre a biologia reprodutiva da garoupa-verdadeira no extremo sul do Brasil foi realizado por Seyboth et al. (2011) nos molhes da barra de Rio Grande (32°09'S; 52°05'O). Através da análise microscópica das gônadas, esses autores observaram que os indivíduos que ocorrem nesse local são exclusivamente fêmeas imaturas, ou em repouso sexual, levando a conclusão de que esse habitat litorâneo (profundidade menor que 5 m) funciona como área de crescimento e alimentação (Condini et al., 2011). Seyboth et al. (2011) sugerem a hipótese de que a reprodução da espécie no extremo sul do Brasil ocorre em fundos rochosos mais profundos (>15 m) situados ao longo da costa do Rio Grande do Sul.

Visando avaliar a hipótese proposta por Seyboth et al. (*op. cit.*), o presente trabalho investiga vários aspectos da biologia reprodutiva tais como os estádios gonadais de fêmeas e machos, os índices gonadossomático, e o período reprodutivo de indivíduos de garoupa-verdadeira num fundo rochoso distante aproximadamente 16 milhas náuticas da costa em profundidades entre 15 e 25 m. Os resultados obtidos confirmam a hipótese investigada e avançam o conhecimento sobre a biologia reprodutiva da garoupa-verdadeira no limite austral da sua distribuição no Oceano Atlântico.

Material e Métodos

Exemplares da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* foram capturados no Parcel do Carpinteiro (PC) (32°16' S; 051°47' O), um elevado submerso (seamount) composto por *beach rocks* altamente cimentados por carbonato de cálcio recristalizado, o PC encontra-se na isóbata dos 20 m a aproximadamente 16 milhas náuticas da região costeira (Buchmann et al., 2001; Abreu & Calliari, 2005) (Fig. 1).

Os indivíduos foram obtidos entre janeiro de 2008 a abril de 2011 junto à frota pesqueira industrial local. De acordo com entrevistas realizadas aos mestres das embarcações, verificou-se que os exemplares obtidos foram provenientes do PC (Fig. 1), e capturados manualmente por meio de linha de mão.

Em laboratório, foi mensurado o comprimento total (CT) em milímetros (mm) e o peso total (PT) em gramas (g) de cada espécime. Após secção ventral, os exemplares tiveram o fígado e as gônadas extraídas, os quais tiveram seus pesos registrados em gramas (g). Posteriormente, amostras das gônadas foram fixadas em formalina 10%.

As amostras foram processadas manualmente, desidratadas em alcoóis em concentração crescente, diafanizado em xilol, impregnados e incluídos em Paraplast Xtra (Sigma – P3808), as peças foram seccionadas com 5 µm de espessura com micrótomo rotativo sendo as lamínas coradas com hematoxilina-eosina (HE). A análise histológica possibilitou a determinação do desenvolvimento gonadal, baseando-se na escala proposta por Marino et al. (2001), adaptada para este estudo (Tabela I).

Os critérios utilizados para a determinação do desenvolvimento ovariano foram: o desenvolvimento dos folículos ovarianos, a ocorrência de folículos vazios e atresicos e a quantidade de estroma nas lamelas (Oliveira & Favaro, 2011). Para indivíduos em

transição sexual foi analisada a organização tecidual e o grau de desenvolvimento dos tecidos ovariano e testicular da gônada (Hastings, 1981; Sadovy and Shapiro, 1987; Webb & Kingsford, 1992). O desenvolvimento testicular foi realizado considerando a presença/ausência e a quantidade dos diferentes tipos celulares da linhagem germinativa masculina (Gomes & Araújo, 2004).

O ciclo reprodutivo foi determinado a partir da distribuição da frequência percentual dos estádios de desenvolvimento gonadal obtidos pela análise histológica, e também pela variação do índice gonadosomático ($IGS = (PG / PT - PG) \times 100$). Onde, PT é o peso total (g) do espécime, enquanto que PG é o peso da gônada (g). Como os dados de IGS não apresentaram normalidade nem homocedasticidade, as diferenças temporais nos valores médios desses índices foram avaliadas pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis e pelo teste de post-hoc de Mann-Whitney (Sokal & Rohlf, 1995). Para determinar o período de desova da garoupa-verdadeira, foram utilizados apenas os indivíduos adultos.

A diferença do comprimento total médio entre machos e fêmeas foi testada usando o teste t, sendo corroborado pelo teste não paramétrico de Kolmogorov-Smirnov (Sokal & Rohlf, 1995).

O comprimento de primeira maturação (L50) corresponde à classe de comprimento onde 50% da população encontra-se madura sexualmente. Neste estudo o L50 foi determinado para as fêmeas. O L50 foi estimado através da curva que relaciona a frequência relativa de indivíduos adultos com o ponto médio das classes de comprimento. A equação utilizada para ajustar a curva foi expressa pela seguinte fórmula: $Fr = 1 - \exp(-aL_t^b)$, onde: (Fr) é a frequência relativa de indivíduos adultos,

(exp) refere-se à base do logaritmo neperiano, (a e b) coeficientes estimados pelo método dos mínimos quadrados aplicado na relação linear obtida pela transformação das variáveis envolvidas, (Lt) ponto médio das classes de comprimento total (King, 1995).

Para estimar a proporção sexual entre machos e fêmeas, e apenas entre machos e fêmeas adultas, foi usado o teste de Qui-quadrado de Pearson ($\alpha = 0,05$) (Sokal & Rohlf, 1995), tendo como base uma relação esperada a proporção de 1:1.

Devido à baixa captura da garoupa-verdadeira nos meses frios (de agosto a outubro), não foi possível realizar a análise numa escala mensal e os dados foram agrupados por estação do ano, da seguinte forma: verão (janeiro a março), outono (abril a junho), inverno (julho a setembro) e primavera (outubro a dezembro).

Resultados

Um total de 201 exemplares de garoupa-verdadeira teve suas gônadas analisadas microscopicamente, correspondendo a 184 fêmeas, 16 machos e um indivíduo em transição sexual. O comprimento total dos indivíduos analisados variou entre 278 e 1160 mm. O tamanho das fêmeas variou entre 278 e 933 mm ($\bar{x} = 517,2$ mm CT), sendo que fêmeas adultas apresentaram média significativamente maior ($\bar{x} = 617,5$ mm CT, $n = 106$) que as fêmeas imaturas ($\bar{x} = 383,5$ mm CT, $n = 78$) (Teste-t, $p < 0,001$). O CT dos machos variou entre 515 e 1160 mm, com valor médio de 878,2 mm. O CT médio dos machos (878,2 mm) foi significativamente maior (Teste-t, $p < 0,001$) que o das fêmeas (517,2 mm) (Fig. 2).

A análise histológica permitiu identificar cinco estádios de desenvolvimento ovariano (Imaturo - F1, Em maturação - F2, Maduro - F3, Semidesovado - F4 e Recuperado - F5 (Fig. 3), e quatro estádios de desenvolvimento testicular (Em maturação - M1, Maduro - M2, Semiesgotado - M3 e Esgotado - M4) (Fig. 4). A desova do tipo parcelada foi determinada pela presença de ovários semidesovados, caracterizados pelo desenvolvimento assincrônico dos folículos ovarianos (Tabela I e Fig. 3).

A análise da distribuição da frequência percentual sazonal dos estádios gonadais da garoupa-verdadeira permitiu observar que ovários em maturação começam a ocorrer no final do outono, aparecendo com maior frequência durante o inverno, enquanto que os testículos começaram a maturar apenas durante o inverno. A primavera, período que não ocorreu captura de indivíduos machos, foi a estação do ano com a maior frequência de ovários maduros, enquanto fêmeas com gônadas semidesovadas e machos com gônadas semiesgotadas foram observados em maior quantidade no verão. Ainda foi verificado que fêmeas imaturas e com as gônadas em pós-desova (Recuperado) ocorreram em alta frequência em todo o período de estudo (Fig. 5).

A análise do IGS médio sazonal corroborou os resultados obtidos pela distribuição dos estádios gonadais (Fig. 6). As fêmeas apresentaram diferenças estatisticamente significativas (K-W, $p < 0,05$) entre os valores médios de IGS durante o período analisado, com valores médios de IGS menores durante os meses de outono e inverno, tendo seu pico durante a primavera e havendo um decréscimo durante o verão (Fig. 6). Os indivíduos machos apresentaram o mesmo padrão observado para as fêmeas com menores valores de IGS no outono e inverno (Fig. 6). O maior valor individual do IGS encontrado para as fêmeas foi de 7,79%, enquanto que para os machos foi de

0,57%. Assim, através das análises histológicas, da distribuição dos estádios gonadais e do IGS médio, é possível inferir que o período reprodutivo da *E. marginatus* ocorre na primavera e verão, as quais apresentam as maiores frequências de indivíduos com gônadas maduras e semidesovadas (fêmeas) e semiesgotados (machos).

No presente estudo a menor fêmea adulta apresentou 391 mm CT e a maior fêmea imatura 555 mm CT, sendo que o comprimento de primeira maturação (L50) para as fêmeas foi estimado em 496 mm CT (Fig.7). Não foi possível estimar o comprimento médio de transição sexual para a garoupa-verdadeira, devido ao baixo número de indivíduos machos amostrados.

A proporção sexual (M:F) da população analisada foi de 1:11,5, sendo significativamente diferente da proporção esperada de 1:1 para a maioria dos teleósteos (teste de Pearson χ^2 ; $n = 200$, $p < 0,001$). Essa razão diminui, aproximadamente pela metade 1:6,6 quando são consideradas apenas as fêmeas adultas, sendo ainda significativamente diferente da proporção de 1:1 para a maioria dos teleósteos (teste de Pearson χ^2 ; $n = 112$, $p < 0,001$).

Discussão

Padrão sexual

Foram observadas três características no presente estudo, sugeridas por Sadovy & Shapiro (1987), para que uma espécie de peixe seja classificada como hermafrodita protogínica: 1) a ocorrência de ao menos um indivíduo de transição sexual das gônadas; 2) a presença de seios espermáticos na parede das gônadas masculinas e 3) a

presença de uma membrana central revestindo o lúmen vestigial, o qual não é utilizado para o transporte dos espermatozóides. A evidência de sucessão sexual também é consolidada por outras características observadas, como a organização lamelar das gônadas masculinas e uma distribuição de frequência bimodal de tamanho, com machos sendo significativamente maiores que as fêmeas (Marino et al., 2001; Fennessy, 2006).

Segundo Condini et al. (submetido), o fato de ter sido encontrado um único indivíduo em transição sexual na área de estudo pode ser explicado pelo fato de que nem todas as fêmeas da população passam por este processo de reversão sexual (Shapiro, 1987; Coleman et al., 1996; Mackie, 2003), e também devido ao fato da rápida degeneração do tecido ovariano e rápido desenvolvimento de tecido testicular (Brulé et al., 2003). O número de indivíduos no estágio de transição sexual foi também reduzido nos estudos de Brulé et al. (2003), Fennessy (2006), Bustos et al. (2010), e de Reñones et al. (2010). Especificamente para *E. marginatus* no Oceano Atlântico, nenhum indivíduo havia sido caracterizado, anteriormente, em estágio de transição sexual (ver Andrade et al., 2003; Gerhardinger et al., 2006; Seyboth et al., 2011).

A proporção sexual para a garoupa-verdadeira encontrada no presente trabalho (1:6,6), foi similar as encontradas por Zabala et al. (1997) e Reñones et al. (2010) (1:7,0 e 1:7,4, respectivamente) para duas populações estudadas na Espanha e também por Fennessy (2006) no sudeste africano (1:5,5).

De acordo com Coleman et al. (1996), espécies que realizam agregações reprodutivas são mais suscetíveis a pesca, evidenciando, assim, um aumento de fêmeas em relação aos machos, pois a pesca tende a capturar espécimes com maior porte, logo retiram-se

primeiramente os machos. No entanto, tanto os estudos de Zabala et al. (1997a, b) que foram desenvolvidos em uma Área Marinha Protegida (AMP), quanto o de Reñones et al. (2010), que avaliou a população em uma área aberta à pesca, apresentaram, ambos, proporções sexuais semelhantes, a princípio discordando da hipótese de Coleman et al. (1996). No entanto, a AMP estudada por Zabala et al. (1997a, b), quando foi realizado o estudo, tinha apenas 13 anos de existência, considerando que a população de garoupa-verdadeira desse local, anteriormente da fundação da AMP, estava sobre-explorada, e o fato da espécie ser longeva e apresentar crescimento lento, a proporção sexual (M:F) poderia ainda não estar restabelecida, por isso, apresentaram valores semelhantes ao de Reñones et al. (2010).

Estação de desova

A análise histológica das gônadas permitiu, ainda, determinar que a garoupa-verdadeira no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste possui desova do tipo parcelada. Essa conclusão é corroborada pela presença de ovários semidesovados e de testículos semiesgotados, assim como encontrado em estudos com populações do Mediterrâneo (Marino et al., 2001; Reñones et al., 2010).

Apesar de ser um bom indicativo do período reprodutivo (Wilk et al., 1990) o IGS não pode determinar com precisão a duração de todo o evento reprodutivo, para isso são necessárias análises histológicas das gônadas (Grau et al., 2009) com maior detalhe e frequência de coleta.

A histologia associada à utilização de outras análises permitiram evidenciar o período reprodutivo e o de desova nas estações de primavera e verão, permitindo-nos

considerar um longo período de desova, como observado para as populações do Mar Mediterrâneo (Marino et al., 2001; Reñones et al., 2010), do Índico Sudoeste (Fennessy, 2006) e Atlântico Sudoeste (Andrade et al., 2003). A desova prolongada, segundo Garvey et al. (2002), pode contribuir no recrutamento da espécie em locais com fatores ambientes variáveis, na medida que pode aumentar a sobrevivência e o crescimento dos alevinos.

O período reprodutivo encontrado no presente trabalho foi similar ao encontrado por outros estudiosos, tanto no hemisfério norte (Spedicato et al., 1995; Kara & Derbal, 1999; Marino et al., 2001; Reñones et al., 2010) quanto no hemisfério sul (Andrade et al., 2003; Fennessy, 2006). Nos estudos do hemisfério norte os picos de desova ocorreram nos meses do verão (julho e agosto), sendo um pouco mais tarde que o pico de desova encontrado para os indivíduos desse estudo e dos demais estudos realizados no hemisfério sul, que ocorreram entre o último mês de primavera e o primeiro de verão (dezembro e janeiro, respectivamente).

No presente estudo não foi observado o comportamento de agregação reprodutiva para a garoupa-verdadeira no sul do Atlântico Sudoeste, como definido por Domeier & Colin (1997). No entanto, há registros no Mar Mediterrâneo dessas agregações reprodutivas estarem ocorrendo entre os meses de junho e julho (Marino et al., 2001) e em agosto (Zabala et al., 1997a, 1997b), em locais com profundidades entre 20-30 m. Durante as agregações, a desova da garoupa-verdadeira no Mediterrâneo ocorre na forma de haréns, onde um macho está associado a várias fêmeas (Zabala et al., 1997a, 1997b). Apesar de não termos evidências concretas de agregações reprodutivas na área de estudo, é provável que essas agregações ocorram no PC, devido ao fato de ter

sido observado durante a análise histológica de nove indivíduos coletados do mesmo desembarque em 13 de janeiro de 2009. Destes, foram encontradas, uma fêmea madura (F3) e três fêmeas parcialmente desovadas (F4), além de cinco machos semiesgotados (M3), sendo que havia mais indivíduos de grande porte na embarcação, que não puderam ser amostrados (observação pessoal, MVC). Embora o presente trabalho não tivesse por objetivo determinar a existência ou a localização dessas áreas de agregações reprodutivas, entendemos que a determinação da ocorrência, localização e período desse evento é de grande importância para auxiliar na conservação dessa espécie que é altamente vulnerável a pesca.

Assim, nossos resultados permitem sugerir que o Parcel do Carpinteiro é a região mais austral do Atlântico Sudoeste que ocorre a reprodução da garoupa-verdadeira. Esta afirmação é fortemente corroborada pela observação de ovários semidesovados e testículos semiesgotados, que demonstram atividade reprodutiva e, ainda, pela observação de folículos hialinizados, os quais hidratam pouco antes da desova e caracterizam a desova eminente.

Primeira maturação e reversão sexual

No presente estudo determinou-se que a garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* atingiu a maturidade sexual com um tamanho de 49,6 cm CT, aproximadamente com 50% do comprimento máximo registrado, sendo essa uma característica para os indivíduos do gênero, por exemplo, *M. microlepis* apresentou seu $L_{50} = 72,1$ cm (Brulé et al., 2003), *M. bonaci* com $L_{50} = 72,1$ cm (Brulé et al., 2003), enquanto que a *M. fusca*

teve seu $L_{50} = 33,5$ cm (Bustos et al., 2010). Sugerindo, assim, que a maturidade sexual para as espécies do gênero está diretamente relacionada ao tamanho do indivíduo (*M. microlepis* com CT máximo de 1450 mm; *M. bonaci* com CT máximo de 1500 mm; *M. fusca* com CT máximo de 800 mm).

O comprimento médio de primeira maturação registrado para as fêmeas da população analisada mostrou-se semelhante aos valores encontrados nos estudos de Marino et al. (2001) e de Reñones et al. (2010) no Mar Mediterrâneo, e para os estudos realizados no Atlântico Sudoeste por Andrade et al. (2003), no litoral de Santa Catarina, e Seyboth et al. (2011), em uma área costeira rasa próxima a área de estudo do presente trabalho. No entanto, registros com valores diferentes do padrão detectado foram observados por Kara & Derbal (1999) na Argélia e por Fennessy (2006) no Índico Sudoeste (Tabela II). Segundo Hunter et al. (1992), a metodologia utilizada para determinar o sexo e o estágio gonadal (identificação macroscópica ou microscópica), o número e variação amostral e o período de amostragem, podem interferir na estimativa do comprimento de primeira maturação. Sendo assim, o uso de análise macroscópica na determinação sexual por Kara & Derbal (1999) poderia explicar a diferença observada entre esse estudo e os demais.

Através dos estudos realizados por Marino et al. (2001) e Reñones et al. (2010) constata-se que a garoupa-verdadeira, no Mar Mediterrâneo, apresentou nas últimas décadas uma diminuição no tamanho de reversão sexual. Esta redução, provavelmente, está relacionada com a pesca intensiva e sobre-exploração dos grandes machos no local, provocando uma variação na tática reprodutiva, fazendo com que os indivíduos façam a reversão sexual mais cedo na sua vida. Estudos prévios

mostram que algumas espécies hermafroditas apresentam a tendência de antecipar sua reversão sexual devido ao aumento nas altas taxas de mortalidade natural (Gust, 2004) ou pelo aumento da mortalidade por pesca (Hawkins & Roberts, 2003).

A obtenção de machos pequenos (51,5 cm de CT) (Tabela II) sugere que a reversão sexual da garoupa-verdadeira no Atlântico Sudoeste possa estar ocorrendo em indivíduos com comprimentos menores que os descritos por Bruslé & Bruslé (1975; entre 68 e 110 cm de CT) e Marino et al. (2001; entre 69 e 93 cm de CP) e próximos ao comprimento determinado por Reñones et al. (2010; entre 52,1 e 76,9 cm de CT).

Apesar de ter sido coletado um indivíduo macho com comprimento próximo ao tamanho médio de primeira maturação das fêmeas, não foi encontrada nenhuma evidência de machos primários nas análises histológicas, ou seja, todos os machos são provenientes de uma transição sexual das fêmeas, sendo então machos secundários. Essas observações sugerem que as mudanças de sexo estão relacionadas ao comportamento social da população, como apresentado para outras espécies de garoupas (Shapiro, 1987; Coleman et al., 1996; Mackie, 2003).

Comparação entre habitats profundos e litorâneos no sul do Atlântico Sudoeste

O estudo realizado por Seyboth et al. (2011) com a garoupa-verdadeira nos molhes da barra de Rio Grande, região litorânea rasa (<5 m de profundidade), localizado a aproximadamente 16 milhas náuticas da área do Parcel do Carpinteiro (15–25 m de profundidade), apresentou características reprodutivas diferentes da encontrada neste estudo, sendo representada por 52% de fêmeas imaturas e 48% de fêmeas no estágio

recuperados. Não foi detectada nenhuma atividade reprodutiva no local, além de não terem sido encontrados nenhum indivíduo macho ou em transição sexual (Tabela II). Diferentemente do presente estudo, onde foram coletados indivíduos machos, em transição sexual e fêmeas em diferentes estágios de maturação sexual. Esses resultados, portanto, confirmaram a hipótese proposta por Seyboth et al. (2011) de que a garoupa-verdadeira que ocorre no extremo sul do Brasil se reproduz em fundos rochosos distantes do litoral, em profundidades entre 15 e 25 m.

Nesse contexto, parece plausível a hipótese de que locais de fundos rochosos mais profundos (15-25 m) constituem manchas de habitats de maior qualidade para a garoupa-verdadeira no extremo sul do Atlântico Sudoeste, do que fundos rochosos adjacentes ao litoral (< 5 m). Segundo o modelo metapopulacional de fonte-sumidouro (*source-sink model*), manchas de habitat de menor qualidade não possuem todos os requisitos ambientais e biológicos necessários para que a espécie se reproduza e complete seu ciclo de vida (*sink* ou sumidouro), sendo dependente da dispersão de indivíduos (larvas e/ou juvenis) de manchas de habitat de maior qualidade (*source* ou fonte) (Pulliam, 2000). De acordo com esse modelo, a região litorânea estudada poderia ser considerada uma mancha de habitat de menor qualidade, quando comparado aos fundos rochosos mais profundos, como o Parcel do Carpinteiro.

Estudos sobre a dispersão e movimento dos indivíduos entre essas duas regiões, por meio de técnicas como telemetria e microquímica de otólitos, deveriam ser realizados para poder avaliar essa hipótese de conectividade entre as duas áreas.

Conclusão

A partir dos resultados apresentados foi demonstrado que o Parcel do Carpinteiro representa uma importante área de reprodução da garoupa-verdadeira no limite austral da sua distribuição no Atlântico Sudoeste. Ao longo do estudo foram coletados indivíduos em diferentes estágios de desenvolvimento gonadal, desde fêmeas imaturas a fêmeas semidesovadas, o mesmo ocorrendo para os machos. O período de desova da garoupa-verdadeira no PC ocorre entre o final da primavera e início do verão. As fêmeas apresentam o comprimento médio de primeira maturação a partir dos 49 cm de comprimento total. Essas informações sobre o período reprodutivo e o tamanho de primeira maturação podem ser úteis no desenvolvimento de um plano de gestão visando à conservação da espécie, o qual poderia incluir áreas de proibição da pesca, período de defeso e também a determinação de um tamanho mínimo de captura da garoupa-verdadeira. Fornecendo, assim, subsídios importantes para a melhor gestão da pesca dessa espécie que está tão vulnerável a extinção.

Tabela I - Descrição microscópica dos estágios gonadais de fêmeas, indivíduos em transição sexual e machos de garoupa verdadeira *Mycteroperca marginata* no sul do Atlântico Sudoeste. Média dos índices gonadossomático (IGS) e hepatossomático (IHS) para os diferentes estágios gonadais com seus respectivos erro padrão ($\pm$ EP).

Sexo	Estágios	Descrição histológica
Fêmea	Imaturo (F1)	Ovário com lamelas ovígeras pequenas e próximas, preenchidas por oogônias e folículos ovarianos pré-vitelogênicos, caracterizados pela ausência de inclusões citoplasmáticas (vesículas citoplasmáticas e grânulos de vitelo). IGS = 0,07 (0,006); IHS = 1,28 (0,044).
	Em maturação (F2)	Lamelas contendo folículos ovarianos pré-vitelogênicos e folículos ovarianos em vitelogênese. No início deste estágio ocorrem folículos vitelogênicos com vesículas citoplasmáticas no ovócito. Com o avanço do desenvolvimento ovariano surgem os ovócitos contendo grânulos de vitelo no citoplasma, aumentando em número até atingir a próxima fase. IGS = 0,51 (0,054); IHS = 1,73 (0,238).
	Maturo (F3)	Neste estágio o ovário apresenta folículos ovarianos pré-vitelogênicos associados aos folículos ovarianos em vitelogênese. Ovócitos com o citoplasma repleto de grânulos de vitelo predominam neste estágio, mas são também observados, em menor quantidade, ovócitos contendo vesículas citoplasmáticas e folículos em atresia. Em momento próximo a desova pode ser observado ovócitos hidratados. IGS = 5,96 (0,658); IHS = 1,87 (0,244).
	Semidesovado (F4)	Ovário com folículos pré-vitelogênicos e em diferentes fases de vitelogênese, encontram-se associados com folículos vazios. Este estágio evidencia atividade reprodutiva e caracteriza a desova parcelada. IGS = 2,54 (0,569); IHS = 1,93 (0,329).
	Recuperado (F5)	Dobras ovígeras com grande quantidade de tecido conjuntivo associado a feixes musculares com poucos ovócitos vitelogênicos entre muitos folículos vitelogênicos atrésicos. Vasos sanguíneos alargados. Células germinativas primárias, oogônias e pequenos oócitos previtelogênicos no estágio de cromatina nuclear e no estágio de perinúcleo especialmente localizadas na periferia das pregas do ovário. IGS = 0,12 (0,013); IHS = 1,56 (0,057).
Transicional	Transição sexual	Tecido ovariano associado ao tecido testicular. Nesta etapa do ciclo de vida, a gônada masculina em formação ainda exibe o lúmen ovariano.
Macho	Em maturação (M1)	Neste estágio os lóbulos testiculares apresentam diferentes tipos celulares da linhagem germinativa masculina (espermátogônias, espermátócitos e espermátides), podendo apresentar inclusive espermatozóides. IGS = 0,27; IHS = 1,64.
	Maturo (M2)	O testículo apresenta os lóbulos testiculares preenchidos predominantemente por espermatozóides.
	Semi esgotado (M3)	Neste estágio, os testículos que se apresentavam anteriormente preenchidos por espermatozóides, mostram-se agora parcialmente esvaziados, demonstrando a eliminação de parte do seu conteúdo. O valor do IGS médio é semelhante ao estágio em maturação, no entanto, a constituição celular e a estrutura dos lóbulos são diferentes. IGS = 0,32 (0,043); IHS = 1,34 (0,091).
	Esgotado (M4)	Os testículos esgotados apresentam-se com os lóbulos esvaziados, com espaços e tecido conjuntivo evidente. Baixa atividade espermatogênica e abundância de espermatogônias. IGS = 0,15 (0,008); IHS = 1,26 (0,065).

Tabela II - Tamanho mínimo (Lmin) e médio (L50) de primeira maturação para fêmeas, número de fêmeas, machos e transicionais, razão sexual, variação de CT para fêmeas e machos de garoupas verdadeiras *Mycteroperca marginata* coletadas em diferentes estudos.

Estudo	Data coletas	Local	Tamanho de primeira maturação para fêmeas (cm)		Fêmeas (n)	Machos (n)	Transicionais (n)	Razão sexual (M:F)	Variação CT fêmeas (cm)	Variação CT machos (cm)
			Lmin	L50						
Kara & Derbal (1999)	1993 - 1994	Costa da Argélia - Mar Mediterrâneo		57,0					XX - 72,0	79,5 - XX
Marino et al. (2001)	1994 - 1997	Sul do Mar Mediterrâneo	36,7 *	43,8 *	321	59	25	1:3,5	24,5 - 97,0 *	68,5 - 105,0 *
Andrade et al. (2003)	1998 - 2000	Atlântico Sudoeste	35,0	47,0	104	5	0	1:20,8**	19,7 - 79,5	80,0 - 100,2
Fennessy (2006)	1995 - 1997	Índico Sudoeste	54,5	62,2	352	42	1	1:5,5	24,5 - 95,0	80,0 - 110,0
Reñones et al. (2010)	1998 - 2004	Mar Mediterrâneo Ocidental	38,6	49,1	346	43	10	1:7,4	6,6 - 100,3	58,4 - 105,6
Seyboth et al. (2011)	2007 - 2009	Atlântico Sudoeste	34,3	45,1	111	0	0		26,0 - 80,0	
Presente estudo	2008 - 2011	Atlântico Sudoeste	39,1	49,6	184	16	1	1:6,6	27,8 - 93,3	51,5 - 116,0

*Marino et al. Utilizou comprimento padrão (CP) em seu estudo.

**Razão sexual entre número de machos e fêmeas, desconsiderando o fato das fêmeas estarem maduras ou não.

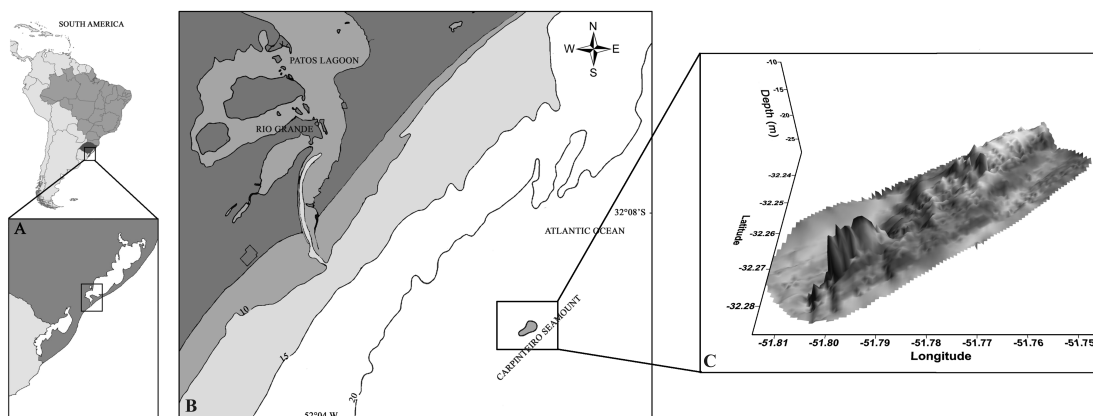


Figura 1 – Lagoa dos Patos (10.360 km²) e sua zona estuarina no sul do Brasil (A), mostrando a localização do Parcel do Carpinteiro na área marinha adjacente (B) e uma representação gráfica em 3D indicando sua topografia (C). As linhas ao longo da costa denotam as isóbatas 10, 15 e 20 m, respectivamente.

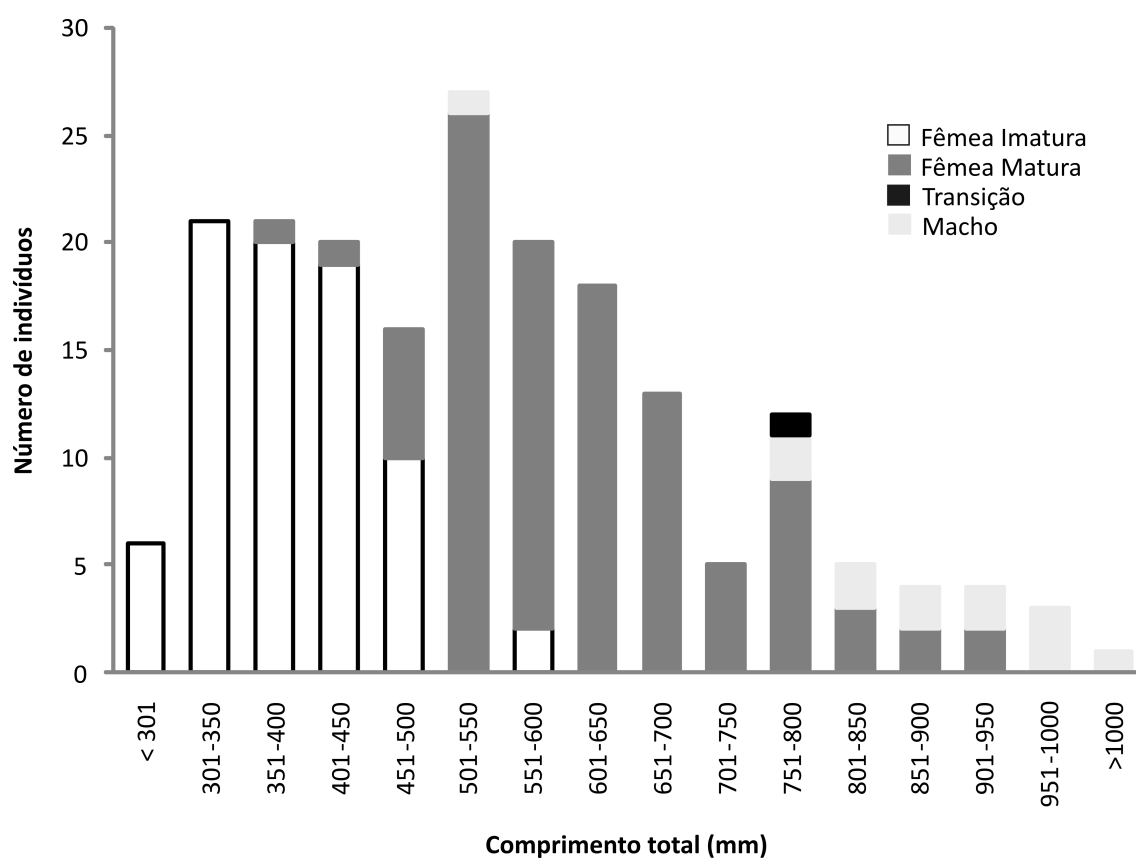


Figura 2 – Distribuição de frequência de tamanho (comprimento total, CT, mm) para fêmeas imaturas, fêmeas maduras, machos e indivíduos em transição sexual, da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* obtida no Parcel do Carpinteiro, extremos sul do Brasil. n=201.

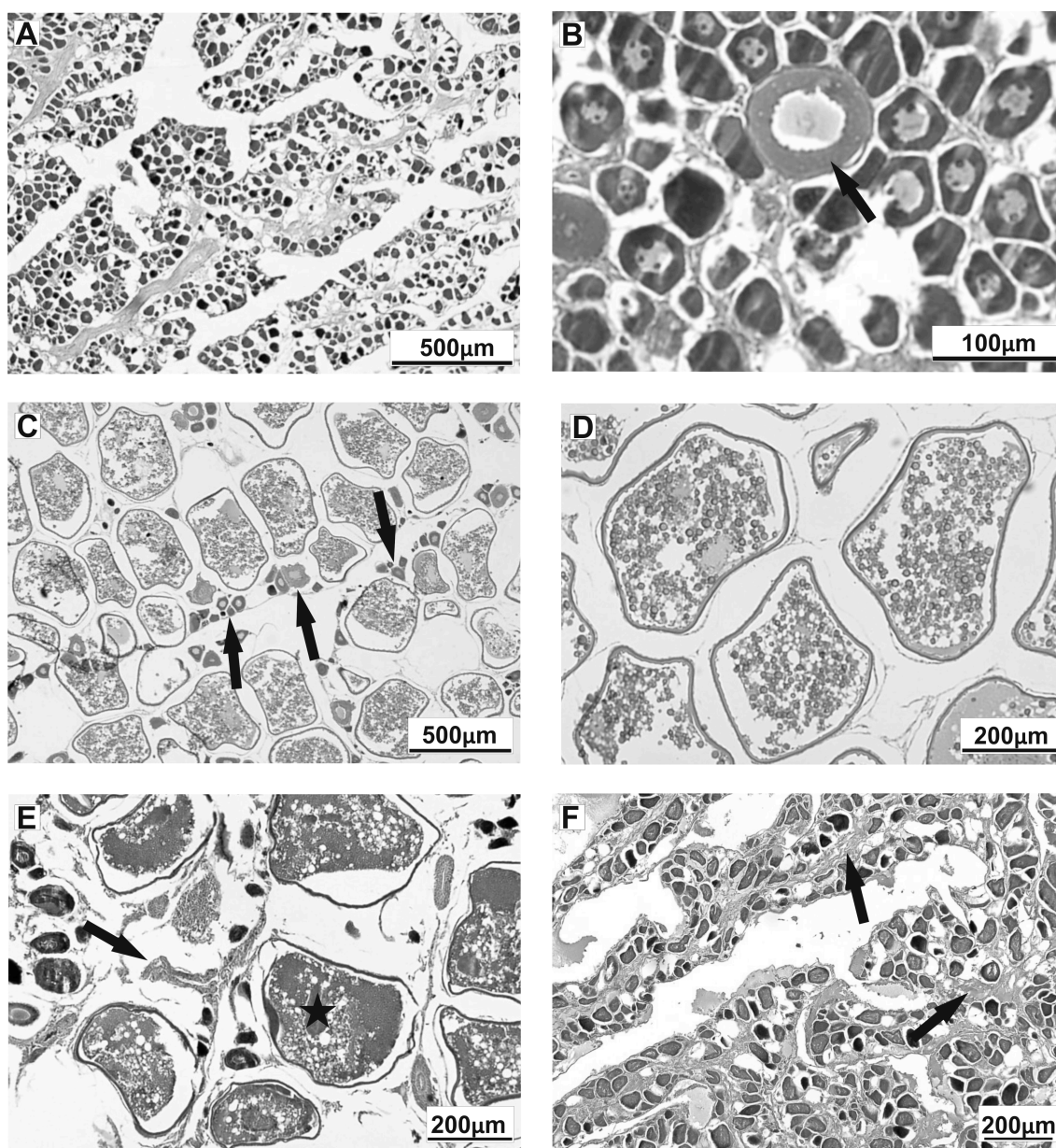


Figura 3 - Cortes histológicos de ovários da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* corados com hematoxilina e eosina (HE). A – Ovário imaturo contendo lamelas ovígeras preenchidas com folículos ovarianos pré-vitelogênicos; B – Ovário em maturação, caracterizado pela presença de folículo ovariano em vitelogênese (seta) juntamente com folículos pré-vitelogênicos; C e D – Ovários maduros, com predomínio de folículos ovarianos preenchidos por grânulos de vitelo associados aos folículos pré-

vitelogênicos (setas); E – Ovário semidesovado, caracterizado pela presença de folículos pré-vitelogênicos, vitelogênicos e folículo vazio (seta). A estrela indica um folículo em processo de hialinização; - Ovário recuperado, folículos ovarianos pré-vitelogênicos circundados por grande quantidade de tecido conjuntivo associado a feixes musculares (seta) no interior das lamelas ovígeras.

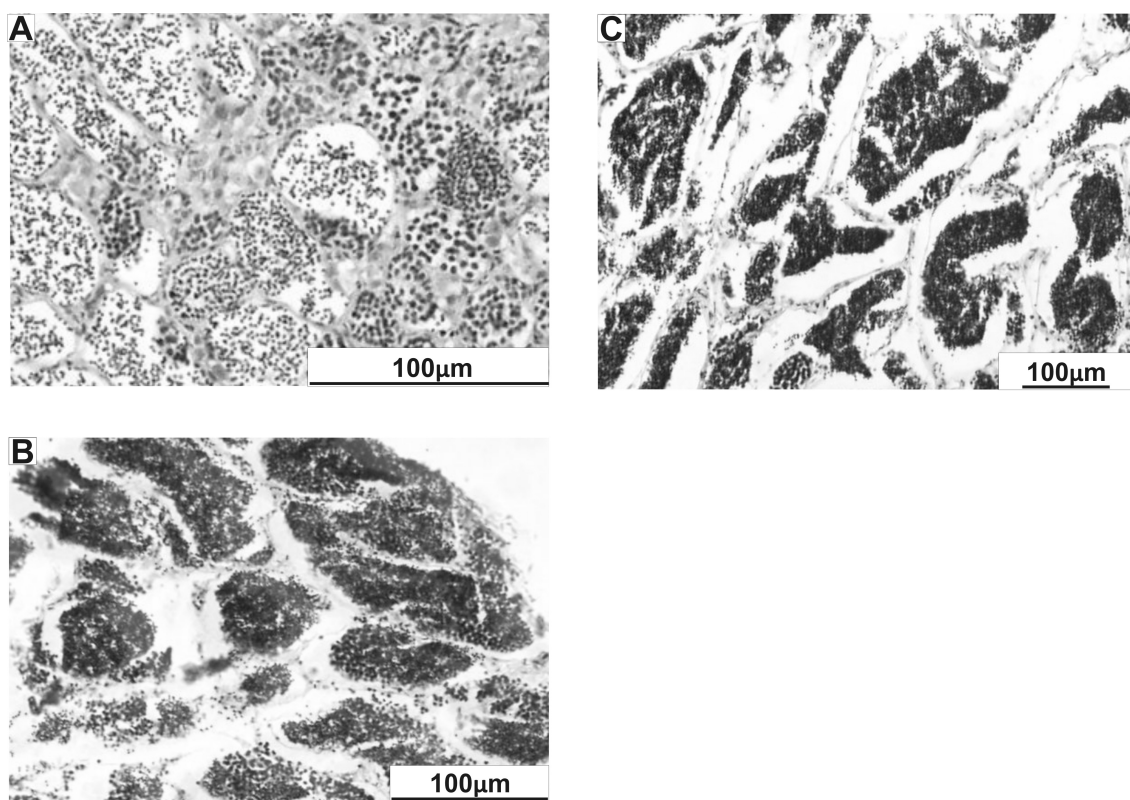


Figura 4 - Cortes histológicos de testículos da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*, corados hematoxilina e eosina (HE). A– Testículo em maturação, caracterizado pela presença de diferentes tipos celulares da linhagem germinativa masculina; B – Testículo maduro com os túbulos seminíferos preenchidos predominantemente por espermatozóides; C – Testículo semiesgotado, caracterizados por apresentar túbulos seminíferos parcialmente esvaziados, demonstrando a diminuição de espermatozóides.

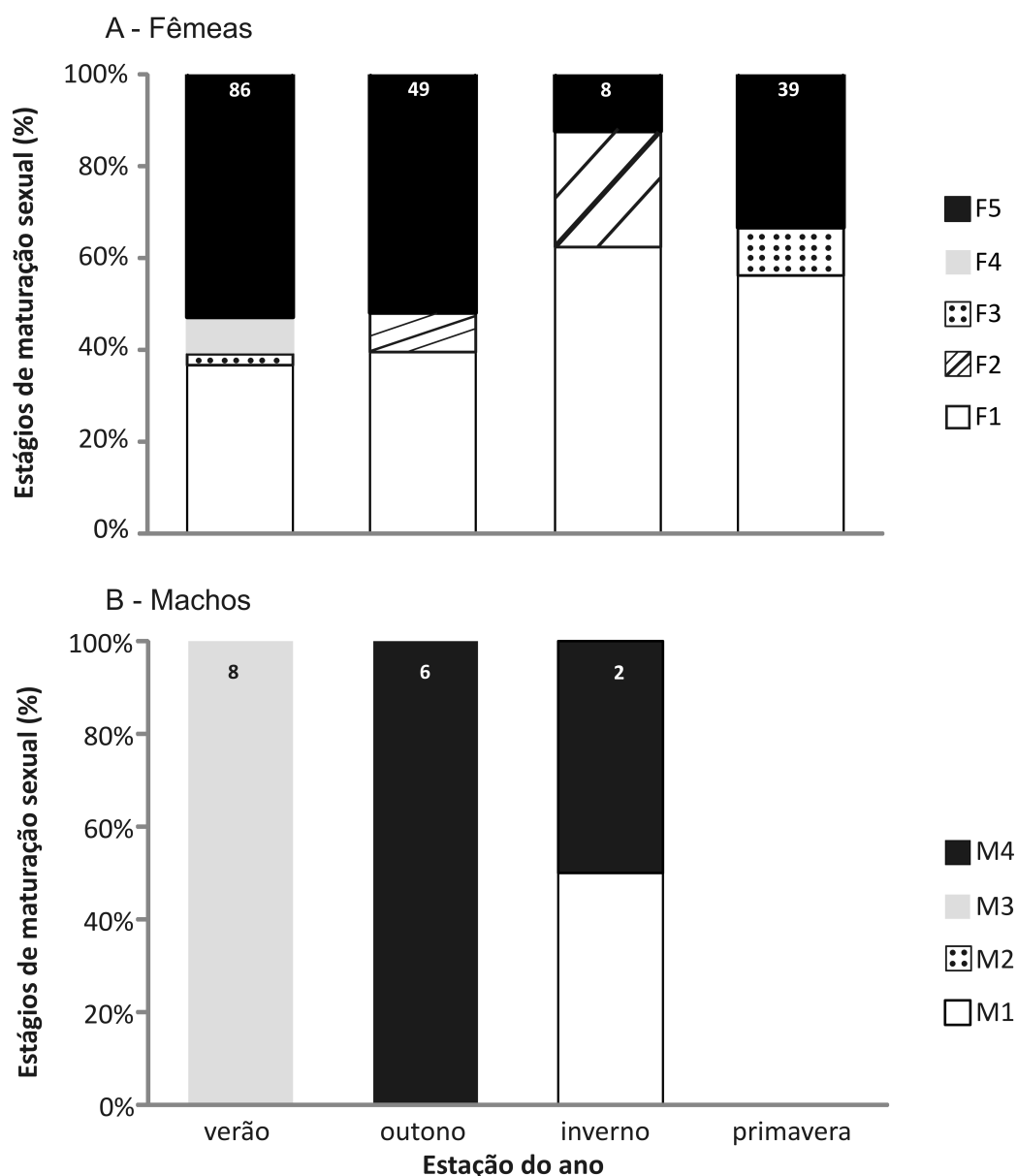


Figura 5 – Evolução sazonal da frequência (em percentual) dos estádios de maturação sexual das fêmeas (A) (n=182) e machos (B) (n=16) de garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* do Parcel do Carpinteiro, extremos Sul do Brasil. Estádios gonadais das fêmeas são: F1: Imaturo; F2: Em maturação; F3: Maduro; F4: Semidesovado; F5: Recuperação. Os estádios testiculares dos machos são: M1: Em maturação; M2: Maduro; M3: Semiesgotado; M4: Esgotado.

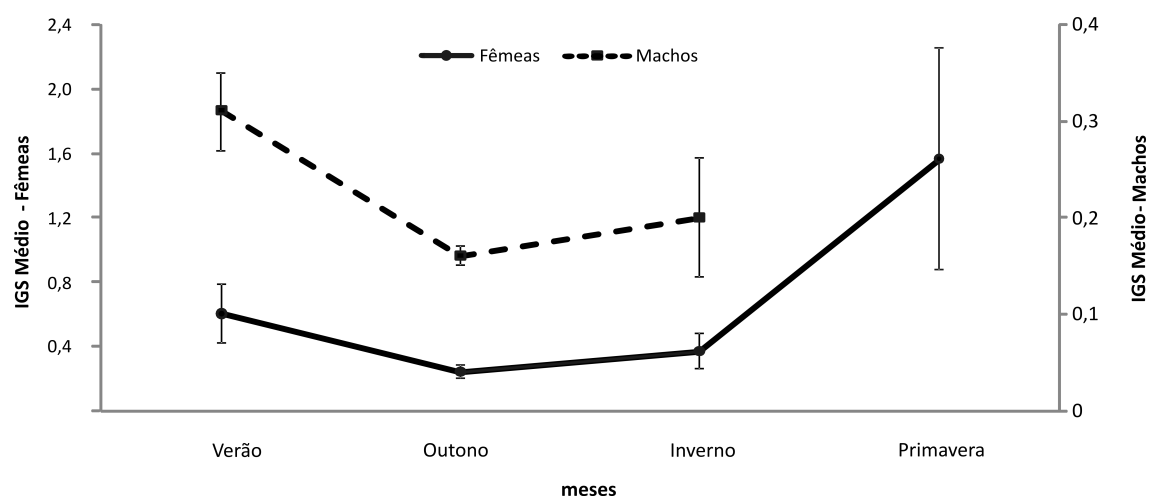


Figura 6 – Média sazonal ($\pm$ EP) dos índices gonadosomático (IGS) para fêmeas (A) e machos (B) de garoupa-verdadeira do sul do Atlântico Sudoeste.

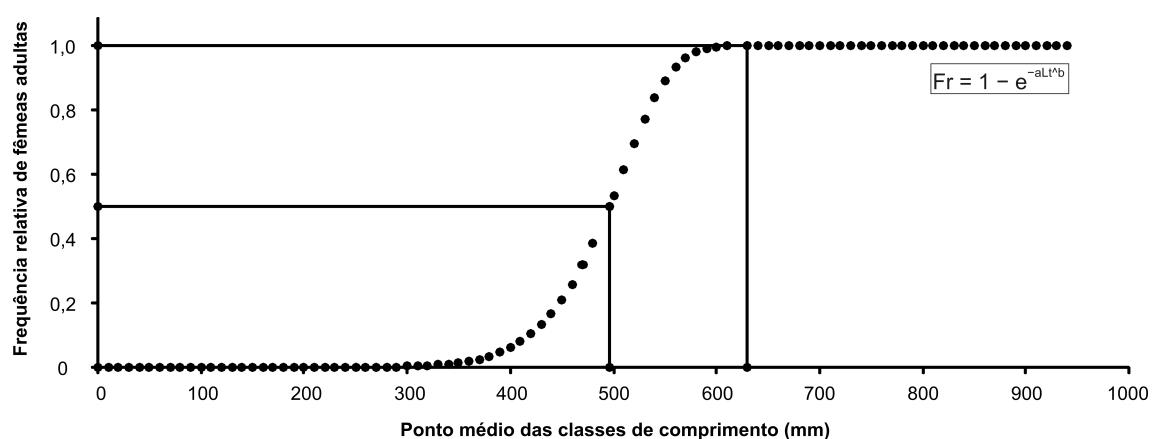


Figura 7 - Percentagem de fêmeas maduras por classes de comprimento de garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* no sul do Atlântico Sudoeste. Apresentando a proporção sexual de fêmeas maduras em cada classe de tamanho plotadas numa regressão logística, com a linha indicando o comprimento total onde 50% das fêmeas encontram-se maduras (L50). n=182.

IV. APÊNDICE I

Manuscrito formatado e submetido para o periódico *Hidrobiológica*.

First record of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* [Actinopterygii: Epinephelidae] undergoing sexual transition in the Western Atlantic

M. V. Condini*§, E. Seyboth§, J. P. Vieira§, A. S. Varela Junior‡, J. P. Barreiros†, L. F. Favaroφ & A. M. Garcia*§

§Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Oceanografia, Laboratório de Ictiologia, CP 474, CEP 96.201-900, Rio Grande, RS, Brazil.

‡Universidade Federal do Rio Grande, Instituto de Ciências Biológicas, Laboratório de Histologia, CEP 96.201-900, Rio Grande, RS, Brazil.

†Universidade dos Açores, Departamento de Ciências Agrárias and Azorean Biodiversity Group (CITA-A), 9701-851 Angra do Heroísmo, Portugal.

φ Universidade Federal do Paraná, Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas, Curitiba, PR, Brazil.

*mvcondini@yahoo.com.br AND amgarcia@mikrus.com.br

Abstract: The present work provides the first record of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* undergoing sexual transition in the Western Atlantic Ocean. The individual (total length: 770 mm; weight: 8.1 kg; age: 21 yrs) was captured in a rocky bottom (32°11'S e 051°48'W) along the coastline of the southernmost state in Brazil.

Key words: Endangered species, protogynous hermaphrodite, Rocky bottom, southern Brazil

The dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) inhabits shelter-rich, hard substrates from the surface to 250 m (Bruslé 1985) and reaches maximum densities above 50 m depth (Harmelin and Harmelin-Vivien 1999). It is widespread distributed in the Mediterranean coast and in the Atlantic Ocean, occurring from the British Isles to South Africa and from the Bermuda Islands to Argentina (Heemstra and Randall 1993; Figueiredo and Menezes 1980; Rico and Acha 2003). It is also found in the Indian Ocean along the southeastern-south coast of Africa (Fennessy 2006). The dusky grouper is considered to be overexploited in its entire distribution range and is listed as endangered by the IUCN red list of threatened species (Cornish and Harmelin-Vivien 2004; Reñones et al. 2010). The increasing fishing pressure associated with some of its biological characteristics (e.g., territorial behavior, low growth rate, late maturation, and complex reproductive strategy) probably contributed to its overexploitation and precarious conservation status (Falcón et al. 1996; La Mesa et al. 2002; Bertoncini et al. 2003; Fennessy 2006). In such context, it is essential to increase our knowledge of its

reproductive biology in order to guide fishery management and conservation plans to protect this endangered species.

The hermaphroditism is a successful reproductive strategy found in 27 teleostean families, including Epinephelidae (Sadovy and Liu 2008). The dusky grouper is a monandric protogynous hermaphrodite species, where all individuals are born as females with the potential to change their sex to males along their life span (Pandian 2011). Prior studies conducted on 70', 80' and 90' with grouper populations in the Mediterranean Sea have shown that sexual transition occurred on individuals 9 to 16 years old, and total length (TL) ranging from 68 to 90 cm (Bruslé and Bruslé 1975, 1976; Chauvet 1988; Barreiros 1998). More recent observations suggested that sexual transition can occur in much younger and smaller individuals: from 7 to 17 yrs and from 52.1 to 76.9 cm TL, respectively (Reñones et al. 2010). Such reduction in the age and size of hermaphroditic individuals undergoing sexual transition could be due to the withdraw of males by fishery, since large individuals are the main target of fishermen and the first ones to be taken out of the fish stock (Gulland 1993; Pandian 2011).

The knowledge of the sexual transition phase is crucial information in order to achieve a complete understanding of the reproductive cycle of hermaphroditic species, especially those with commercial value needing fishery regulation. However, it is usually difficult to unravel individuals undergoing sexual transition due to the low number of individuals involved in this phase of the life cycle, which is probably significantly faster and more brief compared with the others phases like development and maturation to adulthood (Sadovy and Shapiro 1987). For instance, Bruslé et al.

(2003a) found only 5 individuals at the sexual transition phase out of 1,125 analyzed specimens of *M. bonaci*, whereas Brulé et al. (2003b) obtained only two in this stage among the 319 studied individuals of *M. microlepis*. The microscopic analysis of the gonads of 214 individuals of *M. fusca* carried out by Bustos et al. (2010) revealed only one at sexual transition. A similar trend is observed in the few studies with populations of *M. marginata* reporting the occurrence of individuals at sexual transition in the Mediterranean (e.g., only 10 out of 399 individuals; Reñones et al. 2010) and in the Indian Ocean (e.g., only 1 out of 395 individuals Fennessy 2006). No individual at sexual transition stage was reported in prior works on the reproductive biology of *M. marginata* in the Western Atlantic Ocean (Bertoncini et al. 2003; Gerhardinger et al. 2006; Seyboth et al. 2011).

The current work provides the first record of an individual of *M. marginata* at sexual transition in the Western Atlantic Ocean. This individual was collected on 28 March 2008 by a commercial fishing boat at the Carpinteiro Seamount (locally known as 'Parcel do Carpinteiro') (32°11'S; 051°48'W). This subsurface seamount is situated at the 20-m, 16 nautical miles eastward of the mouth of Patos Lagoon estuary (Figure 1). The Carpinteiro Seamount is formed by three beach rock outcrops and it represents one of the few consolidated substrate sites found along the coastline of the southernmost state of Brazil, which is characterized by extensive sand bottoms (Abreu and Calliari 2005).

The specimen measured 770 mm (TL) and weighed 8.1 kg. Readings of growth rings of its right sagittae otolith (sectioned at approximately 0.5 mm thick sections), using a

microscope at 15–30x magnification, revealed that the specimen was 21 years old. Its gonads were extracted, weighted (0.01 g) and preserved in 10% formalin for 7 days and later stored in 70% alcohol for later histological processing following Seyboth et al. (2011). The gonad weighted, the gonado-somatic index (IG), and the hepato-somatic index (IH) were 17.9 g, 0.22 and 1.66, respectively. The macroscopically observation of the appearance, consistence and size of the gonad suggested that the individual was a male. However, the histological analysis of the gonad revealed previtellogenic oocytes scattered out along cysts containing proliferating male germinative cells in different development stages, such as spermatogonia (SPG), spermatocytes (SPC), spermatids (SPD) and spermatozoa (SPZ) (Figure 2a). It was also possible to observe the ovarian vestigial lumen (Figure 2b).

The histological analyses employed in the present study was based on descriptions and criteria of classical papers on the microscopic analyses of gonads of hermaphroditic species (Hastings 1981; Sadovy and Shapiro 1987; Webb and Kingsford 1992). Such criteria are related with the different forms of re-absorption of the ovarian tissue, with the proliferation of the testicular tissue and the occurrence of the vestigial lumen in male's gonads.

The sexual transition occurs gradually and can be divided in initial, intermediate and final phases (Webb and Kingsford 1992). According to Hastings (1981), the absence of ovarian follicle undergoing vitellogenesis should be expected, since vitellogenic oocytes would be initially reabsorbed during the sexual transition process. Hence, based on the histological characteristics described on prior studies, we believed our

analyzed specimen is between the intermediate and final stages of the sexual transition process.

Acknowledgments

We thank Dr. Beatrice Padovani Ferreira, Dr. Luís Romano and Dr. Gonzalo Velasco for comments on the manuscript. We thank the technicians João Cassemiro and Maria Inês of the Histology Laboratory of the Institute of Biological Sciences of the Federal University of Rio Grande (FURG) who have assisted in the preparation of the histological sections. The study received financial support from the Boticario Foundation for Nature Conservation (Fundação O Boticário de Proteção à Natureza) (0753-20072), the “Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul – FAPERGS” (fellowship for ES), and the “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq” (fellowship to MVC).

References

- Abreu JGN, Calliari LJ. 2005. Paleocanais na plataforma continental interna do Rio Grande do Sul: evidências de uma drenagem fluvial pretérita. *Revista Brasileira de Geofísica* 23: 123-132.
- Barreiros JP. 1998. Inversão sexual em *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces: Serranidae, Epinephelinae) nos Açores. *Revista Portuguesa de Zootecnia* 5: 81-90.

Bertoncini AA, Machado LF, Hostim-Silva M , Barreiros JP. 2003. Reproductive biology of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Brazilian Archives Biology Technology 46: 373-381.

Brulé T, Renán X, Colás-Marrufo T, Hauyon Y, Tuz-Sulub AN. 2003a. Reproduction in the protogynous black grouper (*Mycteroperca bonaci* (Poey)) from the southern Gulf of Mexico. Fishery Bulletin 101: 463-475.

Brulé T, Deniel C, Colás-Marrufo T, Renan X. 2003b. Reproductive biology of gag in the southern Gulf of Mexico. Journal Fish of Biology 63: 1505-1520.

Bruslé J, Bruslé S. 1975. Ovarian and testicular intersexuality in two protogynous mediterranean groupers, *Epinephelus aeneus* and *Epinephelus guaza*. In: Reinboth, R. (ed.), Intersexuality in the Animal Kingdom. Springer Verlag, Berlin, pp. 222-227.

Bruslé J, Bruslé S. 1976. Contribution à l'étude de la reproduction de deux espèces de merous (*Epinephelus aeneus* et *Epinephelus guaza*) des cotes de Tunisie. Revue Travaux de l'Institut de Pêches Maritimes de Nantes 39: 313-320.

Bruslé J. 1985. Expose synoptique des donnees biologiques sur les merous *Epinephelus aereus* (Geoffroy Saint Hilaire, 1809) et *Epinephelus guaza* (Linnaeus, 1758) de l'ocean Atlantique et de la Mediterranee. FAO Synopsis sur les peches 129: 64pp.

Bustos R, Luque A, Pajuelo JG. 2010. Reproductive biology of the island grouper (*Mycteroperca fusca*) in the Canary Islands, northwest coast of Africa. Scientia Marina 74: 613-619.

Chauvet C. 1988. Étude de la croissance du mérrou *Epinephelus guaza* (Linnaeus, 1758) des côtes tunisiennes. *Aquatic Living Resources* 1: 277-288.

Cornish A, Harmelin-Vivien M. 2004. *Epinephelus marginatus*. 2011 IUCN Red List of Threatened Species. Available at <http://www.iucnredlist.org> (accessed 19 September 2011).

Falcón MJ, Borbone SA, Brito A, Bundrick CM. 1996. Structure of and relationships within and between the littoral, rock-substrate fish communities off four islands in the Canarian Archipelago. *Marine Biology* 125: 215-231.

Fennessy YST. 2006. Reproductive biology and growth of the yellowbelly rockcod *Epinephelus marginatus* (Serranidae) from South-east Africa. *African Journal of Marine Science* 28: 1-11.

Figueiredo JL, Menezes NA. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2). Universidade de São Paulo: Museu de Zoologia.

Gerhardinger LC, Freitas MO, Bertoni AA, Hostim-Silva M. 2006. Collaborative approach in the study of the reproductive biology of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Perciformes: Serranidae). *Acta Scientiarum Biological Sciences* 28: 219-226.

Gulland JA. 1983. Fish stock assessment: a manual of basic methods. New York: John Wiley, Sons

Harmelin JG, Harmelin-Vivien M. 1999. A review on habitat, diet and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Marine Life* 9: 11-20.

Hastings PA. 1981. Gonad morphology and sex succession in the protogynous hermaphrodite *Hemanthias vivanus* (Jordan and Swain). *Journal of Fish Biology* 18: 443-454.

Heemstra CP, Randall JE. 1993. FAO Species catalogue. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae, An Annotated and Illustrated Catalogue of the Grouper, Rockcod, Hind, Coral grouper Lyretail Species. FAO Fisheries Synopsis 16: 186-189.

La Mesa G, Louisy P, Vacchi M. 2002. Assessment of microhabitat preferences in juvenile dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) by visual sampling. *Marine Biology* 140: 175-185.

Marino G, Azzurro E, Massari A, Finoia MG, Mandich A. 2001. Reproduction in the dusky grouper from the southern Mediterranean. *Journal of Fish Biology* 58: 909-927.

Padian TJ. 2011. Sexuality in fishes. New Hampshire: Science Publishers.

Reñones O, Grau A, Mas X, Riera F, Saborido-Rey F. 2010. Reproductive pattern of an exploited dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) (Pisces: Serranidae) population in the western Mediterranean. *Scientia Marina* 74: 523-537.

Rico MR, Acha EM. 2003. Southernmost occurrence of *Epinephelus marginatus* in the south-west Atlantic. *Journal of Fish Biology* 63: 1621-1624.

Sadovy Y, Shapiro DY. 1987. Criteria for the Diagnosis of Hermaphroditism in Fishes. *Copeia* 1: 136-156.

Sadovy YM, Liu M. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries* 9: 1–43

Seyboth E, Condini MV, Albuquerque CQ, Varela Jr AS, Velasco G, Vieira JP, Garcia AM. 2011. Age, growth and reproductive aspects of the dusky grouper *Mycteroperca marginata* (Actinopterygii, Epinephelidae) in a man-made rocky in southern Brazil. *Neotropical Ichthyology* 9: 849-856.

Webb RO, Kingsford MJ. 1992. Protogynous hermaphroditism in the half-banded sea perch, *Hypoplectrodes maccullochi* (Serranidae). *Journal of Fish Biology* 40: 951-961.

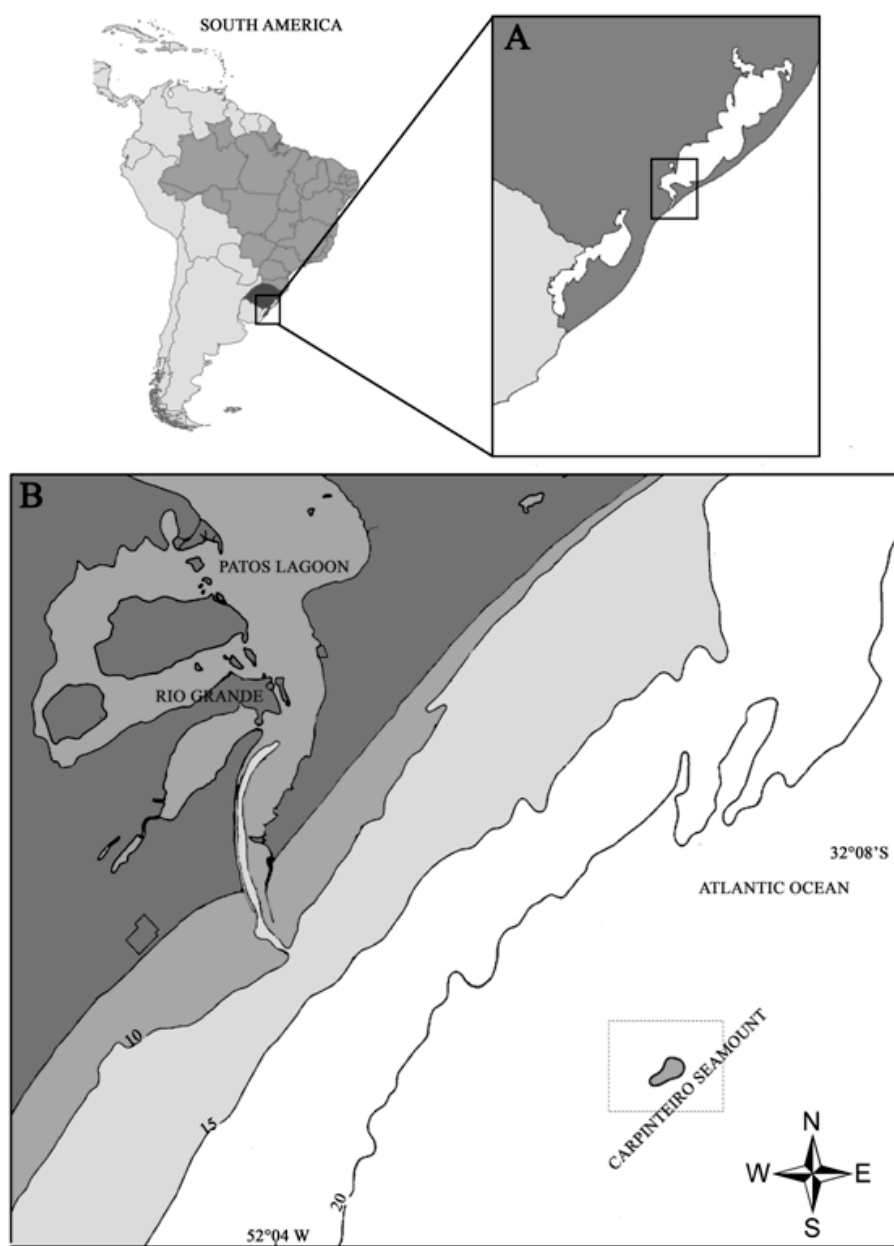


Figure 1 – Patos Lagoon (10.360 km²) and its estuarine zone in the southernmost state in Brazil (A), showing the location of the Carpineiro Seamount in the adjacent marine area (B). The lines along the coast denote 10, 15 and 20 m isobaths, respectively.

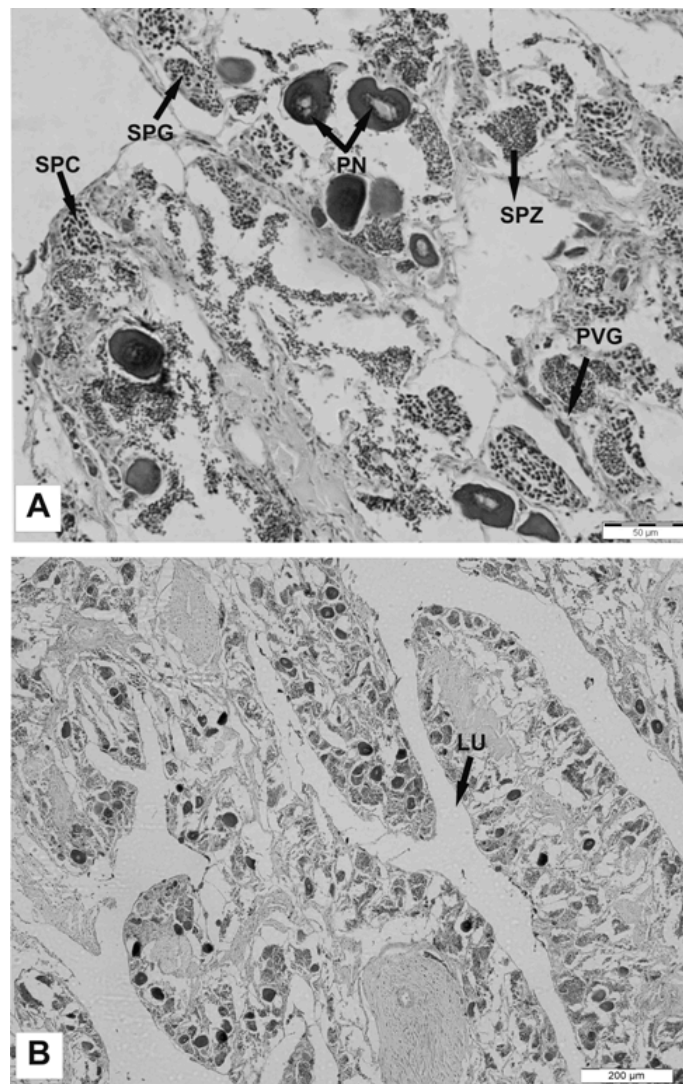


Figure 2 – Gonad section of a dusky grouper *Epinephelus marginatus* specimen in sexual transition collected in the Carpineiro Seamount, showing both female (e.g., previtellogenic oocytes, PVG; peri-nucleolus oocytes, PN) and male features (e.g., spermatogonia, SPG; spermatocytes, SPC; spermatids, SPD; spermatozoa, SPZ) (A). Occurrence of the vestigial lumen that was previously delimited by the ovigerous lamellae (B). The gonad section was stained with haematoxylin-eosin.

IV. APÊNDICE II

Manuscrito formatado e submetido para o periódico *Fisheries Research*.

Age and growth of dusky grouper *Epinephelus marginatus* from its southernmost population in Southwestern Atlantic, with a size comparison between offshore and littoral habitats

Mario V. Condini^{1*}, Cristiano Q. Albuquerque² & Alexandre M. Garcia^{1*}

¹Institute of Oceanography, Federal University of Rio Grande (FURG) Av. Itália Km 08, Carreiros. CEP: 96.201-900, Rio Grande – RS, Brazil

²Department of Oceanography and Ecology, Federal University of Espírito Santo (UFES), CEP: 29075-900, Vitória, ES, Brazil

*E-mail correspondência: mvcondini@yahoo.com.br and amgarcia@mikrus.com.br

Abstract

This study evaluates the age and growth of the *Epinephelus marginatus* population at the offshore Carpinteiro Bank (32°16' S; 52°47' W) in the southwestern Atlantic through otolith analysis. We also evaluated the hypothesis that this offshore habitat represents a superior site for fish growth compared to inshore habitats. Samples consisted of 211 groupers captured by small-scale fisheries between 2008 and 2011 with total lengths ranging from 150 to 1160 mm. Otolith growth increments were deposited once per year, and opaque bands formed mostly during the summer, as determined through marginal increment analysis. Ages ranged from 1 to 40 years, with most fish aged between 2–8 years and a mean of 7.4 years (SD = 6.9). Von Bertalanffy growth parameters for grouped sexes were $L_{\infty} = 900.8$ mm, $K = 0.129$ and $t_0 = -1.45$. Fish from the offshore habitat were generally older and their mean sizes were significantly larger at ages 3, 4, 5 and 6 than fish from the littoral habitat. Our findings highlight the importance of offshore banks as crucial growing habitats for this endangered species at the austral limit of its distribution. Despite their importance for dusky grouper populations, such habitats have been exploited by unreported and unregulated fisheries and should therefore be protected.

Keywords: Epinephelidae; Otoliths; Longevity; Age validation; Endangered species

1. Introduction

The dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Epinephelidae, Lowe 1834), is a pelagic rocky-bottom fish distributed along the east coast of South America from Brazil to Argentina (Figueiredo and Menezes, 1980; Irigoyen et al., 2005), throughout the Mediterranean Sea and from the British Isles around the southern tip of Africa (Heemstra and Randall, 1993) to southern Mozambique (Fennessy, 2006). Adults inhabit rocky bottoms, generally up to 50 m deep, and can occasionally be found at depths up to 250 m (Bruslé, 1985; Heemstra and Randall, 1993), whereas juveniles are usually found in coastal tide pools (Azevedo et al., 1995). As in other epinephelids, the dusky grouper is a slow-growing protogynous hermaphrodite fish species with late sexual maturation and low natural mortality rates (Manooch, 1987), and it is also a highly commercial fish worldwide (Heemstra and Randall, 1993). All of these characteristics together make the dusky grouper a fish species that is highly vulnerable to overfishing. In fact, it is actually classified as endangered (EN A2d) by the International Union for Conservation of Nature (IUCN).

The dusky grouper is also the only large epinephelid usually found along the southern Brazilian coast, where it is fished over inshore rocky bottoms (<5 m) and offshore banks (>10 m) by small-scale fisheries (Condini et al., 2007). Dusky grouper fisheries over banks are conducted occasionally by large-scale fishermen (in trawlers and seiner vessels), who stop by when returning from other target fisheries. One of the areas most visited by these fishermen is the Carpinteiro Bank (32°16' S; 51°47' W) (Fig. 1). It is a totally submersed reef with depths ranging from 15 to 25 m, formed by beach rocks and superficially colonized by bryozoans, sponges, crustaceans, polychaetes and

coralline algae (Buchmann et al., 2001). This bank is located approximately 30 km offshore from the city of Rio Grande in southern Brazil and is most likely the most austral region where the dusky grouper is commercially exploited.

The role of dusky groupers in the coastal ecosystems of South America is not completely understood. Given the likely importance of this species as a predator (Reñones et al., 2002), it is imperative to understand the implications of any sort of commercial exploitation, particularly if large-scale fisheries may be involved. To prevent stock and environmental collapse, the American Fisheries Society has suggested that reef fishes should be exploited carefully, as slow-growing, late-maturity fish species are frequent in these environments and are particularly vulnerable to overfishing compared to fast-growing, early-maturity fish (Coleman et al., 2000). Quantifying the age and growth of dusky groupers is required, therefore, to support the adequate management of this species at its southernmost region of occurrence. Previous investigations provided initial information on the age structure of *E. marginatus* in South America and revealed the absence of reproduction in a coastal population associated with littoral rocky jetties from extreme southern Brazil (Seyboth et al., 2011). Given that reproduction was not observed in this inshore-shallow area (<5 m), that study may not provide the best estimate of the growth parameters of dusky groupers in the southwestern Atlantic. In this study, we examine the age structure and growth parameters of the dusky grouper in a deeper offshore habitat (Carpinteiro Bank, 15-25 m) as determined from otoliths and compare these data to those previously reported by Seyboth et al. (2011). Based on the framework of a source-sink theoretical model (Pulliam, 1988), we also evaluated the hypothesis that

offshore habitats (15-25 m) may constitute better growing habitats for dusky grouper populations than inshore (<5 m) ones.

2. Material and Methods

2.1. Sampling and otolith processing

The samples of dusky grouper examined in this study (N=211) were collected bimonthly from small-scale fishery landings in Rio Grande, southern Brazil (Fig. 1) from 2008 to 2011. Fish provenance was evaluated via interviews, and only fish caught specifically at the Carpinteiro Bank were considered. Total length (L_T , mm) and weight (W_T , g) were measured, and sex was identified by a macroscopic examination of the gonads following Marino et al. (2001). The sagittal otoliths were dissected from all samples and stored dry after removing adhered tissues. The otoliths were then embedded in epoxy resin and sectioned through the core using an Isomet[®] low speed saw coupled to a diamond wafering blade to obtain 0.4 to 0.6 mm thick sections. These sections were glued to histological glass slides, polished with fine sandpaper (grits 2000 to 8000), embedded in Entellan[®], covered with thin glass slides and finally examined under a stereomicroscope coupled to a computational imaging system. All sections were photographed under transmitted light, leading translucent and opaque bands to be visualized as white and dark bands, respectively (Fig. 2). Each otolith was read three times at intervals of one month by an experienced reader with prior knowledge of neither fish size nor previous reading results. Those otoliths with three different increment numbers were discarded from the analysis.

Data on sea surface temperature (SST) were analyzed from a 40-year time series measured in the region neighboring the Carpinteiro Bank (specifically between 32°–32°50'S and 50°–52°W) made available by the Coastal and Estuarine Oceanography Laboratory from Rio Grande Federal University. SST data were averaged by season.

2.2. Validation and growth

The precision of otolith readings was evaluated through average percent error analysis (APE; Campana, 2001) following equation (1).

$$APE = 100\% \times \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|x_{ij} - x_j|}{x_j} \quad (1)$$

where x_{ij} is the i th age determination of the j th fish, x_j is the mean age estimate of the j th fish, and R is the number of times that each fish is aged.

The annual nature of otolith incremental deposition was validated through Marginal Increment Analysis (MIA) following Manickchand-Heileman and Phillip (2000), with the extra growth expressed as a proportion of the previous year's growth (equation 2):

$$MIA = (R_t - R_{t-1}) / (R_{t-1} - R_{t-2}), \quad (2)$$

where R_t is the distance measured from the core to the otolith's edge, R_{t-1} is the distance between the core and the proximal margin of the last opaque band, and R_{t-2} is the distance between the core and the proximal margin of the penultimate opaque band. Marginal increment values were averaged over the summer (Jan-Mar), autumn (Apr-Jun), winter (Jul-Sep) and spring (Oct-Dec). These averages were compared using the non-parametric Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests (Zar, 1999), as the data's distribution was not normal.

To assist in the interpretation of the MIA, condition factor was also calculated following Le Cren (1951) according to equation (3) and averaged by season.

$$k' = W_T / L_T^b, \quad (3)$$

where k' is the condition factor and b is the allometric coefficient from the length-weight regression.

To estimate average growth, the number of otolith increments was modeled against total length by fitting a von Bertalanffy (4) curve using a non-linear least squares method (Ricker, 1975).

$$L_T = L_\infty (1 - e^{-K(t-t_0)}), \quad (4)$$

where L_T is the total length corresponding to age i , L_∞ the mean theoretical maximum total length, t_0 the theoretical age at zero length and K a growth rate parameter. These parameters were estimated both based on all samples (male + female) and based on females only. Growth parameters were not estimated for males due to their small sample size ($N = 11$).

A growth performance index was estimated according to Pauly and Munro (1984):

$$\phi = \text{Log}(K) + 2 \text{Log}(L_\infty), \quad (5)$$

where K and L_∞ follow equation 4.

2.3. Framework for habitat comparison

The hypothesis that offshore habitats may provide better environmental growth conditions for dusky groupers than inshore ones was tested by comparing mean sizes between fish from both sites. More specifically, the mean sizes at ages 3, 4, 5, 6 and 7 of fish collected offshore at the Carpinteiro Bank (15-25 m deep) were compared to

those from the inshore rocky jetties of Rio Grande (<5 m deep) previously reported by Seyboth et al. (2011). These age groups were selected based on the availability of 10 or more individuals per age group simultaneously at both sites. Statistical analysis was conducted through a one-way analysis of variance after verifying the assumptions of normality and homoscedasticity (Zar, 1999).

3. Results

The total length of the dusky groupers sampled at the Carpinteiro Bank ranged from 150 to 1160 mm (L_T) (Fig. 3), with 80% of all samples measuring between 300 and 700 mm (L_T). Females ($n=200$) comprised the vast majority of samples, whereas males ($n=11$) corresponded to only 5.5% of all samples. The mean total length of males (890.2 ± 122 mm SD) was much larger than that of females (512.1 ± 152.9 mm SD). The length-weight relationship was $W_T = 0.00001 \times L_T^{3.094}$ (Fig. 4), and the allometric coefficient was significantly different from 3 (t -test, $p<0.0003$), revealing a slight disproportion towards weight.

The light properties of the opaque and translucent growth bands in the otoliths of the dusky grouper were reasonably discernible (Fig. 2), resulting in fine levels of precision during the process of otolith reading (APE = 6.9%, $n = 211$). Of the 211 examined otoliths, 22 were excluded from the analysis due to the absence of agreement among readings, and 189 were effectively used to validate the annual deposition of growth increments and to estimate age structure and growth.

The mean distribution of marginal increments in otoliths had significant differences among the fish collected during the four seasons (K-W, $p<0.03$, Fig. 5a). Marginal

increment values were significantly lower during the winter than during the spring (Mann-Whitney, $p < 0.005$) and summer (Mann-Whitney, $p < 0.018$) and were followed by the lowest proportion of opaque bands in the otolith edges (Fig. 5b). Mean SST and condition factor were also lowest during the winter; however, the seasonal differences in condition factor were not statistically significant ($P > 0.258$, Fig. 5c). Additionally, the proportion of opaque bands in the otolith edges was positively correlated to SST ($r^2 = 0.841$). The joint examination of these lines of evidence supports the conclusion that growth increments in the otoliths of dusky groupers from southern Brazil are formed annually, as expected.

Age ranged from 1 to 40 years, and 85% of samples were aged between 2 and 8 years. The mean ages ($\pm$ SD) for males and females were 26.7 ± 6.3 and 6.1 ± 4.9 years, respectively. The youngest sample male was 20 years old and measured 760 mm, whereas no females were found at ages over 27 years or lengths greater than 933 mm. The von Bertalanffy parameters for the grouped sexes ($L_{\infty} = 900.8$ mm, $K = 0.129$, $t_0 = -1.45$ years) and growth performance index (3.01) showed small variations when males were added or removed from the analysis (Table 1). The von Bertalanffy curve shows the typical exponential asymptotic shape and allowed us to estimate that 70% of a fish's asymptotic length is achieved at approximately 8 years of age (Fig. 6, Table 2).

A comparison of growth between habitats shows that dusky groupers from the offshore Carpinteiro Bank were significantly larger at ages 3 to 6 than fish from the inshore rocky jetties of Rio Grande ($F = 22.39$, $p < 0.001$, Fig. 7), with mean percentage increases of 11.7, 19.6, 16.7 and 11% per year, respectively. Significant differences, however, were not observed for age 7.

4. Discussion

4.1. Validation

For otoliths to be used as reliable age indicators, they must display an internal structure of increments formed on a regular and predictable time scale. In dusky groupers, otoliths present well-defined growth increments that allow for age estimation at a relatively high precision. Translucent and opaque bands were typically formed during winter and summer, respectively, as determined through the analysis of marginal increments. Marginal increment analysis, however, is not considered the most trustworthy technique for growth-increment validation in otoliths (Campana, 2001), particularly where the temporal variation in environmental temperature is not strong enough to significantly influence fish metabolism. Although the physiological regulation of incremental deposition in otoliths is not completely understood, it is relatively well accepted that the process of otolith biomineralization is influenced by the environment (Wright et al., 2002), which may influence metabolism and therefore fish growth (Secor et al., 1995). For example, through the analysis of 94 fish species from 36 families, it was observed that the formation of opaque bands was partially correlated to water temperature and that reproduction was the major variable for only 19% of those species (Beckman and Wilson, 1995). The complex interplay between metabolic and temperature effects in otolith biomineralization was recently disentangled as a combined influence of temperature and feeding activity, ultimately leading to a positive or negative effect on otolith growth and opacity (Fablet et al., 2011). Therefore, to help increase validation confidence, the seasonality of SST and

condition factor (which may indicate feeding activity) were also examined. As expected, the marginal increment results closely followed the seasonal fluctuations in SST and condition factor, which supports the hypothesis that opaque and translucent increments in the otoliths of dusky groupers may be formed on an annual basis. Moreover, the annual deposition of growth increments in otoliths has been previously reported for *E. marginatus* (Fennessy, 2006; Reñones et al., 2007) and other grouper species such as *Mycteroperca microlepis* (Harris and Collins 2000); *M. interstitialis* (Manickchand-Heileman and Phillip 2000); *M. rosacea* (Díaz-Urbe et al., 2001); *Epinephelus coioides* (Grandcourt et al., 2005) and *M. fusca* (Bustos et al., 2009), and may therefore be hypothesized to apply to the whole family Epinephelidae.

4.2. Age structure and growth

The first interesting finding on the growth of *E. marginatus* in this study was the absence of males younger than 20 years or less than 760 mm (L_T). The explanation is that dusky groupers are protogynous hermaphrodites (Heemstra and Randall, 1993). Under that reproductive strategy, they are expected to first mature as females (at approximately five years old) and then convert into males after approximately 7 years (Reñones et al., 2010). From the few studies that have examined age and sexual structures simultaneously in dusky groupers, it can be suggested that males first appear in dusky grouper populations at diverse sizes and ages. For example, younger sampled males varied from 7 years (~580 mm, L_T) in the Mediterranean Sea (Reñones et al., 2007) up to 9 years (~810 mm, L_T) in the Indic Sea (Fennessy, 2006). Variables such as sampling selectivity, environmental conditions, intra-specific competition and

fishing pressure may be related to the age and size at which sexual transition occurs. At this point, we have no further evidence to explain the very low abundance of male dusky groupers found in this study.

The examination of the von Bertalanffy (VB) parameters revealed that dusky groupers from Carpinteiro Bank grow slightly faster and attain slightly smaller theoretical maximum lengths compared to other studies. Although the VB model provided realistic estimates of growth parameters, L_{∞} (900 mm) was considerably smaller than the maximum length actually observed in this study (1160 mm), as fish older than 25 years were poorly represented. Given that the growth parameters were estimated by least squares fitting, the addition of more old individuals would most likely increase L_{∞} and decrease K due to the intrinsic antagonism of these parameters, and the revised set of parameters would be closer to the values reported in Table 3. Therefore, it is suggested that fitting a VB model to our actual data tends to slightly overestimate K and underestimate L_{∞} compared to a more realistic sampling size. To overcome that issue, a growth performance index that considers the interaction between K and L_{∞} was estimated (Pauly and Munro, 1984), and the results were closely similar to other studies, suggesting that dusky grouper growth may vary less worldwide than expected from the VB growth parameters alone.

Groupers are well-recognized as long-lived fishes capable of reaching maximum ages of over 60 years (e.g. Reñones et al., 2007). The maximum longevity of dusky groupers in this study was approximately 40 years, which is intermediate among the values observed worldwide (see Table 3). Currently, the most important factor influencing fish longevity is most likely fishing activity, as fishing is expected to preferentially

remove large, old fish from natural populations (King, 1995). According to local traditional fishermen, fisheries over the Carpinteiro Bank are known to have occurred since the 1960s, and fishing effort has been rising ever since, which could result in a decreased availability of the older age classes of dusky grouper that we observed in this study. Another interesting finding was that, although there is small-scale fishing activity directed at dusky groupers in southern Brazil, approximately 40% of the fish captured offshore were immature ($L_{50} = 451$ mm, as estimated from Seyboth et al., 2011). By combining the evidence of the low availability of old fish with the rising fishing effort over the last five decades and the large immature proportion of captured fish, it is reasonable to suggest that this offshore population may be endangered or at least facing overfishing. Unfortunately, there are no official landing registers to allow an estimation of capture trends over time. These data would be necessary to objectively infer the population status of the dusky grouper in southern Brazil.

4.3. Growth comparison between littoral and offshore habitats

Our study provides compelling evidence that dusky groupers from the offshore Carpinteiro Bank are significantly larger than fish from the inshore rocky jetties of Rio Grande when young. More specifically, the size of offshore groupers is 11 to 19% greater than that of inshore ones, leading to the hypothesis that the environmental quality at the deeper offshore habitats may be enhanced compared to shallow inshore ones. The coexistence of multiple population patches of a given species may be regulated following the source-sink theory (Pulliam, 1988). According to this theory, subpopulations living in low-quality “sink” habitats would be sustained by dispersal

from populations living in high-quality “source” habitats, as low-quality habitats would not provide all of the environmental requirements for population auto-sustainability. Nevertheless, the concept of environmental quality is not ubiquitous, as it involves a degree of subjectivity as to what variables must be considered to classify a given area as high or low-quality habitat. In this study, we assume fish growth to be an objective measure of the difference in environmental quality between the offshore Carpinteiro Bank and the littoral rocky jetties of Rio Grande.

Oceanographic patterns, the structural complexity of the substrate, food availability and many other environmental factors may support the hypothesis of differences in habitat quality between these habitats. Freshwater runoff from the Patos Lagoon Estuary is perhaps the most important factor influencing the population, particularly during El Nino Southern Oscillation events, when fresh water spreads over the littoral zone and the salinity drops to almost zero (Garcia et al., 2003), disturbing both estuarine and coastal fish communities (Garcia et al., 2003; Garcia et al., 2004). The large variations in salinity periodically experienced by the inshore population may cause osmotic stress, increasing the energy outlay required to maintain fish homeostasis (Schmidt-Nielsen, 2002). On the other hand, the salinity at the offshore habitat usually ranges from 26.8 to 36.6, which is approximately a third of the 10.6 to 35.1 PSU measured at the littoral habitat during winter and summer, respectively. Additionally, faster growth was reported in dusky groupers reared under a salinity of 35 PSU when compared with mixohaline rearing treatments (20 and 27 PSU, Gracia López and Castelló-Orvay, 2003), suggesting that less energy may be expended for body homeostasis in more stable marine water. This evidence supports the idea that

salinity regimes may play a significant role in shaping the growth rates of dusky groupers between inshore and offshore habitats.

It has also been reported that the occurrence of large epinephelids may be associated with the size and availability of holes in the substrate where fish can hide and live (Gibran, 2007). Given that the total area of the Carpinteiro Bank is considerably larger than that of the inshore rocky jetties, it is parsimonious to believe that more space and large crevices are available in the Bank than in the littoral habitat. Given that no study comparing the structural complexity and size and abundance of crevices between these habitats has been conducted, we cannot strongly suggest that available area is an important factor influencing dusky groupers' growth in this region.

Finally, an additional environmental factor capable of influencing fish growth in our system is food availability. The diet of groupers from the rocky jetties of Rio Grande was based mostly on small crabs (Condini et al., 2011), whereas groupers from the Carpinteiro Bank were found to feed mostly on fish (MVC, unpubl. data). Given that fish are known to be higher-energy food resources than crustaceans (Reñones et al., 2002), food quality may also partially explain the faster growth observed at the Carpinteiro Bank.

The above evidence supports the hypothesis that the offshore Carpinteiro Bank represents a better growth habitat compared to littoral rocky habitats. Also considering the fact that no reproduction has been observed in the littoral habitat (Seyboth et al., 2011), the coexistence dynamics of these populations may follow a source-sink system, where Carpinteiro's population exports fish to other subpopulations including inshore rocky habitats. Additional research will be needed to

evaluate whether fish exported from Carpinteiro's population would be able to supply the inshore one and, therefore, fulfill the requirements of a true source-sink system.

Acknowledgments

We thank Beatrice Padovani Ferreira, Luís Romano and Gonzalo Velasco for comments on the manuscript, Jorge Castello for helping with infrastructure to samples processing and Lauro Madureira the 3;D bathimetric map of the Carpinteiro Bank. The study received financial support from the Fundação O Boticário de Proteção à Natureza) (0753-20072).

References

- Azevedo, J.M.N., Rodríguez, J.B., Mendizábal, M., Arruda, L.M., 1995. Study of a sample of dusky groupers, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), caught in the tide pool at Lajes do Pico, Azores. *Boletim do Museu Municipal do Funchal*. 4, 55-64.
- Beckman, D.W., Wilson, C.A. 1995. Seasonal timing of opaque zone formation in fish otoliths. In: Secor, D.H., Dean, J.M., Campana, S.E. (Eds.), *Recent Developments in Fish Otolith Research*. University of South Carolina Press. Columbia, SC, pp. 27–43.

- Bruslé, J., 1985. Exposé synoptique des données biologiques sur les mérous *Epinephelus aeneus* (Geoffroy Saint Hilaire, 1809) et *Epinephelus guaza* (Linnaeus, 1758) de l'océan Atlantique et de la Méditerranée. FAO Fish Synopsis. 129, 1–64.
- Buchmann, F.S.C., Seeliger, M., Zanella, L., Madureira, L.S.P., Tomazelli, L.J., Calliari, L.J., 2001. Análise batimétrica e sedimentológica no estudo do Parcel do Carpinteiro, uma paleolinha de praia pleistocênica na antepraia do Rio Grande do Sul, Brasil. Pesquisas. 28, 109-115.
- Bustos, R., Luque, E., Pajuelo, J.G., 2009. Age estimation and growth pattern of the island grouper, *Mycteroperca fusca* (Serranidae) in an island population on the northwest coast of Africa. Sci. Mar. 73, 319-328.
- Campana, S.E., 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. J. Fish Biol. 59, 197-242.
- Coleman, F.C., Koenig, C.C., Huntsman, G.R., Musick, J.A., Eklund, A.M., McGovern, J.C., Chapman, R.W., Sedberry, G.R., Grimes, C.B., 2000. Long-lived reef fishes: the grouper–snapper complex. Fisheries. 25, 14–20.
- Condini, M.V., Garcia, A.M., Vieira, J.P., 2007. Perfil do pescador e descrição da pesca da garoupa (Pisces, Serranidae) no Molhe Oeste da Barra de Rio Grande, RS. Pan-American Journal of Aquatic Sciences. 2, 279-287.
- Condini, M.V., Seyboth, E., Vieira, J.P., Garcia, A.M., 2011. Diet and feeding strategy of the dusky grouper *Mycteroperca marginata* (Actinopterygii: Epinephelidae) in a man-made rocky habitat in southern Brazil. Neotrop. Ichthyol. 9, 161-168.

- Díaz-Urbe, G., Elorduy-Garay, J.F., González-Valdovinos, M.T., 2001. Age and Growth of the Leopard Grouper, *Mycteroperca rosacea* in the Southern Gulf of California, México. *Pacif. Sci.* 55, 171-182.
- Fablet, R., Pecquerie, L., Pontual, H. Høie, H., Millner, R., Mosegaard, H., Kooijman, S., 2011. Shedding light on fish otolith biomineralization using a bioenergetic approach. *Plos ONE*. 6, 1-7.
- Fennessy, Y.S.T., 2006. Reproductive biology and growth of the yellowbelly rockcod *Epinephelus marginatus* (Serranidae) from South-east Africa. *Afr. J. Mar. Sci.* 28, 1-11.
- Figueiredo, J.L., Menezes, N.A., 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2). Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.
- Garcia, A.M., Vieira, J.P., Winemiller, K.O., 2003. Effects of 1997–1998 El Niño on the dynamics of the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil). *Est. Coast. Shelf Sci.* 57, 489–500.
- Garcia, A.M., Vieira, J.P., Winemiller, K.O., Grimm, A.M., 2004. Comparison of the 1982-1983 and 1997-1998 El Niño effects on the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil). *Estuaries*. 27, 905-914.
- Gibran, F.Z., 2007. Activity, habitat use, feeding behavior, and diet of four sympatric species of Serranidae (Actinopterygii: Perciformes) in southeastern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* 5, 387-398.
- Gracia López, V., Castelló-Orvay, F., 2003. Preliminary data on the culture of juveniles of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Hidrobiológica*. 13, 321-327.

- Grandcourt, E.M., Abdessalaam, T.Z., Francis, F., Shamsi, A.L., 2005. Population biology and assessment of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822), in the southern Arabian Gulf. *Fish. Res.* 74, 55-68.
- Harris, P.J., Collins, M.R., 2000. Age, growth and age at maturity of gag, *Mycteroperca microlepis*, from the southeastern United States during 1994-1995. *Bull. Mar. Sci.* 68, 105-117.
- Heemstra, C.P., Randall, J.E., 1993. FAO Species catalogue. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae): An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper lyretail species known to date, 382 p. FAO Fish. Synop. 125, vol. 16. FAO, Rome.
- Irigoyen, A.J., Galván, D.E., Venerus, L.A., 2005. Occurrence of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) in gulfs of northern Patagonia, Argentina. *J. Fish Biol.* 67, 1741-1745.
- King, M., 1995. Fisheries biology, assessment and management. United Kingdom, Blackwell Science.
- Le Cren, E.D., 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch *Perca fluviatilis*. *J. Anim. Ecol.* 20, 201-219.
- Manickchand-Heileman, S.C., Phillip, D., 2000. Age and growth of the yellowedge grouper, *Epinephelus flavolimbatus*, and the yellowmouth grouper, *Mycteroperca interstitialis*, off Trinidad and Tobago. *Fish. Bull.* 98, 290-298.
- Manooch, C.S., Mason, D.L., 1987. Age and growth of the warsaw grouper and black grouper from the southeast region of the United States. *Northeast Gulf Sci.* 9, 65-75.

- Marino, G., Azzurro, E., Massari, A., Finoia, M.G., Mandich, A., 2001. Reproduction is the dusky grouper from the southern Mediterranean. *J. Fish Biol.* 58, 909-927.
- Pauly, D., Munro J.L., 1984. Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. *Fishbyte, Newsletter of the Network of Tropical Fisheries Scientists.* 2, 1-21.
- Pulliam, H.R., 1988. Sources, sinks and population regulation. *Am. Naturalist.* 132, 652-661.
- Reñones, O., Polunin, N.V.C., Goñi, R., 2002. Size related dietary shifts of *Epinephelus marginatus* in a western Mediterranean littoral ecosystem: an isotope and stomach content analysis. *J. Fish Biol.* 61, 122-137.
- Reñones, O., Piñeiro, C., Mas, X., Goñi, R., 2007. Age and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) in an exploited population of the western Mediterranean Sea. *J. Fish Biol.* 71, 346-362.
- Reñones, O., Grau, A., Mas, X., Riera, F., Saborido-Rey, F., 2010. Reproductive pattern of an exploited dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) (Pisces: Serranidae) population in the western Mediterranean. *Sci. Mar.* 74, 523-537.
- Ricker, W.E., 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull. Fish. Res. Board Can.* 191, 1-382.
- Schmidt-Nielsen, K., 2002. *Fisiologia animal - Adaptação e meio ambiente.* Cambridge University Press.
- Secor, D.H., Dean, J.M., Campana S.E., 1995. *Recent Developments in Fish Otolith Research.* Columbia, SC: University of South Carolina Press.

- Seyboth, E., Condini, M.V., Albuquerque, C.Q., Varela JR., A.S., Velasco, G., Vieira, J.P., Garcia, A.M., 2011. Age, growth and reproductive aspects of the dusky grouper *Mycteroperca marginata* (Actinopterygii, Epinephelidae) in a man-made rocky in southern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.* 9, 849-856.
- Wright, P.J., Panfili, J., Morales-Nin, B., Geffen, A.J., 2002. Otolith. In: Panfili, J., Pontual, H., Troadec, H., Wright, P.J. (eds.), *Manual of sclerochronology*. Ifremer-IRD edition, Brest, pp. 31-57.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical analysis*, 4 ed. New Jersey: Prentice Hall.

Table 1

Von Bertalanffy growth parameters for *Epinephelus marginatus* of the Carpinteiro Bank

	L_{∞} (mm)	k (years ⁻¹)	t_0 (years)	GP	n
<i>Epinephelus marginatus</i> (Females and males)	900.9	0.129	-1.45	3.00	189
<i>Epinephelus marginatus</i> (Only females)	851.1	0.,153	-1.06	3.03	178

Table 2

Age, number of specimens and mean $\pm$ standard deviation (SD) and range of total length (L_T) and weight (W_T) at age of *Epinephelus marginatus*

Age (years)	n	Mean $\pm$ S.D. L_T (mm)	L_T Range (mm)	Mean $\pm$ S.D. W_T (g)	W_T Range (g)
1	2	160.0 $\pm$ 14.1	150 - 170	58.2 $\pm$ 14.6	47.9 - 68.5
2	27	325.7 $\pm$ 38.0	290 - 405	602.3 $\pm$ 196.6	314.5 - 1227.9
3	28	385.9 $\pm$ 38.0	277 - 453	1081.2 $\pm$ 297.6	400.0 - 1675.8
4	28	464.1 $\pm$ 48.4	365 - 561	1890.8 $\pm$ 661.5	1015.0 - 3513.0
5	15	526.9 $\pm$ 44.4	420 - 635	2806.0 $\pm$ 977.9	1284.0 - 5902.0
6	22	563.9 $\pm$ 45.2	485 - 680	3415.8 $\pm$ 1053.9	2108.7 - 6530.0
7	21	587.3 $\pm$ 60.6	475 - 671	4135.1 $\pm$ 1384.0	2103.3 - 7045.0
8	12	658.1 $\pm$ 38.6	606 - 713	5824.9 $\pm$ 1553.5	4080.0 - 8950.0
9	1	532.0	532.0	3171.0	3171.0
10	3	709.7 $\pm$ 57.6	650 - 765	7213.3 $\pm$ 2725.1	4590.0 - 10030.0
11	2	744.0 $\pm$ 50.9	708 - 780	7137.5 $\pm$ 88.4	7075.0 - 7200.0
14	3	748.3 $\pm$ 72.9	665 - 800	7785.8 $\pm$ 2671.2	4725.8 - 9651.5
15	2	774.0 $\pm$ 28.3	754 - 794	9390.0 $\pm$ 3620.4	6830.0 - 11950.0
17	2	729.5 $\pm$ 36.1	704 - 755	6715.0 $\pm$ 792.0	6155.0 - 7275.0
18	3	762.3 $\pm$ 87.9	668 - 842	7746.7 $\pm$ 3225.9	5100.0 - 11340.0
19	1	764.0	764.0	7025.0	7025.0
20	1	850.0	850.0	10000.0	10000.0
21	1	770.0	770.0	8100.0	8100.0
22	2	825.0 $\pm$ 7.1	820 - 830	10900.3 $\pm$ 423.8	10600.6 - 11200.0
23	5	808.0 $\pm$ 118.3	660 - 985	10309.0 $\pm$ 4650.2	6030.0 - 17850.0
24	2	881.0 $\pm$ 12.7	872 - 890	10657.5 $\pm$ 2605.7	8815.0 - 12500.0
25	1	933.0	933.0	15100.0	15100.0
27	1	910.0	910.0	16300.0	16300.0
28	1	864.0	864.0	11100.0	11100.0
29	1	917.0	917.0	14335.0	14335.0
31	1	875.0	875.0	10560.0	10560.0
34	1	981.0	981.0	11700.0	11700.0
40	1	1160.0	1160.0	25000.0	25000.0

Table 3

Reference	Study site	Ageing structure	L_T range (mm)	Age range (years)	n	$W=aL_T^b$	r^2	L_∞ (mm)	k (years ⁻¹)	t_o (years)	GP
Rafail et al. (1969)	Egypt	Sc	166-475	1-7	251	$W=0.00692L_T^{3.222}$	-	800	0.112	-1.08	2.86
Chauvet (1988)	Mediterranean Sea - Tunisia	Sc and Wo	53-1180	0-36	270	$**W=0.01256L_T^{3.073}$	0.996	1144	0.090	-0.75	3.07
Kara & Derbal (1995)	Mediterranean Sea - Algeria	Sc	197-567	1-7	41	$W=0.0081L_T^{3.014}$	0.996	785	0.160	-0.73	2.99
Bouchereau et al. (1999)	Mediterranean Sea - France	Sc	200-1200	1-14	22	$W=0.125L_T^{2.600}$	0.949	1359	0.080	-0.80	3.16
Fennessy (2006)	Southern Western Indian - South Africa	So	95-1020	1-16	215	-	-	1249	0.090	-1.43	3.14
Reñones et al. (2007)	Western Mediterranean - Spain	So	66 - 1056	0-61	358	$W=0.0098L_T^{3.140}$	0.99	955	0.087	-1.12	2.89
Seyboth et al. (2011)	Southern Western Atlantic - Brazil	So	260-800	2-12	108	$W=0.00001L_T^{3.071}$	0.979 (*)	1249	0.069	-1.49	3.03
Present study	Southern Western Atlantic - Brazil	So	150-1160	1-40	190	$W=0.00001L_T^{3.004}$	0.985	900	0.129	-1.45	3.00

Study site, age structure (Sc, scales; So, sectioned otolith; Wo, whole otolith), total length range (L_T), age range, number of specimens sampled (n), length-weight relationships (W_T = weight total of fish; $*W_T$ = eviscerated weight), r^2 = correlation coefficient of the length-weight relationship and Von Bertalanffy growth parameters of *Epinephelus marginatus*. (*) unpublished data.

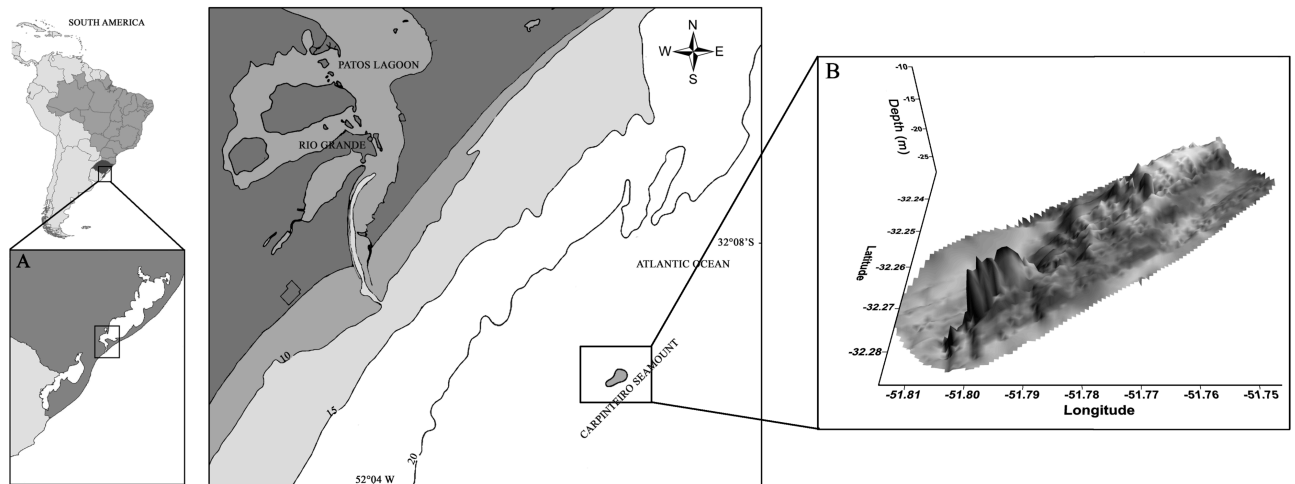


Figure 1 – Patos Lagoon (10.360 km²) and its estuarine zone in the southernmost state in Brazil (A), showing the location of the Carpinheiro Bank in the adjacent marine area (B) and a graphical representation indicating its topography (C). The lines along the coast denote 10, 15 and 20 m isobaths, respectively.

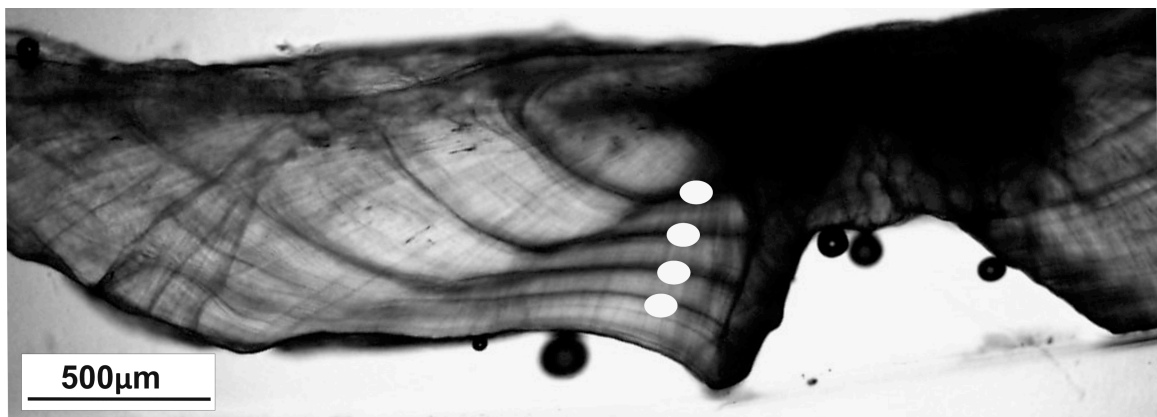


Figure 2 – Cross section of the otolith sagittae (10X) of a dusky grouper, *Epinephelus marginatus*, with a L_T of 470 mm and estimated age of 4+ years. The reading was made with transmitted light, showing a clear difference between the opaque (dark) and translucent (clear) bands.

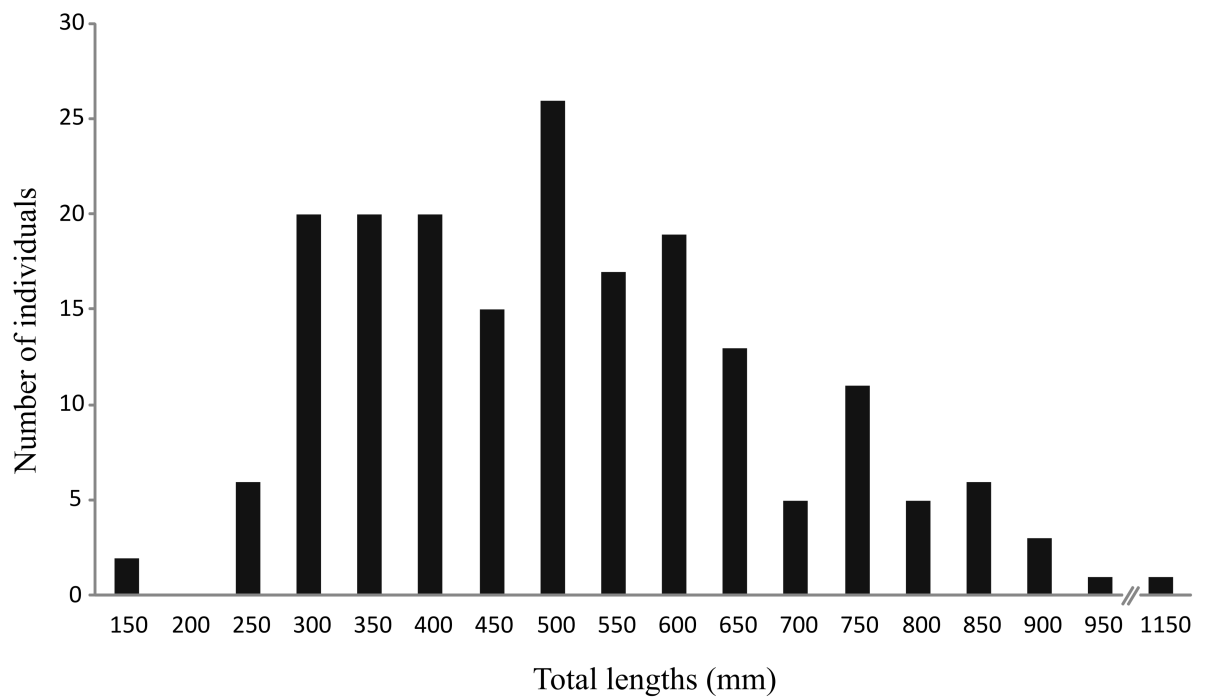


Figure 3 - Histogram of the total length (mm) of specimens of dusky grouper caught at the southernmost limit of the species distribution in the southwestern Atlantic. $n = 189$.

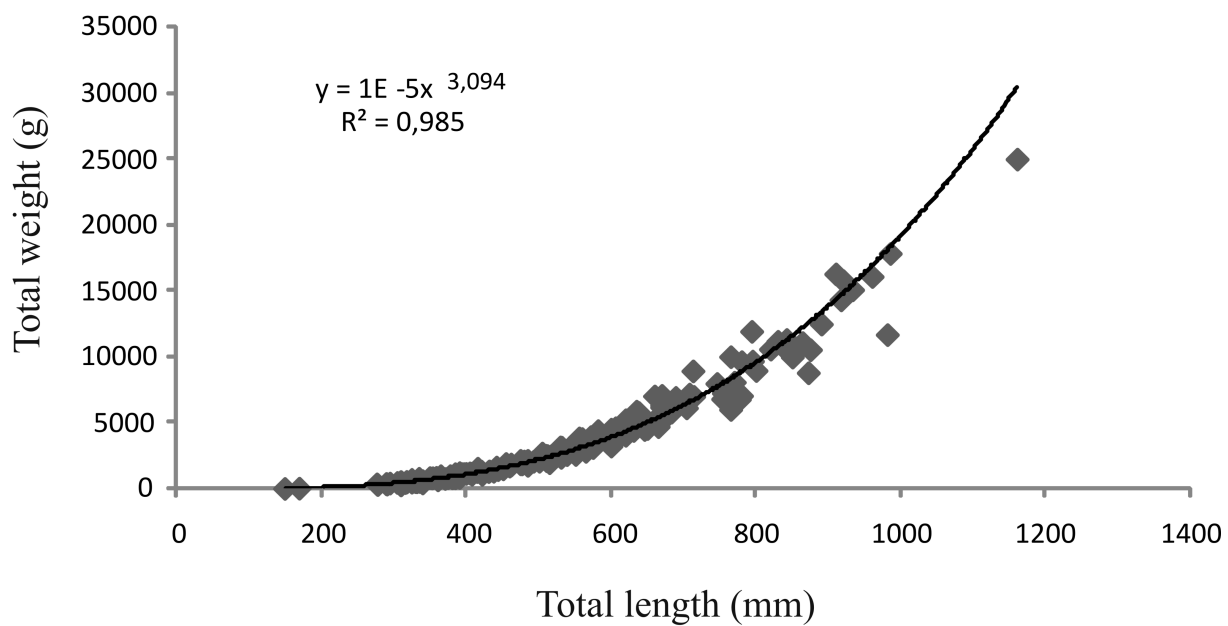


Figure 4 - Weight-length relationship of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus*, at the southernmost limit of its distribution in the southwestern Atlantic. n = 211.

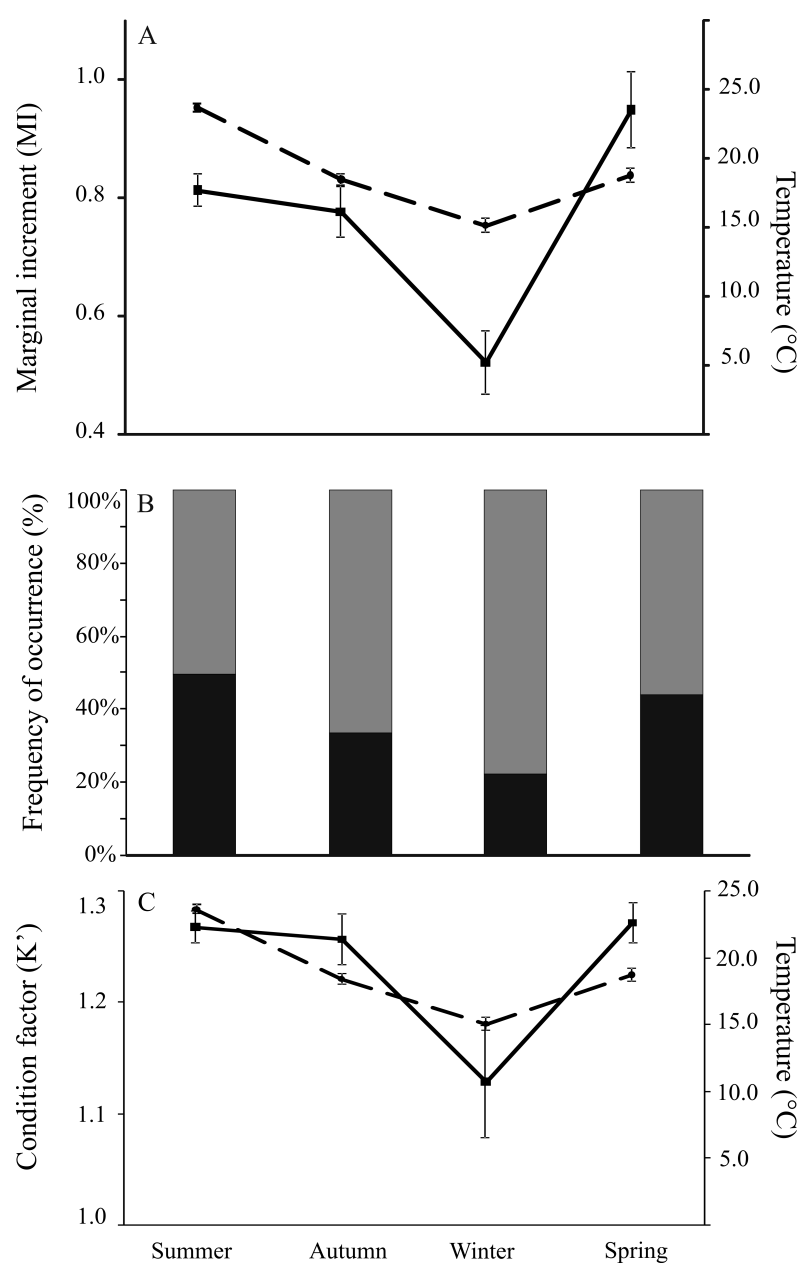


Figure 5 - Seasonal variation in the mean ($\pm$ CI) marginal increment (solid lines), sea surface temperature (dashed line denotes) (A), frequency of occurrence of opaque and translucent edges and sea surface temperature (B) and condition factor (solid lines) and temperature (dashed line) (C). $n = 189$.

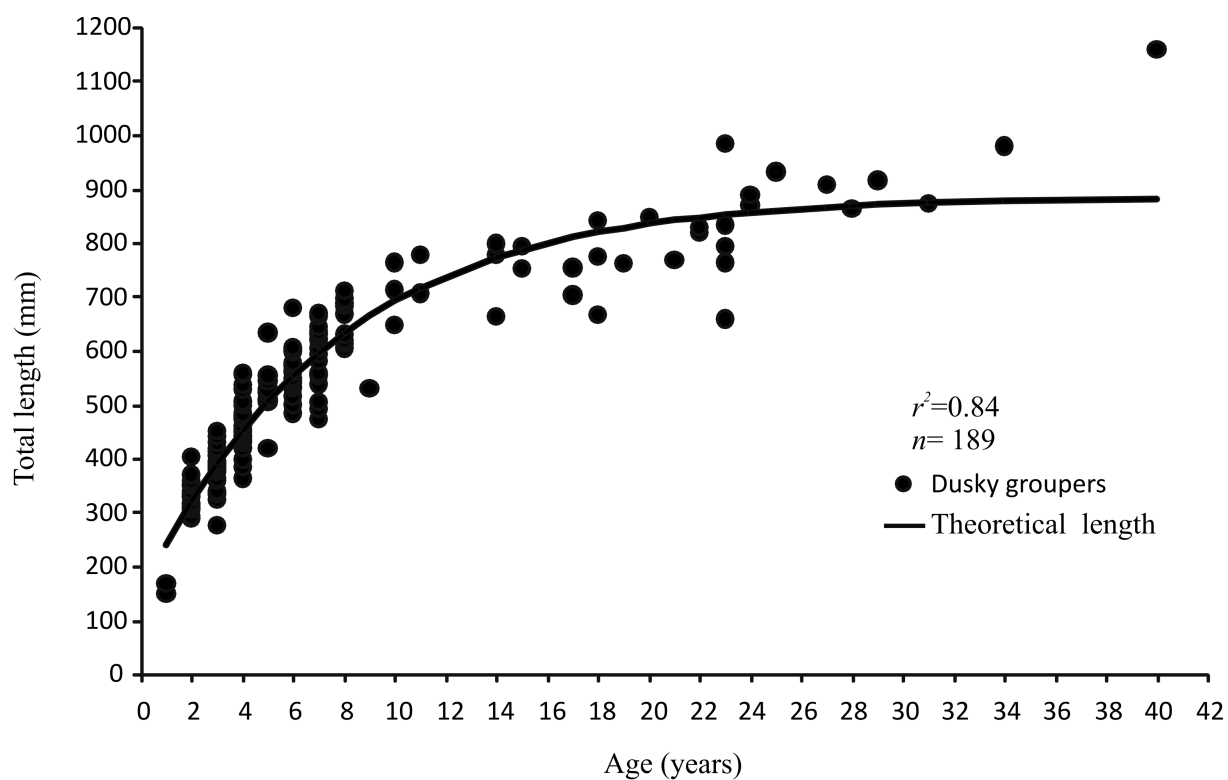


Figure 6 - Total lengths of *Epinephelus marginatus* at different ages and a fitted von Bertalanffy growth curve for specimens caught at the southernmost limit of the species distribution in the southwestern Atlantic. $n = 189$.

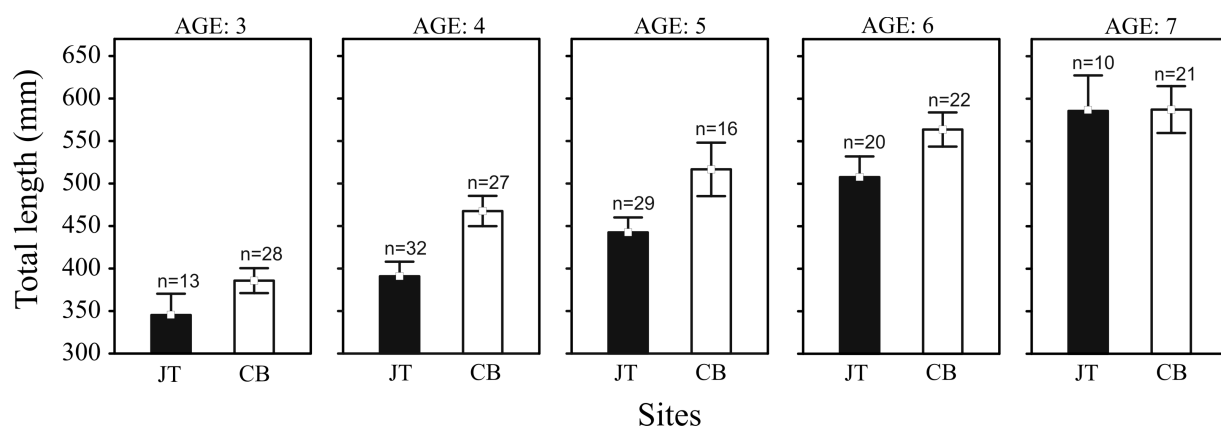


Figure 7 - Average total length ($\pm$ CI) by age class of dusky groupers (*Epinephelus marginatus*) collected from two sites: shallow inshore habitats (black bars) and deeper offshore habitats (open bars).

VI. REFERÊNCIAS CITADAS

- ABREU, L & LJ CALLIARI. 2005. Paleocanais na plataforma continental interna do Rio Grande do Sul: evidências de uma drenagem fluvial pretérita. *Rev. Bras. Geof.*, 23: 123-132.
- ALEKSEEV, FE. 1983. Hermaphroditism in porgies (Perciformes, Sparidae). Sexual structured of the populations mechanism of its formation and evolution in scups *P. orphus*, *P. ehrenbergi* and *P. auriga*. *J. Ichthyol.*, 23: 61-73.
- ANDRADE, BA, LF MACHADO, M HOSTIM-SILVA, JP BARREIROS. 2003. Reproductive biology of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 46: 373-381.
- AZEVEDO, JMN, JB RODRÍGUEZ, M MENDIZÁBAL & LM ARRUDA. 1995. Study of a sample of dusky groupers, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), caught in the tide pool at Lajes do Pico, Azores. *Boletim do Museu Municipal do Funchal*, 4: 55-64.
- BARREIROS, JP & RS SANTOS. 1998. Notes on the food habits and predatory behavior of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces: Serranidae) in the Azores, Arquipélago. *Life and Marines Sciences*, 16(A): 29-35.
- BEAMISH, RJ & GA MCFARLANE. 1995. A discussion of the importance of ageing errors, and an application to walleye pollock: the world's largest fishery. In: SECOR, DH, JM DEAN & SE CAMPANA (eds.). *Recent Developments in Fish*

Otolith Research. University of South Carolina Press. Columbia, SC, 545–565.

BECKMAN, DW, & CA WILSON. 1995. Seasonal timing of opaque zone formation in fish otoliths. In: SECOR DH, J M DEAN & SE CAMPANA (eds.). Recent Developments in Fish Otolith Research. Columbia, SC: University of South Carolina Press. 27–43.

BEGOSS, A & RA SILVANO. 2008. Ecology and ethnoecology of dusky grouper [garoupa, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834)] along the coast of Brazil. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 4(20): 1-14.

BOUCHEREAU, JL, P BODY & C CHAUVET. 1999. Growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Linnaeus, 1758) (Teleostei, Serranidae), in the Natural Marine Reserve of Lavezzi Islands, Corsica, France. *Sci. Mar.*, 63: 71-77.

BRUSLÉ, J & S BRUSLÉ. 1975. Ovarian and testicular intersexuality in two protogynous mediterranean groupers, *Epinephelus aeneus* and *Epinephelus guaza*. In: REINBOTH, R (ed). Intersexuality in the Animal Kingdom. Springer Verlag, Berlin, pp. 222-227.

BRUSLÉ, J. 1985. Exposé synoptique des données biologiques sur les mérours *Epinephelus aeneus* (Geoffroy Saint Hilaire, 1809) et *Epinephelus guaza* (Linnaeus, 1758) de l'océan Atlantique et de le Méditerranée. *FAO Fish Synopsis*, 129 :1–64.

- BRULÉ, T, X RENÁN, T COLÁS-MARRUFO, Y HAUYON, AN TUZ-SULUB. 2003a. Reproduction in the protogynous black grouper (*Mycteroperca bonaci* (Poey)) from the southern Gulf of Mexico. *Fish. Bull.*, 101: 463-475.
- BRULÉ, T, C DENIEL, T COLÁS-MARRUFO, X RENAN. 2003b. Reproductive biology of gag in the southern Gulf of Mexico. *J. Fish Biol.*, 63, 1505-1520.
- BUCHMANN, FSC, M SEELIGER, L ZANELLA, LSP MADUREIRA, LJ TOMAZELLI & LJ CALLIARI. 2001. Análise batimétrica e sedimentológica no estudo do Parcel do Carpinteiro, uma paleolinha de praia pleistocênica na antepraia do Rio Grande do Sul, Brasil. *Pesquisas*, 28: 109-115.
- BUSTOS, R, A LUQUE & JG PAJUELO. 2009. Age estimation and growth pattern of the island grouper, *Mycteroperca fusca* (Serranidae) in an island population on the northwest coast of Africa. *Sci. Mar.*, 73: 319-328.
- CAMPANA, SE. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. Fish Biol.*, 59: 197-242.
- CHAUVET, C. 1988. Etude de la croissance du mérrou *Epinephelus guaza* (Linné, 1758) des côtes tunisiennes. *Aquatic Living Resources*, 1: 277-288.
- COLEMAN, FC, CC KOENIG, GR HUNTSMAN, JA MUSICK, AM EKLUND, JC MCGOVERN, RW CHAPMAN, GR SEDBERRY & CB GRIMES. 2000. Long-lived reef fishes: the grouper-snapper complex. *Fisheries*, 25:14-20.

- COLEMAN, F, CC KOENIG & A COLLINS. 1996. Reproductive style of shallow-water groupers (Pisces: Serranidae) in the eastern Gulf of Mexico and the consequences of fishing spawning aggregations. *Env. Biol. Fish.*, 47: 129-141.
- CONDINI, MV, AM GARCIA & JP VIEIRA. 2007. Perfil do pescador e descrição da pesca da garoupa (Pisces, Serranidae) no Molhe Oeste da Barra de Rio Grande, RS. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 2: 279-287.
- CONDINI, MV, E SEYBOTH, JP VIEIRA & AM GARCIA. 2011. Diet and feeding strategy of the dusky grouper *Mycteroperca marginata* (Actinopterygii: Epinephelidae) in a man-made rocky habitat in southern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.*, 9: 161-168.
- CONDINI, MV, E SEYBOTH, JP VIEIRA, AS VARELA JR., LF FAVARO & AM GARCIA. (Em revisão). First record of the dusky grouper *Mycteroperca marginata* [Actinopterygii: Epinephelidae] undergoing sexual transition in the Western Atlantic. *African Journal of Marine Science*.
- CORNISH, A & M HARMELIN-VIVIEN. 2004. *Epinephelus marginatus*. 2006 IUCN Red List of Threatened Species. <www.iucnredlist.org>.
- COSTA, PAS, AC BRAGA, JP RUBINICH, AO ÁVILA-DA-SILVA & CM NETO. 2011. Age and growth of the snowy grouper, *Epinephelus niveatus*, off the Brazilian coast. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 92: 633-641.

- CRABTREE, RE & LH BULLOCK. 1998. Age, growth, and reproduction of black grouper, *Mycteroperca bonaci*, in Florida waters. *Fish. Bull.*, 96: 735-753.
- CRAIG, MT & PA HASTINGS. 2007. A molecular phylogeny of the groupers of the subfamily Epinephelinae (Serranidae) with a revised classification of *Epinephelini*. *Ichthyological Research*, 54: 1–17.
- CUNHA, ME, H QUENTAL, A BARRADAS, P POUSÃO-FERREIRA, E CABRITA & S ENGROLA. 2009. Rearing larvae of dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), (Pisces: Serranidae) in a semi-extensive mesocosm. *Scientia Marina*, 73S1, 201-212.
- DÍAZ-URIBE, G, JF ELORDUY-GARAY & MT GONZÁLEZ-VALDOVINOS. 2001. Age and Growth of the Leopard Grouper, *Mycteroperca rosacea* in the Southern Gulf of California, México. *Pacif. Sci.*, 55: 171-182.
- DOMIER, ML & PL COLIN. 1997. Tropical reef fish spawning aggregations: defined and reviewed. *Bulletin of Marine Science*, 60: 698-726.
- ERISMAN, B, I MASCAREÑAS, G PAREDES, Y SADOVY DE MITCHESON, O ABURTO-OROPEZA & P HASTINGS. 2010. Seasonal, annual, and long-term trends in commercial fisheries for aggregating reef fishes in the Gulf of California, Mexico. *Fisheries Research*, 106: 279–288.
- FENNESSY, YST. 2006. Reproductive biology and growth of the yellowbelly rockcod *Epinephelus marginatus* (Serranidae) from South-east Africa. *Afr. J. Mar. Sci.*, 28: 1-11.

- FIGUEIREDO, JL & NA MENEZES. 1980. Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. III. Teleostei (2). Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo. 90 p.
- GARCIA, AM, JP VIEIRA, KO WINEMILLER & AM GRIMM. 2004. Comparison of the 1982-1983 and 1997-1998 El Niño effects on the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil). *Estuaries*, 27: 905-914.
- GARCIA, AM, JP VIEIRA & KO WINEMILLER. 2003. Effects of 1997–1998 El Niño on the dynamics of the shallow-water fish assemblage of the Patos Lagoon estuary (Brazil). *Est. Coast. Shelf Sci.*, 57: 489–500.
- GARVEY, JE, TP HERRA & WC LEGGETT. 2002. Protracted reproduction in sunfish: the temporal dimension in fish recruitment revisited. *Ecol. Appl.*, 12(1): 194-205.
- GERHARDINGER, LC, MO FREITAS, AA BERTONCINI, M HOSTIM-SILVA. 2006. Collaborative approach in the study of the reproductive biology of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Perciformes: Serranidae). *Acta Sci. Biol. Sci.*, 28: 219-226.
- GIBRAN, FZ. 2007. Activity, habitat use, feeding behavior, and diet of four sympatric species of Serranidae (Actinopterygii: Perciformes) in southeastern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.*, 5: 387-398.

- GOMES, ID & FG ARAUJO. 2004. Reproductive biology of two marine catfishes (Siluriformes, Ariidae) in the Sepetiba Bay, Brazil. *Rev. de Bio. Trop.*, 52: 143-156.
- GRACIA LÓPEZ, V & F CASTELLÓ-ORVAY. 2003. Preliminary data on the culture of juveniles of the dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Hidrobiológica*, 13: 321-327.
- GRANDCOURT ,EM, TZ ABDESSALAAM, F FRANCIS & AT AL SHAMSI. 2005. Population biology and assessment of the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822), in the southern Arabian Gulf. *Fish. Res.*, 74: 55-68.
- GRAU, A, M LINDE & AM GRAU. 2009. Reproductive biology of the vulnerable species *Sciaena umbra* (Pisces, Sciaenidae) Linnaeus, 1758. *Sci. Mar.*, 73(1): 67-81.
- GULLAND, JA. 1983. Fish stock assessment. A manual of basic methods. FAO/Wiley series on Food and Agriculture, Rome. 223 p.
- GUST, N. 2004. Variation in the population biology of protogynous coral reef fishes over tens of kilometres. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 61: 205-218.
- HARMELIN, JG, M HARMELIN-VIVIEN. 1999. A review on hábitat, diet and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Mar. Life*, 9: 11-20.

- HARRIS, PJ & MR COLLINS. 2000. Age, growth and age at maturity of gag, *Mycteroperca microlepis*, from the southeastern United States during 1994-1995. *Bull. Mar. Sci.*, 68: 105-117.
- HASTINGS, PA. 1981. Gonad morphology and sex succession in the protogynous hermaphrodite *Hemanthias vivanus* (Jordan and Swain). *Journal of Fish Biology*, 18: 443-454.
- HAWKINS, JP & CM ROBERTS. 2003. Effects of fishing on sex-changing Caribbean parrotfishes. *Biol. Conserv.*, 115: 213-226.
- HEEMSTRA, CP & JE RANDALL. 1993. FAO Species catalogue. Groupers of the world (Family Serranidae, Subfamily Epinephelinae): An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper lyretail species known to date, 382 p. FAO Fish. Synop. 125, vol. 16. FAO, Rome.
- HOSTIM-SILVA, M, AB ANDRADE, LF MACHADO, LC GERHARDINGER, FALM DAROS, JP BARREIROS & EAS GODOY. 2006. Peixes de Costão Rochoso de Santa Catarina. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí. 135p.
- HUNTER, JR, BJ MACIEWICZ, NCH LO & CA KIMBRELL. 1992. Fecundity, spawning and maturity of female Dover sole, *Microstomus pacificus*, with an evaluation of assumptions and precision. *Fish. Bull. U.S.*, 90: 101-128.
- HUNTSMAN, GR, J POTTS, RW MAYS, D VAUGHAN. 1999. Groupers (Serranidae, Epinephelinae): Endangered apex predators of reef communities. In:

- MUSICK, JA (ed.). Life in the Slow Lane: Ecology and Conservation of Long-lived Marine Animals. *American Fisheries Society Symposium* 23: 217–232.
- IRIGOYEN, AJ, DE GALVÁN & LA VENERUS. 2005. Occurrence of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) in gulfs of northern Patagonia, Argentina. *J. Fish Biol.*, 67: 1741-1745.
- KARA, MH & F DERBAL. 1995. Morphométrie, croissance et mortalité du Merou *Epinephelus marginatus* (Serranidae) des côtes de l'est algérien. *Cahiers Biologie Marine*, 36: 229–237.
- KARA, MH & F DERBAL. 1999. Données biologiques sur le mérrou *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) des côtes algériennes. *Mar. Life.*, 9(2): 21-27.
- KING, M. 1997. Fisheries biology, assessment and management. United Kingdom, Blackwell Science. 340 p.
- LA MESA, G, A LONGOBARDI, F SACCO & G MARINO. 2008. First release of hatchery juveniles of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Serranidae: Teleostei) at artificial reefs in the Mediterranean: results from a pilot study. *Sci. Mar.*, 72(4): 743-756.
- LE CREN, ED. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch *Perca fluviatilis*. *J. Anim. Ecol.*, 20: 201-219.
- LINDE, M, AM GRAU, F RIERA & E MASSUTÍ-PASCUAL. 2004. Analysis of trophic ontogeny in *Epinephelus marginatus* (Serranidae). *Cybium*, 28(1): 27-35.

- LÓPEZ, VG & FC ORVAY. 2005. Food habits of groupers *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) and *Epinephelus costae* (Steindachner, 1878) in the Mediterranean Coast of Spain. *Hidrobiológica*, 15: 27-34.
- LOUGHURST, AR & D PAULY. 1987. Ecology of tropical oceans. Academic Press Inc. (London). 407 p.
- MACHADO, LM, FAML DAROS, AA BERTONCINI, M HOSTIM-SILVA & JP BARREIROS. 2008. Feeding strategy and trophic ontogeny in *Epinephelus marginatus* (Serranidae) from Southern Brazil. *Cybium*, 32(1): 33-41.
- MACKIE, MC. 2003. Social induced sex-change in the half-moon grouper, *Epinephelus rivulatus*, at Ningaloo reef, Western Australia. *Coral Reefs*, 22: 133-142.
- MANICKCHAND-HEILEMAN, SC & DAT PHILLIP. 2000. Age and growth of the yellowedge grouper, *Epinephelus flavolimbatus*, and the yellowmouth grouper, *Mycteroperca interstitialis*, off Trinidad and Tobago. *Fish. Bull.*, 98: 290-298.
- MANOOCH, CS. 1987. Age and growth of snappers and groupers. In: POLOVINA, JJ & S RALSTON (eds.). Tropical snappers and groupers: Biology and fisheries management. Westview Press, Boulder. p. 329-374.
- MANOOCH, CS & DL MASON. 1987. Age and growth of the warsaw grouper and black grouper from the southeast region of the United States. *Northeast Gulf Sci.*, 9: 65-75.

- MARINO, G, E AZZURRO, A MASSARI, MG FINOIA & A MANDICH. 2001. Reproduction is the dusky grouper from the southern Mediterranean. *J. Fish Biol.*, 58: 909-927.
- MARINO, G, E PANINI, A LONGOBARDI, A MANDICH, MG FINOIA, Y ZOHAR & CC MYLONAS. 2003. Induction of ovulation in captive – reared dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), with a sustained –release GnRHa implant. *Aquaculture*, 219: 841-858.
- MÖLLER, OOJ, P CASTING, JC SALOMON & P LAZURE. 2001. The influence of local and non-local forcing effects on the subtidal circulation of Patos Lagoon. *Estuaries*, 24: 297–311.
- NOAA 2012. National Oceanic and Atmospheric Administration / Southwest Fisheries Science Center – Environmental Research Division http://las.pfeg.noaa.gov/las6_5/servlets/dataset?catitem=30.
- OLIVEIRA, EC & LF FAVARO. 2011. Reproductive biology of the flatfish *Etropus crossotus* (Pleuronectiformes: Paralichthyidae) in the Paranaguá Estuarine Complex, Paraná State, subtropical region of Brazil. *Neotrop. Ichthyo.*, 9(4): 795-805.
- PANDIAN, TJ. 2011. Sexuality in fishes. New Hampshire, Science Publishers. 189 p.

- PARRISH, JD. 1987. The trophic biology of snappers and groupers. In POLOVINA, J.J. & RALSTON S (eds.). Tropical Snappers and Groupers: Biology and Fisheries Management. Boulders, Colorado: Westview Press. 405-463.
- PAULY, D & JL MUNRO. 1984. Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. Fishbyte, Newsletter of the Network of Tropical Fisheries Scientists, 2: 21.
- PULLIAM, HR. 1988. Sources, sinks and population regulation. *Am. Naturalist.*, 132: 652-661.
- PULLIAM, HR. 2000. On the relationship between niche and distribution. *Ecol. Lett.*, 3: 349-361.
- REÑONES, O, R GOÑI, M POZO, S DEUDERO & J MORANTA. 1999. Effects of protection on the demographic structure and abundance of *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Evidence from the Cabrera Archipelago National Park (West-Central Mediterranean). *Mar. Life.*, 9(2): 45-53.
- REÑONES, O, NVC POLUNIN & R GONI. 2002. Size related dietary shifts of *Epinephelus marginatus* in a western Mediterranean littoral ecosystem: an isotope and stomach content analysis. *J. Fish Biol.*, 61: 122-137.
- REÑONES, O, C PIÑEIRO, X MAS & R GOÑI. 2007. Age and growth of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) in an exploited population of the western Mediterranean Sea. *J. Fish Biol.*, 71: 346-362.

- REÑONES, O, A GRAU, X MAS, F RIERA & F SABORIDO-REY. 2010. Reproductive pattern of an exploited dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe 1834) (Pisces: Serranidae) population in the western Mediterranean. *Sci. Mar.*, 74: 23-537.
- RICKER, WE. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bull. Fish. Res. Board Can.*, 191: 1-382.
- SADOVY, Y & DY SHAPIRO. 1987. Criteria for the Diagnosis of Hermaphroditism in Fishes. *Copeia*, 1: 136-156.
- SADOVY, YM & M LIU. 2008. Functional hermaphroditism in teleosts. *Fish and Fisheries*, 9: 1-43.
- SANCHES, EG. 2006. Boas perspectivas para o cultivo de meros, garoupas e badejos no Brasil. *Panorama da Aquicultura*, 16: 44-51.
- SANCHES, EG, VG AZEVEDO, MR COSTA. 2007. Criação da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Teleostei, Serranidae) alimentada com rejeito de pesca e ração úmida em tanques-rede. *Atlântica*, v.29, n.2, p. 121-126,
- SANCHES, EG, IR OLIVEIRA & PC SERRALLHEIRO. 2008. Crioconservação do sêmen da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus*. *Bioikos*, 22: 81-90.
- SCHIMIDT-NIELSEN, K. 2002. Fisiologia animal - Adaptação e meio ambiente. Cambridge University Press. 611 p.

- SECOR, DH, JM DEAN & SE CAMPANA. 1995. Recent Developments in Fish Otolith Research. Columbia, SC: University of South Carolina Press. 735 p.
- SEYBOTH, E, MV CONDINI, CQ ALBUQUERQUE, AS VARELA JR., G VELASCO, JP VIEIRA & AM GARCIA. 2011. Age, growth and reproductive aspects of the dusky grouper *Mycteroperca marginata* (Actinopterygii, Epinephelidae) in a man-made rocky in southern Brazil. *Neotrop. Ichthyol.*, 9: 849-856.
- SHAPIRO, DY. 1987. The reproduction in groupers. In: POLOVINA, JJ & S RALSTON (eds.). Tropical snappers and groupers: Biology and management of snappers and groupers. Westview Press Inc, Boulder, Colorado. 295-327.
- SOKAL, RR & FJ ROHLF. 1995. Biometry: the principles of statistics in biological research. New York, Freeman, 887p.
- SPEDICATO, MT, G LEMBO, P DI MARCO, G MARINO. 1995. Preliminary results in the breeding of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). *Cahiers Options Méditerranéens*, 16: 131–148.
- SMITH, WL & MT CRAIG. 2007. Casting the Percomorph net widely: the importance of broad taxonomic sampling in the search for the placement of the serranid and percoid fishes. *Copeia*, 2007(1): 35-55.
- WEBB, RO & MJ KINGSFORD. 1992. Protogynous hermaphroditism in the half-banded sea perch, *Hypoplectrodes maccullochi* (Serranidae). *Journal of Fish Biology*, 40: 951-961.

- WILK, SJ, WW MORSE & LL STEHLIK. 1990. Annual cycles of gonado-somatic indices as indicators of spawning activity for selected species of finfish collected from the New York Bight. *Fish. Bull.*, 88: 775-786.
- WRIGHT, PJ, J PANFILI, B MORALES-NIN, & AJ GEFFEN. 2002. Otolith. In: PANFILI, J, H PONTUAL, H TROADEC & PJ WRIGHT (eds.). Manual of sclerochronology. Ifremer-IRD edition, Brest. 31-57.
- ZABALA, M, A GARCIA-RUBIES, P LOUISY & E SALA. 1997a. Spawning behavior of the Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces, Serranidae) in the Medes Islands Marine Reserve (NW Mediterranean, Spain). *Scientia Marina*, 61: 65-77.
- ZABALA, M, P LOUISY, A GARCIA-RUBIES & V GRACIA. 1997b. Socio-behavioural context of reproduction in the Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces, Serranidae) in the Medes Islands Marine Reserve (NW Mediterranean, Spain). *Scientia Marina*, 61: 79-89.
- ZAR, JH. 1999. Biostatistical analysis, 4 ed. New Jersey: Prentice Hall. 663 p.