

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LEIRIA
ESCOLA SUPERIOR DE TURISMO E TECNOLOGIA DO MAR



**Identificação e caracterização do potencial reprodutivo da
tainha *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758**



Ana Luísa Rente Medeiros

2014

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LEIRIA
ESCOLA SUPERIOR DE TURISMO E TECNOLOGIA DO MAR



**Identificação e caracterização do potencial reprodutivo da
tainha *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758)**

Ana Luísa Rente Medeiros

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Aquacultura

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação de:

Especialista Teresa Baptista

Doutora Florbela Soares

Doutora Maria Emília Cunha

2014

Identificação e caracterização do potencial reprodutivo da tainha *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758)

Copyright © Ana Luísa Rente Medeiros

**Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar – Peniche
Instituto Politécnico de Leiria**

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

“Foi o tempo que dedicaste à tua rosa que a fez tão importante”

(Antoine de Saint-Exupéry)

Dedico *in memoriam* esta dissertação *aos meus Avós*

Agradecimentos

Ao Doutor Pedro Pousão-Ferreira, responsável da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) por me ter permitido e proporcionado as condições necessárias para a elaboração da minha Tese.

À Doutora Florbela Soares e à Doutora Emília Cunha obrigada pela disponibilidade para orientar este trabalho, pela exigência de método e rigor, pela cedência e indicação de bibliografia relevante, pela acessibilidade, cordialidade e simpatia demonstradas, pela confiança que me concederam e pelo permanente estímulo que se tornaram decisivos em determinados momentos da elaboração desta dissertação. Foi um enorme privilégio.

À Professora Teresa Baptista muito obrigada por ter aceite orientar este trabalho, pela revisão crítica do texto, pelos comentários, esclarecimentos e sugestões, pela preocupação e disponibilidade.

A minha imensa gratidão à Ana Margarida Gamboa que me acompanhou durante todas as atividades, por me fornecer informações importantes, pela aprendizagem, por acreditar em mim e no meu trabalho, pela constante disponibilidade, pela paciência, por não me deixar “desviar” do caminho, por toda a ajuda e por toda a boa disposição e risadas sempre presente durante todo este tempo. Muito obrigada, a tua ajuda foi, sem dúvida, imprescindível!

A toda a equipa do IPMA pela companhia, aprendizagem e bons momentos. Ao Sr. Valery por toda a ajuda na manutenção do tanque e nas amostragens. À Doutora Laura Ribeiro, Marisa Barata, Tânia Lourenço e Lurdes Palma pela forma como me receberam, pelo excelente ambiente que me proporcionaram e por tudo o que me ensinaram. À Patrícia Ramalho pela disponibilidade, ajuda e contribuição sobretudo na fase laboratorial. À Marta Santos por todas as horas “extras” e pela ajuda em todos os momentos.

Aos meus pais, pelos inúmeros sacrifícios suportados, pelo constante encorajamento, por me apoiarem incondicionalmente independentemente de tudo e de todos. Por me ensinarem a lutar, ser feliz e dedicada a fazer o que se gosta, pensando sempre na possibilidade de conseguir. Ao meu irmão pelo apoio incondicional, amizade, incentivo constante e amor de

uma vida inteira. Obrigada, vocês são a minha fortaleza, o meu porto seguro e os meus maiores incentivadores.

A toda a minha família, em especial à madrinha mais espetacular por todo o apoio e amor incondicional, e à Tia “Mami” pelo apoio, histórias, telefonemas e preocupação.

Ao meu Tiago, pela paciência gigante, principalmente na reta final, por ser a outra metade de mim e por tudo aquilo que está para além das palavras. A toda a sua família, em especial aos pais e avós pelo carinho, preocupação e apoio constantes.

Eternos agradecimentos aos amigos de sempre, Mara Bernardo, Letícia Martins, Daniela Ferreira e Inês Braz por compreenderem as ausências e tornarem as presenças balões de ar. Ao Filipe e ao Rui pela coragem de nos aturar todas juntas, por toda a boa disposição e por todos os bons momentos “em família”.

À Ana Rato pela disponibilidade, apoio, comentários construtivos que me ajudaram na realização deste trabalho, mas acima de tudo pela amizade, paciência, companheirismo e por saber lidar comigo em todas as situações ao longo destes anos. Obrigada por estares sempre presente!

A todos os meus amigos pela coragem de me aturar, pela presença constante, por nunca me deixarem desistir, pelos jantares, saídas, cafés, conversas longas e parvoíces. Vocês tornaram tudo mais fácil! Muito, muito obrigada, Dina Silva, Miguel Brito de Oliveira, Andreia Mendes, Sofia Martins, Catarina Pereira, Sara Maximiano, Ana Nogueira, Joanna Melissa, Verónica Rijo, Naíde Quaresma. A todos os “amigos Monte Branco”, que me proporcionaram momentos de verdadeira galhofa, companhia e lufadas de ar fresco.

Por último, mas não menos importante, à Professora Doutora Ana Margarida Pombo agradeço a oportunidade e apoio durante o Mestrado que muito contribuiu para o enriquecimento da minha formação académica. A todos os colegas do Mestrado de Aquacultura, com quem vivi um ambiente de verdadeira aprendizagem colaborativa.

Em suma, a todos os que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização desta tese, o meu *Muito Obrigada!*

Resumo

A tainha *Mugil cephalus*, é uma espécie ecológica e biologicamente importante adequada para a aquacultura sustentável. É uma das espécies mais importantes no mundo da pesca e da aquacultura, especialmente em países do Mediterrâneo. Tem um papel vital na economia desses países, e é produzida com base na captura de juvenis selvagens. Esta captura não é, no entanto, uma forma sustentável para a aquacultura, e por conseguinte, é necessário conhecer e fechar o ciclo reprodutivo da tainha de modo a ser possível a obtenção de ovos para a produção de larvas.

De forma a caracterizar, identificar e obter mais informação sobre o potencial reprodutivo da tainha *Mugil cephalus* em aquacultura, este estudo teve como objetivo determinar o ciclo reprodutivo da tainha, através da medição do diâmetro dos oócitos e da avaliação do estado de maturação dos ovários, na Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO). Os parâmetros biométricos (comprimento total, comprimento de furca e peso) dos quinze exemplares foram registados mensalmente. Uma vez que, os parâmetros hematológicos são considerados ferramentas valiosas para avaliar o estado de saúde dos peixes, amostras de sangue foram recolhidas e submetidas à análise hematológica (hematócrito, concentração de hemoglobina e esfregaços).

De acordo com os resultados obtidos, a época de desova do *stock* de reprodutores de tainha da EPPO é entre os meses de Maio e Julho. A análise estatística revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) em todos os parâmetros hematológicos analisados. O hematócrito parece apresentar valores superiores no período pré-desova e durante a época de reprodução. Os glóbulos vermelhos e a concentração de hemoglobina parecem ser influenciados pela baixa atividade dos indivíduos, parasitas e condições ambientais.

Palavras-chave: desova, *Mugil cephalus*, diâmetro oócitos, reprodução, parâmetros hematológicos

Abstract

Grey mullet it is an ecological and biologically important species suitable for sustainable aquaculture. It plays an important role for the economy of several Mediterranean countries, where it is produced in aquaculture based on capture of wild juveniles. The capture of wild juveniles for aquaculture it is not sustainable, and therefore the reproductive cycle must be known in order to obtain eggs for larval production. In this species, the reproductive cycle is still not closed for aquaculture purposes.

In an effort to provide information about the potential of grey mullet *Mugil cephalus* in aquaculture, this study was developed to determine grey mullet reproductive cycle based on oocyte diameter measured over a period of one year at Olhão Aquaculture Research Center (EPPO). Monthly measures of body weight, standard and fork length of 15 females kept in 18 m³ tanks in natural conditions were recorded. Since haematological parameters have been recognized as valuable tools for the monitoring of fish health, blood samples of *Mugil cephalus* were collected and subjected to haematological analysis (haematocrit, hemoglobin concentration and smears).

Based on oocyte diameter, the spawning season for grey mullet of EPPO lasts from May to July. Statistical analysis revealed differences ($p < 0,05$) in every hematological parameters between some months. Haematocrit appeared to be higher in the pre-spawning and spawning season. Red blood cells and hemoglobin concentration seem to be influenced by environmental conditions, parasites and low movement.

Key words: Spawning, *Mugil cephalus*, oocyte diameter, reproduction, blood parameters

Índice

1. Introdução geral	1
2. Objetivo	4
3. Introdução.....	5
3.1. Tainha, <i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758.....	5
3.2. Posição sistemática.....	6
3.3. Caracterização morfológica	7
3.4. Distribuição geográfica e habitat.....	8
3.5. Reprodução.....	9
3.6. Parâmetros sanguíneos.....	12
4. Materiais e Métodos	15
4.1. Manutenção dos Reprodutores.....	15
4.2. Amostragens	15
4.2.1. Avaliação do estado de maturação.....	16
4.3. Parâmetros hematológicos	16
4.3.1. Realização do hematócrito.....	17
4.3.2. Esfregaço de sangue	17
4.3.3. Determinação quantitativa de hemoglobina	18
4.4. Análise Estatística	18
5. Resultados	21
5.1. Parâmetros Físico-Químicos e Biométricos.....	21
5.2. Avaliação do Estado de Maturação.....	23
5.3. Parâmetros Hematológicos	27
5.3.1. Morfologia Celular	27
5.3.2. Análise Hematológica	29
6. Discussão	33
7. Considerações Finais.....	39
8. Investigação Futura.....	39
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

ANEXOS

Índice de figuras

Figura 1.1 – Produção global (em toneladas) de <i>Mugil cephalus</i> entre 1950 e 2012, no que diz respeito a: a) atividades pesqueiras, b) aquacultura, registados pela FAO (Fonte: FAO FishStat (http://www.fao.org))	3
Figura 3.1 – Exemplar de <i>Mugil cephalus</i> (foto do autor).....	8
Figura 3.2 – Distribuição geográfica global da tainha <i>Mugil cephalus</i> , apresentando as probabilidades relativas de ocorrência (fonte: www.aquamaps.org)	9
Figura 4.1 – Recolha de oócitos através da introdução de um cateter no oviduto de uma fêmea <i>Mugil cephalus</i>	16
Figura 4.2 – Recolha de sangue da tainha por punção da veia caudal e transferência para <i>Eppendorf</i>	17
Figura 5.1 – Exemplares do parasita externo <i>Caligus sp.</i> (Foto do autor).....	25
Figura 5.2 – Relação mensal entre o diâmetro dos oócitos (mm) das fêmeas de <i>Mugil cephalus</i> e o respetivo índice de condição.....	25
Figura 5.3 – Temperatura média da água do tanque exterior da EPPO, no período de um ano. Alterações no tamanho dos oócitos (diâmetro em mm) de <i>Mugil cephalus</i> durante um ano.	25
Figura 5.4 – Exemplares de oócitos de diferentes tamanhos de <i>Mugil cephalus</i>	24
Figura 5.5 – Perfil de frequência de tamanhos correspondentes aos estados de maturação dos oócitos, usado para estimar a fecundidade de <i>Mugil cephalus</i> durante o período de um ano. Barras representam as frequências do diâmetro dos oócitos em intervalos de classe de 0,05 entre 0 e 1 mm.	27
Figura 5.6 – Fotografias das células sanguíneas de <i>Mugil cephalus</i> coradas com Wright – Giemsa. (A) Eritrócitos (B) Trombócito; (C) Linfócito; (D) Monócito; (E) Granulócito; (F) Granulócito: Neutrófilo. Ampliação x100.....	28
Figura 5.7 – Representação gráfica das percentagens das células sanguíneas de <i>Mugil cephalus</i> identificadas no decorrer do período de estudo (Out-13 – Jul-14). (T: trombócito, L: Linfócito, M: Monócito, G: Granulócito, G-N: Granulócito neutrófilo).. ..	28
Figura 5.8 – Alterações da concentração de Hgb de <i>Mugil cephalus</i> durante o período de estudo (média \pm desviopadrão; g/dl). As letras (abcd) indicam as diferenças significativas entre os meses ($p < 0,05$). O asterisco indica ocorrência do parasita externo <i>Caligus sp.</i>	30
Figura 5.9 – Alterações dos valores de Hct de <i>Mugil cephalus</i> durante o período de estudo (média \pm desviopadrão; %). As letras (ab) indicam as diferenças significativas entre os meses ($p < 0,05$). O asterisco indica ocorrência do parasita externo <i>Caligus sp.</i>	30

Figura 5.10 – Valores médios \pm desvio padrão de MCHC (g/dl) e MCH (pg) do perfil hematológico analisado para *Mugil cephalus*. As letras (ab) indicam as diferenças significativas entre os meses ($p < 0,05$)..... 31

Índice de tabelas

Tabela 1.1 – Produção mundial de pescado (pescas e aquacultura) e a sua utilização.	1
Tabela 3.1 – Épocas de desova (a negrito e delimitado a preto) de <i>Mugil cephalus</i> de várias partes do mundo. (Números representam as temperaturas médias mensais da água do mar em graus Celsius para cada região). (fonte: Adaptado de Ameer et al., 2003; Ibáñez e Gutiérrez Benítez, 2004; Koutrakis, 2004; McDonough et al., 2005; Whitfield et al., 2012).	12
Tabela 5.1 – Valores médios \pm desvio padrão dos fatores físico-químicos da água no tanque exterior da EPPO ao longo dos meses de estudo.	21
Tabela 5.2 – Valores médios \pm desvio padrão do peso comprimento total e índice de condição dos exemplares ao longo do período de estudo.	22
Tabela 5.3 – Valores médios dos parâmetros avaliados em <i>Mugil cephalus</i> . (Hct: hematócrito, Hgb: hemoglobina, RBC: glóbulos vermelhos, MCHC: concentração de hemoglobina corpuscular média, MCH: hemoglobina corpuscular média, MCV: volume corpuscular médio).	29

Listas de abreviaturas, siglas e símbolos

IPMA – Instituto Português do Mar e da Atmosfera

EPPO – Estação Piloto de Piscicultura de Olhão

CT – Comprimento total

O₂d – Oxigénio dissolvido

IC – Índice de condição

RBC – Glóbulos vermelhos

WBC – Glóbulos brancos

Hct – Hematócrito

Hgb – Concentração de hemoglobina

MCV –Volume corpuscular médio

MCH – Hemoglobina corpuscular média

MCHC – Concentração de hemoglobina corpuscular média

1. Introdução geral

A crescente preocupação humana em relação à sua saúde levou a que a população dê cada vez mais preferência ao pescado como alternativa saudável à carne (Kaiser et al., 2011; Videler, 2011). Este facto reflete-se nos dados de 2014 da Food and Agriculture Organization (FAO, 2014) onde a produção de alimentos para consumo humano, incluindo produtos provenientes da aquacultura (peixes, crustáceos, moluscos e outros animais aquáticos), atingiu cerca de 131 milhões de toneladas em 2011, e 136 milhões de toneladas em 2012 (Tabela 1.1). Com o aumento da captura e da produção em aquacultura de pescado e a sua melhor distribuição, o abastecimento mundial de peixe tem crescido drasticamente nas últimas cinco décadas. A taxa de crescimento média no período de 1961 a 2010 foi de 3,2% ao ano superando o aumento de 1,7% ao ano da população mundial (FAO, 2012b; FAO, 2014).

Tabela 1.1 – Produção mundial de pescado (pescas e aquacultura) e a sua utilização.

	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012*
(milhões de toneladas)							
PRODUÇÃO							
Captura							
Continental	9,8	10,0	10,2	10,4	11,2	11,5	11,6
Marinha	80,2	80,4	79,5	79,2	77,4	78,9	79,7
Total	90,0	90,3	89,7	89,6	88,6	90,4	91,3
Aquacultura							
Continental	31,3	33,4	36,0	38,1	41,7	44,3	41,9
Marinha	16,0	16,6	16,9	17,6	18,1	19,3	24,7
Total	47,3	49,9	52,9	55,7	59,9	63,6	66,6
Total Produção Pescado	137,3	140,2	142,6	145,3	148,5	154,0	158,0
UTILIZAÇÃO							
Consumo humano	114,3	117,3	119,7	123,6	128,3	130,8	136,2
Utilização não alimentar	23,0	23,0	22,9	21,8	20,2	23,2	21,7
População (biliões)	6,6	6,7	6,7	6,8	6,9	7,0	7,1
Consumo de pescado como alimento <i>per capita</i> (Kg)	17,4	17,6	17,8	18,1	18,6	18,8	19,2

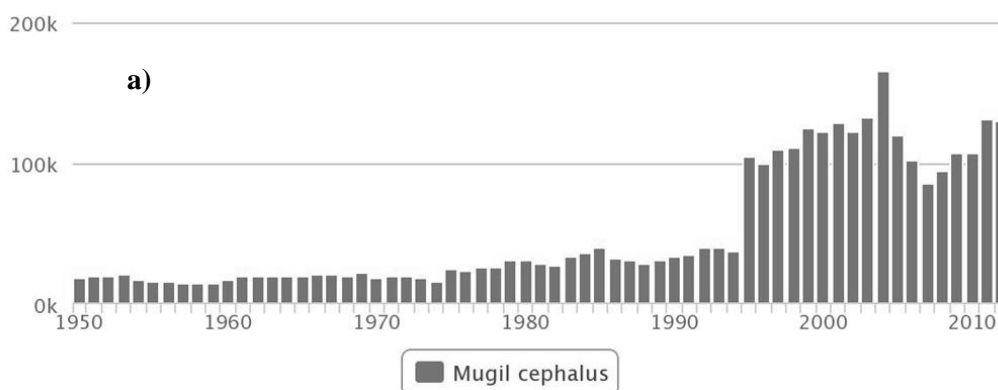
Excluindo plantas aquáticas. * Dados de 2012 são uma estimativa provisória.

Fonte: FAO, 2014

Atualmente a captura dos produtos provenientes da pesca encontra-se próxima ou ultrapassa já o seu limite sustentável, levando a que a aquacultura seja considerada por muitos como a solução para a escassez iminente dos recursos marinhos (Boyd, 2003; Kaiser et al., 2011; Naylor et al., 2000; Videler, 2011). Para suprir as necessidades do mercado a aquacultura é considerada como uma importante alternativa, sendo mesmo, em alguns países, a principal fonte de proteína de origem animal (Videler, 2011).

Um dos problemas do aumento de produção em aquacultura prende-se com o alimento fornecido às espécies de peixe atualmente produzidas. Na sua maioria são espécies carnívoras que necessitam de óleo de peixe incorporado na ração como fonte de energia e ácidos gordos polinsaturados (Deutsch et al., 2007; FAO, 2012a; Naylor et al., 2000; Tacon e Metian, 2008). Como a captura de peixe selvagem tem que ser gerida de uma forma sustentável para garantir a continuidade dos *stocks*, é importante encontrarem-se espécies de peixe alternativas que não dependam tanto desses óleos e de farinha de peixe, e que possam ser produzidas em aquacultura (Kelly et al., 1958; Naylor et al., 2000).

Um grupo de peixes que correspondem a estes requisitos são as tainhas (Kelly et al., 1958; Naylor et al., 2000). A sua produção mundial total (pesca e aquacultura) aumentou de uma forma significativa entre os anos 1990 e 2007, principalmente no setor da aquacultura. A partir de 2007 observa-se uma diminuição na captura e na produção em aquacultura (Fig. 1.1 a) e b)). Esta quebra conjunta nas duas formas de abastecimento resulta de que a sua produção em cativeiro se baseia na captura de juvenis em meio natural (Aizen et al., 2005; Bartulović et al., 2011; Chang et al., 2000; Whitfield et al., 2012; Yelghi et al., 2012).



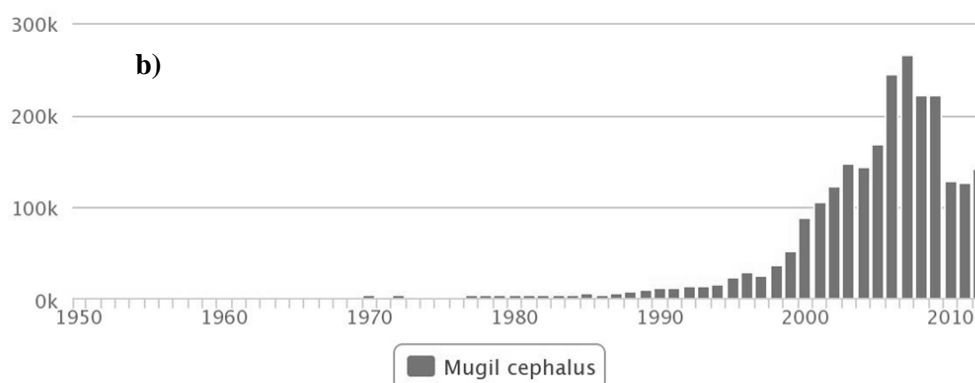


Figura 1.1 – Produção global (em toneladas) de *Mugil cephalus* entre 1950 e 2012, no que diz respeito a: a) atividades pesqueiras, b) aquacultura, registados pela FAO (Fonte: FAO FishStat (<http://www.fao.org>)).

Em países como Egipto, Taiwan, Israel, Tunísia e Grécia as tainhas são peixes com elevada procura sendo muito importantes para a economia local (Chang et al., 2000; Hung e Shaw, 2006; Saleh, 2008; Wang et al., 2010). As espécies produzidas dependem principalmente da abundância das espécies na região de produção. Atualmente tem havido um interesse crescente na produção de *Mugil cephalus*, devido aos seus elevados valor comercial e taxa de crescimento (Bichy, 2000; Chang et al., 2000; Saleh, 2008; Yelghi et al., 2012; Yousif et al., 2010).

As tainhas são um grupo de espécies da Família dos Mugilidae, sendo os géneros *Mugil*, *Liza* e *Chelon* os mais comuns em Portugal (Arruda et al., 1991; Whitfield et al., 2012). Este grupo de espécies é biologicamente muito importante pois têm um papel vital na cadeia alimentar aquática como elo de ligação entre o menor e os mais altos níveis tróficos uma vez que são consumidores primários que se alimentam de detritos e microalgas epífitas e bentónicas (diatomáceas, dinoflagelados e cianobactérias) e servem de alimento a numerosas aves, peixes e mamíferos como o golfinho comum *Tursiops truncatus* (Bekova et al., 2013; Bichy, 2000; Bartulović et al., 2011; Biswas et al., 2012; Fazio et al., 2012).

Mugil cephalus é uma espécie atraente para a aquacultura, tanto de água doce como marinha (Bogliione et al., 2006; Whitfield et al., 2012) tendo sido a primeira espécie da família Mugilidae a ser utilizada em aquacultura, e desde a década de 1980 tem sido intensivamente estudada principalmente no que diz respeito à reprodução, desova e cultivo,

devido ao seu potencial para ser produzida em diferentes países tropicais (Barman et al., 2005; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; Saleh, 2008). A maioria dos juvenis para a produção em aquacultura são obtidos a partir de populações selvagens, devido à sua elevada abundância em ambiente natural e por ser menos dispendioso. Em cativeiro e até à data, ainda não há registo de desovas espontâneas (Aizen et al., 2005; Chang et al., 2000; Yelghi et al., 2012; Yousif et al., 2010; Zohar e Mylonas, 2001) e existe uma grande variabilidade na qualidade dos ovos resultantes da indução artificial da postura.

2. Objetivo

Considerando o aspeto económico da produção de tainha *Mugil cephalus*, o aumento da sua procura, a importância a nível mundial e com a necessidade em suprir o mercado de produção com juvenis provenientes de aquacultura em número adequado, este trabalho teve como objetivo o conhecimento do ciclo reprodutivo anual da tainha (*M. cephalus*) em cativeiro afim de se contribuir para a obtenção de posturas de qualidade. Foi feito o estudo da evolução mensal do estado de maturação dos oócitos e de alguns parâmetros hematológicos.

3. Introdução

3.1. Tainha, *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758

A maioria das espécies de tainha são alvo de pescarias, mas a espécie que tem uma maior importância é *M. cephalus*, Linnaeus 1758. Devido ao seu comportamento biológico, tamanho e qualidade nutricional, *M. cephalus* é uma espécie chave em pescarias costeiras e da plataforma continental em todo o mundo, onde é consumido localmente (Bekova et al., 2013; Greeley et al., 1987; Hung e Shaw, 2006). Os seus modos de vida e comportamento biológico tornam-no numa espécie chave no nicho ecológico da interface água doce/salgada. A posição na cadeia alimentar da tainha *M. cephalus* L., juntamente com as suas características euri térmicas e eurihalinas permite-lhes ocupar ambientes aquáticos variados nos diferentes estágios do seu ciclo de vida. Tal facto permite-lhes atingir uma elevada biomassa em muitas zonas da sua área de distribuição. Essas mesmas características tornaram *M. cephalus* uma das espécies mais importantes no mundo da pesca e da aquacultura, especialmente em países do Mediterrâneo tais como o Egipto, Tunísia, Israel, Grécia e Itália, no Oriente Extremo como a República da Coreia, Taiwan, Hong-Kong e Singapura e na costa oriental do Pacífico como o México e o Peru (Bekova et al., 2013; Biswas et al., 2012; Boglione et al., 2006; Cardona et al., 2008; FAO, 2009, 2012a, 2012b; Fazio et al., 2013a, 2013b; Sadek, 2011; Saleh, 2008; Wang et al., 2010; Whitfield et al., 2012; Yelghi et al., 2012). No entanto, o seu valor comercial depende do país, sendo muito elevado em países como a Tunísia, Egito, Taiwan e Itália, e mais baixo em Espanha, França e Austrália (Bichy, 2000; Boglione et al., 2006; Chang et al., 2004; Faggio et al., 2013; Hung e Shaw, 2006; Saleh, 2008; Scano et al., 2008; Wang et al., 2010; 2011; Whitfield et al., 2012).

A produção mundial da tainha *M. cephalus* em aquacultura aumentou de 25 600 toneladas em 1997 para 221 978 toneladas em 2009. A maior parte deste aumento foi resultado da elevada produção no Egito, que é atualmente um dos maiores produtores de tainha, com uma produção de 210 000 toneladas em 2009 (FAO, 2009, 2012b; Gautier e Hussenet, 2005; Saleh, 2008). Em 2010, foi uma das espécies que contribuiu substancialmente para a quota global da aquacultura de 3,1% (1,8 milhões de toneladas) no que diz respeito à produção total de peixes marinhos (FAO, 2012b; Saleh, 2008).

No Mediterrâneo, Sudeste Asiático e Índia, a tainha é produzida essencialmente como produto alimentar, sendo muito apreciada pela qualidade da carne e bom sabor (Bichy, 2000; Biswas et al., 2012; Chang et al., 2000; Greeley et al., 1987). No entanto, em alguns países com a África do Sul, *M. cephalus* é muito utilizada como isco vivo para grandes peixes piscívoros (Greeley et al., 1987; Whitfield et al., 2012). Outro modo de consumo, e que tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas em muitas partes do mundo, são as ovas de tainha, “Bottarga di Muggine” (em Italiano) e “Karasumi” (em Japonês). No Mediterrâneo as ovas de tainha são processadas artesanalmente e transformadas no “Caviar do Mediterrâneo” (Barra et al., 2008; Scano et al., 2008). Consumidas há séculos na Ásia pelo Japão e China, o seu consumo foi difundido na Europa antiga pelos Fenícios sendo os principais consumidores a Itália, França e Espanha. Na maioria destes países a indústria das ovas de tainha desempenha um papel económico importante, uma vez que são consideradas uma iguaria e estão a tornar-se no produto mais valorizado desta espécie (Bichy, 2000; Chang et al., 2000; Chang et al., 2004; Hsu et al., 2007; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; McDonough et al., 2003, 2005; Wang et al., 2010) começando a ser chamada pelos pescadores como “ouro cinzento” (Hung e Shaw, 2006; Whitfield et al., 2012).

Para além de ser a base de grandes pescarias artesanais, (o que levou ao colapso do *stock* em Taiwan) *M. cephalus* tem vindo a ser amplamente utilizada na aquacultura de água salobra, doce e marinha (Greeley et al., 1987; Hung e Shaw, 2006; McDonough et al., 2005). É produzida geralmente em sistemas extensivo ou semi-intensivo, e devido ao seu hábito alimentar, essencialmente detritos vegetais e microflora, é uma espécie que desempenha um papel ecológico fundamental, pois melhora a qualidade da água e dos sedimentos, tornando-se apropriada para mono ou policultivo (Biswas et al., 2012; Cardona et al., 2008; Fazio et al., 2013b; Sadek, 2011; Saleh, 2008; Yelghi et al., 2012).

3.2. Posição sistemática

A tainha *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758) é a espécie mais difundida entre a família Mugilidae, que compreende um total de 20 géneros e 70 espécies válidas (11 das quais pertencem ao género *Mugil*) (Eschmeyer e Fricke, 2011; Nirchio et al., 2009). Apesar da sua expansão global em ambos os hemisférios, *M. cephalus* tem uma distribuição

descontínua e foi introduzida com sucesso em áreas onde não ocorre naturalmente (Whitehead *et al.*, 1986 *in* Whitfield *et al.*, 2012).

Existem evidências crescentes de que *M. cephalus* pode representar um complexo de espécies, e há uma possibilidade de que pelo menos 14 espécies *Mugil* façam parte desse complexo (Corti e Crosetti, 1996; Durand *et al.*, 2012; Shen *et al.*, 2011; Whitfield *et al.*, 2012). Assim, e aliado à sua ampla distribuição e a características morfológicas semelhantes e intimamente relacionadas com outros mugilídeos, não é surpreendente que a taxonomia desta espécie seja confundida com espécies como a *Mugil liza* do Atlântico Ocidental (Corti e Crosetti, 1996; Menezes *et al.*, 2010).

Atualmente a classificação taxonômica da *M. cephalus*, de acordo com o Sistema Integrado de Informação Taxonômica (ITIS), é a seguinte:

Reino: Animalia
Filo: Chordata
SubFilo: Vertebrata
Classe: Actinopterygii
Ordem: Mugiliformes
Família: Mugilidae
Gênero: Mugil
Espécie: <i>Mugil cephalus</i> (Linnaeus, 1758)

3.3. Caracterização morfológica

M. cephalus (Fig. 3.1) é um peixe robusto, com uma cabeça larga e achatada dorsalmente, possui uma pálpebra adiposa macia e transparente bem desenvolvida que cobre a maior parte do olho. Na verdade, este tecido adiposo do olho parece ser mais desenvolvido em *M. cephalus* do que em qualquer das outras espécies de mugilídeos (FAO, 2012b; Gautier e Hussenot, 2005; Whitfield *et al.*, 2012). *M. cephalus* é a maior das tainhas, podendo atingir um comprimento total até aos 120 cm (Gautier e Hussenot, 2005; Saleh, 2008). Esta é caracterizada por uma cor cinzento chumbo no dorso, e os lados com um sombreado de prateado a branco, sendo por vezes visível uma cor azul na base das barbatanas (Gautier e Hussenot, 2005; Whitfield *et al.*, 2012). Possuem duas barbatanas

dorsais curtas e claramente separadas, barbatanas pélvicas inseridas muito atrás do peito, e as barbatanas peitorais não alcançam a primeira barbatana dorsal. Apresenta uma boca transversal pequena com lábios finos e dentes labiais minúsculos, retos, densos e em forma de seta na mandíbula superior (FAO, 2012b; Gautier e Hussenot, 2005; Saleh, 2008; Trape et al., 2009).



Figura 3.1 – Exemplar de *Mugil cephalus* (foto do autor).

3.4. Distribuição geográfica e habitat

M.cephalus é a única espécie cosmopolita dentro da família Mugilidae (Corti e Crosetti, 1996), ocorrendo em águas costeiras tropicais, subtropicais e temperadas de todos os oceanos do mundo, principalmente entre as latitudes 42° N a 42° S (Fig. 3.2), onde a temperatura média é superior a 18°C no Verão (Fazio et al., 2013b; Gautier e Hussenot, 2005; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; Saleh, 2008; Wang et al., 2010,2011; Whitfield et al., 2012). Esta espécie ocupa uma grande variedade de ambientes (marinho, estuarino e de água doce), e acredita-se que seja uma espécie catádroma, uma vez que faz migração na altura da reprodução, de águas salobras costeiras para águas do largo com salinidades elevadas ocorrendo a desova em mar aberto (Chang et al., 2004; FAO, 2012b; Fazio et al., 2013b; Koutrakis, 2011; Saleh, 2008; Whitfield et al., 2012). Com este padrão de distribuição e comportamento migratório, *M. cephalus* é uma espécie fortemente eurihalina e euritérmica para além de ser capaz de viver em águas de diferentes níveis de turbidez e poder sobreviver em águas com uma ampla gama de níveis de oxigénio dissolvido (Aoki et al., 2011; Biswas et al., 2012; Fazio et al., 2013b; Greeley et al., 1987; Koutrakis, 2011; Wang et al., 2011; Whitfield et al., 2012; Yelghi et al., 2012).

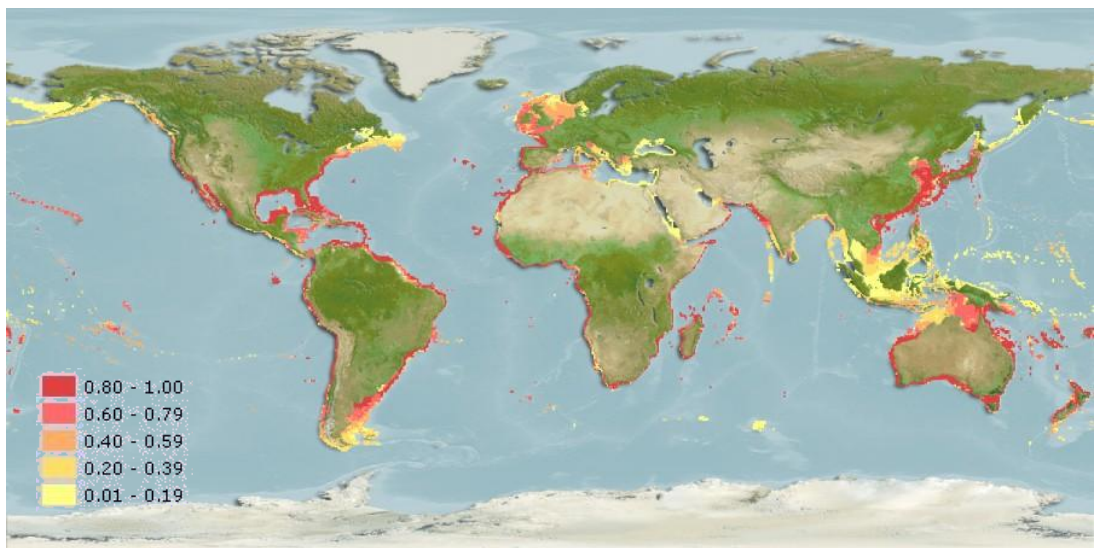


Figura 3.2 – Distribuição geográfica global da tainha *Mugil cephalus*, apresentando as probabilidades relativas de ocorrência (fonte: www.aquamaps.org).

M. cephalus tem um hábito alimentar diurno, consumindo principalmente zooplâncton, organismos bentônicos e detritos (Aoki et al., 2011; Bichy, 2000; Biswas et al., 2012; FAO, 2012b; Fazio et al., 2012, 2013b; Saleh, 2008). O sistema digestivo está adaptado a uma alimentação essencialmente herbívora possuindo estômago do tipo moela, segmentado, com paredes espessas e um longo aparelho gastrointestinal, o que lhe permite aumentar a eficiência na alimentação de organismos associados ao sedimento, removendo os detritos e microalgas tornando-se assim um importante elo ecológico no fluxo de energia da cadeia alimentar (FAO, 2012a; Waltham et al., 2013).

3.5. Reprodução

Esta espécie sofre um período sexualmente indiferenciado de mais de um ano após a eclosão (Aoki et al., 2011) e, segundo Greeley et al., 1987 e McDonough et al., 2003 tem um ciclo reprodutivo por ano com duração de 2 a 5 meses, dependendo da localização. Embora tenha sido sugerido que *M. cephalus* possa apresentar hermafroditismo protândrico (Stenger, 1959 in Whitfield et al., 2012), estudos mais recentes têm mostrado que esta espécie é gonocórica, mas capaz de exibir características hermafroditas não funcionais em gónadas maduras diferenciadas (Aoki et al., 2011; Greeley et al., 1987; McDonough et al., 2005).

Na maioria dos peixes teleósteos, o desenvolvimento do ovário é classificado como síncrono ou assíncrono, de acordo com o padrão de crescimento dos oócitos nos ovários, em qualquer altura (Tyler e Sumpter, 1996). A desova da tainha *M. cephalus* é considerada desova isócrona, ou seja, têm o desenvolvimento síncrono dos gâmetas, onde geralmente há dois grupos de desenvolvimento de oócitos no ovário de uma só vez – um grupo de oócitos primários, e um outro grupo de oócitos maiores, que dão origem posteriormente ao lote de oócitos que serão libertados, e os indivíduos desovam todo o seu material reprodutivo de uma só vez durante o período anual da desova (Greeley et al., 1987; McDonough et al., 2003; Tyler e Sumpter, 1996). Devido a esta característica é possível estimar a fecundidade potencial anual. Esta está fortemente relacionada com o comprimento total dos indivíduos, ou seja, indivíduos com um maior comprimento têm maiores valores de fecundidade. Os valores de fecundidade de *M. cephalus* são relativamente elevados estando compreendidos entre $2,60 \times 10^5$ e $4,20 \times 10^6$ oócitos por fêmea com comprimento total que varia de 23,5 a 60,0 cm (Bichy, 2000; Greeley et al., 1987; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; McDonough et al., 2003; Nash e Shehadeh, 1980). A desova da tainha ocorre após a migração dos indivíduos adultos do estuário para o mar embora algumas populações nunca cheguem a entrar num estuário, passando todo o seu ciclo de vida no mar (Bartulović et al., 2011; Chang et al., 2004; Koutrakis, 2011; Whitfield et al., 2012).

O ciclo anual de desenvolvimento ovariano e a determinação da atividade de desova da tainha foi anteriormente estimada através das alterações no índice gonadossomático (Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; McDonough et al., 2003, 2005) e da análise dos diferentes tamanhos dos oócitos e do estado de maturação (Bichy, 2000; Greeley et al., 1987; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; McDonough et al., 2003; Tamaru et al., 1991; Yelghi et al., 2012). Assim, é possível dividir o processo de oogénese da tainha em quatro fases principais de desenvolvimento dos oócitos. A primeira fase é chamada de “pré-vitelogénese”, onde na sua maioria os oócitos apresentam um tamanho pequeno, com diâmetros $<0,21$ mm. Estes oócitos constituem o reservatório de oócitos e estão presentes nos ovários durante todo o ano quer em ovários maduros quer em imaturos. A “vitelogénese” começa em oócitos entre 0,21 e 0,50 mm de diâmetro, e é a segunda fase do desenvolvimento. A terceira fase denominada “pré-desova” abrange oócitos com diâmetros entre 0,50 e 0,80 mm. A última fase do desenvolvimento dos oócitos é chamada como

“desova”, com oócitos a atingir uma dimensão máxima de cerca de 0,90 mm (Bichy, 2000; Greeley et al., 1987; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; Nash e Shehadeh, 1980; Yelghi et al., 2012). Está ainda descrito um processo denominado “atresia”, onde ocorre degeneração dos oócitos, que pode dar-se em qualquer fase de desenvolvimento (Bichy, 2000; Nash e Shehadeh, 1980; Tyler e Sumpter, 1996).

A temperatura parece ser um fator determinante na vitelogénese e no período de desova (Ibáñez e Gutiérrez Benítez, 2004; Koutrakis, 2011; Nash e Shehadeh, 1980; Yelghi et al., 2012), o que significa que existem diferentes períodos de desova em toda a área de distribuição desta espécie, tendo sido registadas maior ocorrência de desovas em águas com uma temperatura entre os 20° e os 26°C. Isto significa que *M. cephalus* é uma espécie flexível relativamente à estação de desova, dependendo da sua localização geográfica. Por exemplo, nas regiões temperadas mais frias da Europa tende a ter um período de desova no Verão, enquanto nas regiões subtropicais a desova atinge um pico durante o Inverno (Tabela 3.1) (Gautier e Hussenot, 2005; Ibáñez e Gutiérrez Benítez, 2004; Whitfield et al., 2012).

Os *blooms* de produção primária são de importância crítica e um componente essencial do ecossistema, uma vez que serve de alimento a larvas de muitas espécies de peixes, incluindo a tainha *M. cephalus*, garantindo a sua sobrevivência e crescimento (Bekova et al., 2013; Desaunay e Guerault, 1997; Harel et al., 1998 in Whitfield et al., 2012; Yapa, 2000). Assim, as diferentes épocas de desova de *M. cephalus* representadas anteriormente (Tabela 3.1) parecem corresponder aos locais onde estão disponíveis as condições ideais para a incubação de ovos, crescimento e sobrevivência das larvas e juvenis, como por exemplo a disponibilidade de alimento com a ocorrência de *blooms* de produção primária nos diferentes locais. Por exemplo no Mar Negro, o *bloom* de fitoplâncton atinge valores máximos no Verão (Jul-Ago), principalmente quando há ocorrência de invernos tempestuosos; na região do Sri Lanka e Índia as concentrações de produção primária são altas ao longo do ano, no entanto nos meses de Outubro a Dezembro há um aumento acentuado da produção; o mesmo se verifica para os países do Mediterrâneo, onde a abundância de fitoplâncton atinge valores máximos durante o período de Verão (Julho a Outubro) (Daskalov e Prodanov, 1998; Nash e Shehadeh, 1980; Psarra et al., 2000; Yapa, 2000).

Tabela 3.1 – Épocas de desova (a negrito e delimitado a preto) de *Mugil cephalus* de várias partes do mundo. (Números representam as temperaturas médias mensais da água do mar em graus Celsius para cada região). (fonte: Adaptado de Ameer et al., 2003; Ibáñez e Gutiérrez Benítez, 2004; Koutrakis, 2004; McDonough et al., 2005; Whitfield et al., 2012).

Região	Períodos de desova											
	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M
Mar Negro	20	23	24	20	16	12	8	6	5	6	9	15
Turquia (Mediterrâneo)	24	26	28	26	24	20	18	17	16	16	18	20
Egipto (Mediterrâneo)	24	26	27	26	25	22	20	18	17	17	18	20
Grécia (Mediterrâneo)	22	25	26	24	22	19	17	15	15	15	16	19
Tunísia (Mediterrâneo)	21	24	26	25	22	19	16	15	14	15	16	18
Marrocos (Oceano Atlântico)	21	23	23	23	21	20	18	17	17	17	17	19
Mar Adriático	22	25	26	22	19	16	14	12	11	11	13	18
EUA (Oceano Atlântico)	26	28	28	26	24	23	22	20	19	20	21	24
	26	28	28	27	25	23	22	20	20	20	20	24
México (Golfo do México)	28	28	29	28	26	23	21	20	19	19	22	25
Índia (Oceano Índico)	29	28	28	29	29	28	27	27	27	29	30	30
Mauritânia (Oceano Atlântico)	23	26	27	28	27	25	22	20	19	19	19	20
Sri Lanka (Oceano Índico)	29	28	28	28	28	28	28	27	28	29	30	30
Austrália (Oceano Pacífico)	22	21	21	22	22	24	25	26	26	26	25	24
África do Sul (Oceano Índico)	22	22	21	21	22	23	24	26	26	26	25	24

3.6. Parâmetros sanguíneos

As primeiras mudanças nos peixes, em resposta a fatores ambientais e biológicos como o *stress*, poluentes, nutrição, bem como condições ecológicas e fisiológicas, ocorrem ao nível da composição sanguínea. Assim, a análise dos parâmetros hematológicos, em organismos aquáticos, como a tainha *M. cephalus*, têm sido amplamente utilizados como indicadores na medição das condições de saúde e sintomas toxicológicos, podendo também indicar condições ambientais anormais, demonstrando que o ambiente onde habitam pode exercer uma determinada influência sobre as características hematológicas (Faggio et al., 2013; Fazio et al., 2012, 2013a; Rey Vázquez e Guerrero, 2007; Satheeshkumar et al., 2012a, 2012b).

Estudos hematológicos ajudam a compreender a relação entre as características do sangue, tornando-se assim uma ferramenta importante que pode ser utilizada para avaliar o estado fisiológico dos peixes, como índices de eficácia e sensibilidade para monitorizar mudanças fisiológicas e patológicas, e a capacidade de adaptação das espécies ao meio ambiente (Faggio et al., 2013; Fazio et al., 2012, 2013a; Rey Vázquez e Guerrero, 2007; Satheeshkumar et al., 2012a, 2012b).

A padronização dos parâmetros hematológicos é difícil em peixes, uma vez que podem ser influenciados por uma dieta ineficiente, doenças e situações de *stress* ambiental. No entanto, a análise destes parâmetros pode melhorar o diagnóstico do estado de saúde dos peixes (Satheeshkumar et al., 2012a; Tavares-Dias et al., 2002). Os valores corpusculares médios estão relacionados com o volume médio dos eritrócitos e com a quantidade de hemoglobina nos eritrócitos, sendo os três tipos MCV, MCH e MCHC, que medem o volume, peso e a concentração de hemoglobina respetivamente (Faggio et al., 2014). Por sua vez o hematócrito (Hct) proporciona uma medida da proporção de células sanguíneas vermelhas (eritrócitos) no sangue total, bem como uma estimativa da capacidade de transporte de oxigénio no sangue (Ziskowski et al., 2008). Assim, a medida de parâmetros sanguíneos como RBC, Hct, Hgb, MCV, MCH e MCHC é útil, uma vez que mudanças na composição do sangue podem ser induzidas por doenças, manuseamento dos indivíduos, *stress* (Averbeck, 1992; Cnaani et al., 2004; Svobodová et al., 2008).

Atualmente há um interesse crescente no estudo de parâmetros hematológicos e características estruturais de células sanguíneas de peixes considerados importantes para fins de aquacultura, uma vez que fornecem um índice confiável da sua condição fisiológica (Faggio et al., 2013; Rey Vázquez e Guerrero, 2007; Satheeshkumar et al., 2012a). A análise dos índices hematológicos está a tornar-se um guia valioso para avaliação da saúde dos peixes, mas também para o fornecimento de informações adicionais sobre o seu sistema imunológico (Faggio et al., 2013; Fazio et al., 2012).

4. Materiais e Métodos

4.1. Manutenção dos Reprodutores

O *stock* de tainha, foi obtido a partir da pesca no reservatório das instalações da Estação Piloto de Piscicultura de Olhão (EPPO) em 2009, sendo composto na altura por 15 indivíduos, 4 fêmeas e 11 com sexo indeterminado. Os peixes foram aclimatados e mantidos de 2009 a Julho de 2013 num tanque exterior com 10 m³ nas instalações do IPMA - EPPO.

No início deste trabalho a espécie e o sexo do *stock* foram identificados e os indivíduos marcados eletronicamente. O *stock* de reprodutores ficou assim composto por 15 indivíduos, 8 fêmeas e 7 com sexo indeterminado, dentro dos quais 13 da espécie pretendida, *Mugil cephalus* e 2, não utilizados neste trabalho experimental, da espécie *Liza ramada*. No decorrer do estudo (Julho 2013 – Agosto 2014) o *stock* foi mantido num tanque exterior com uma capacidade de 18 m³, fornecido com água salgada (salinidade média de ± 35) proveniente da Ria Formosa. Estes foram submetidos a condições naturais de luz e temperatura, tendo sido avaliado diariamente os valores de temperatura (°C) e oxigénio dissolvido (O₂d) (mgL⁻¹) (OxyGuard® Handy Mk III). Estes foram alimentados uma vez por dia (± 150 g) com ração (Skretting - Vitalis REPRO 9 mm).

4.2. Amostragens

Foram efetuadas amostragens mensais ao *stock* dos reprodutores entre Julho de 2013 e Agosto de 2014, nas quais foram registados os seguintes parâmetros biométricos: comprimento total (CT), comprimento de furca (CF) (cm), peso corporal (g) e calculado o índice de condição (Anexo I), bem como retiradas amostras de oócitos para a avaliação do desenvolvimento e maturação das gónadas. Além disso, para monitorizar o seu estado de saúde foi também verificada a presença de parasitas externos na pele dos indivíduos, e quando presentes identificada a espécie.

Entre Outubro de 2013 e Julho de 2014 foi recolhido mensalmente sangue a seis indivíduos para análise de diversos parâmetros hematológicos e determinação hormonal.

4.2.1. Avaliação do estado de maturação

O estado de desenvolvimento e maturação das gónadas das fêmeas de *M. cephalus*, foi seguido mensalmente, através da determinação do diâmetro dos oócitos, obtidos por cateterização utilizando cânulas de polietileno introduzidas no orifício sexual e sujeito a uma sucção ligeira, para se retirar uma quantidade suficiente de amostra sem a necessidade de sacrificar as fêmeas (Fig 4.1). Com auxílio da lupa Nikon SMZ1000, em cada amostra foram selecionados aleatoriamente trinta e cinco oócitos, tendo sido determinado o seu diâmetro, numa condição fresca, por medição e fotografia através do *software* de análise de imagem da máquina fotográfica Nikon DS-L3.



Figura 4.1 – Recolha de oócitos através da introdução de um cateter no oviduto de uma fêmea *Mugil cephalus*.

O estado de maturação dos oócitos foi determinado de acordo com as quatro fases de desenvolvimento dos oócitos (pré-vitelogénese, vitelogénese, pré-desova e desova) (ver 3.5 Reprodução).

4.3. Parâmetros hematológicos

Para a recolha de sangue, foi interrompida a alimentação, 24 horas antes, para que os indivíduos se encontrassem em jejum. Os peixes foram anestesiados antes da amostragem, utilizando 2-fenoxietanol (cerca de 100 ppm no tanque exterior, e 200 ppm nas tinas de amostragem).

Foram recolhidas amostras de sangue a seis indivíduos por punção da veia caudal, utilizando seringas estéreis de 1 ml Soft-Ject[®] previamente heparinizadas, e transferidas para *eppendorfs* mantidos em gelo, contendo heparina como agente anticoagulante, para evitar a coagulação (Fig. 4.2).

Após a recolha, retirou-se parte do sangue para avaliação de diversos parâmetros, que envolve a determinação da contagem de glóbulos vermelhos (RBC) e glóbulos brancos (WBC) através da realização de esfregaços, hematócrito (Hct), concentração de hemoglobina (Hgb) e para determinação hormonal através da recuperação do plasma.



Figura 4.2 – Recolha de sangue da tainha (*Mugil cephalus*) por punção da veia caudal e transferência para *Eppendorf*.

Os índices hematológicos volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MCH) e concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) foram calculados indiretamente através dos valores dos parâmetros acima de acordo com Faggio et al., 2013 (Anexo II).

Depois do processo de amostragem, os peixes foram devolvidos ao tanque para recuperação.

4.3.1. Realização do hematócrito

Para a realização do hematócrito, encheu-se $\frac{3}{4}$ de cada tubo capilar com sangue e tapou-se a extremidade com plasticina. De seguida colocou-se esses tubos, numa ordem conhecida, na centrífugadora eba-21 hettich, a 10000 rpm durante 5 minutos. Após decorrido esse tempo o valor de Hct foi determinado pela medição, com auxílio de uma régua, do comprimento total do Hct e do comprimento da zona com os glóbulos vermelhos (Anexo III).

4.3.2. Esfregaço de sangue

Colocou-se uma gota de sangue no canto da extremidade de uma lâmina, de seguida apoiou-se, na extremidade que continha a gota, uma segunda lâmina com uma ligeira inclinação, espalhando e empurrando o sangue, com um movimento uniforme, sobre a

lâmina. Após secas as lâminas, procedeu-se ao processo de fixação, que consiste na introdução das lâminas num recipiente com álcool etílico absoluto durante 3 a 5 minutos. Deixou-se secar e efetuou-se a coloração das lâminas com corante Wright's Eosin (MerckTM).

As lâminas foram examinadas num microscópio Nikon eclipse Ci e fotografadas numa Nikon DS-L3, sob óleo de imersão a uma ampliação de 100x. Para cada lâmina foram selecionados cinco campos aleatórios, e as células sanguíneas foram contabilizadas e identificadas entre eritrócitos (E), linfócitos (L), monócitos (L), trombócitos (T) e granulócitos (G), tendo sido estes diferenciados, quando possível, em neutrófilos (N), eosinófilos (e) e basófilos (B).

4.3.3. Determinação quantitativa de hemoglobina

A concentração de hemoglobina (Hgb) foi determinada através do método de Drabkin. Este método consiste numa solução de trabalho, composta por água destilada e o reagente de Drabkin, na qual a Hgb reage, formando um composto – a cianometahemoglobina – sendo posteriormente determinada num leitor de microplacas (Thermo ScientificTM MultiskanTM GO) a 540 nm contra o branco que apenas contém 2,5 ml da solução de trabalho.

Antes da leitura da absorvância, as amostras de Hgb foram centrifugadas para remover o material nuclear disperso, e incubadas durante 3 minutos à temperatura ambiente.

4.4. Análise Estatística

Os resultados obtidos neste trabalho foram expressos por média aritmética simples acompanhados da respetiva variação do desvio padrão para todos os parâmetros analisados. Para o perfil de tamanhos dos oócitos também foi analisado uma distribuição de frequências (histograma). Todos as médias e respetivos desvios padrão, gráficos e tabelas foram efetuados com auxílio do *Microsoft office Excel*[®] para o Windows[®].

Os resultados dos parâmetros hematológicos foram analisados através de análise de variância (one-way ANOVA), sempre que os pressupostos eram cumpridos. Quando pela ANOVA, se verificou diferenças significativas, foi realizado o teste de Tukey-HSD para

identificar e comparar as diferenças entre os meses de amostragem. A significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$, e esta análise foi realizada com auxílio do programa informático Statistica[®] 8.0 para o Windows[®].

5. Resultados

5.1. Parâmetros Físico-Químicos e Biométricos

A Tabela 5.1 mostra a média mensal da temperatura e do oxigênio dissolvido no tanque exterior nas instalações da EPPO onde se encontravam os exemplares de tainha. A temperatura média da água no tanque variou entre 13,7 e 25,1°C e o oxigênio dissolvido entre 5,0 a 8,0 mg/l.

Tabela 5.1– Valores médios \pm desvio padrão dos fatores físico-químicos da água no tanque exterior da EPPO ao longo dos meses de estudo.

	Meses	Temperatura (°C)	O ₂ dissolvido (mg/l)
2013	Ago	25,1 \pm 0,7	5,6 \pm 0,6
	Set	24,1 \pm 0,9	5,0 \pm 0,4
	Out	21,1 \pm 1,1	5,6 \pm 1,0
	Nov	15,4 \pm 2,1	6,9 \pm 0,9
	Dez	13,7 \pm 1,1	8,0 \pm 1,0
2014	Jan	13,8 \pm 2,5	7,3 \pm 0,7
	Fev	13,9 \pm 0,4	6,7 \pm 0,7
	Mar	15,7 \pm 0,8	6,8 \pm 0,7
	Abr	18,2 \pm 1,4	6,4 \pm 0,3
	Mai	20,8 \pm 1,4	6,7 \pm 0,7
	Jun	20,8 \pm 4,0	6,0 \pm 0,4
	Jul	23,2 \pm 0,9	6,0 \pm 0,5
	Ago	22,9 \pm 0,9	6,0 \pm 0,4

No decorrer das amostragens, foi verificada a presença do parasita externo *Caligus sp.* (Fig. 5.1) em diversas fases de desenvolvimento nos meses de Janeiro, Fevereiro, Março, Abril, Maio, Junho e Julho 2014.

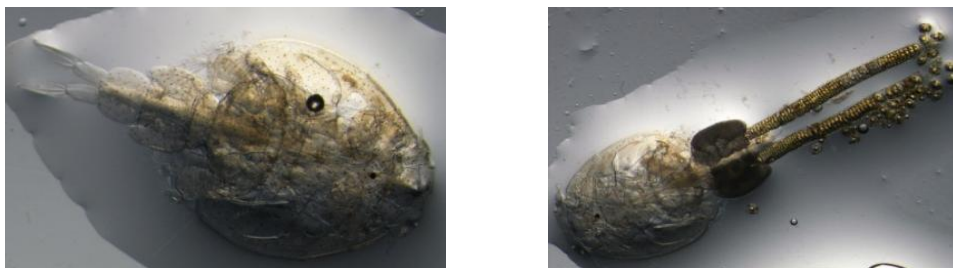


Figura 5.1 – Exemplares do parasita externo *Caligus sp.* (Foto do autor).

A Tabela 5.2 indica os parâmetros biométricos determinados nos 13 indivíduos *M. cephalus* ao longo deste estudo. As médias do comprimento das fêmeas foi de 56,38 cm \pm 5,63, do peso total de 1815,09 g \pm 528,36 e do índice de condição de 0,99 \pm 0,12.

Tabela 5.2 – Valores médios \pm desvio padrão do peso, comprimento total e índice de condição dos exemplares de *Mugil cephalus* ao longo do período de estudo.

Parâmetros Biométricos				
	Meses	Peso (g)	CT (cm)	IC
2013	Jul	1740,56 \pm 456,27	56,52 \pm 4,55	0,95 \pm 0,13
	Ago	1714,07 \pm 467,62	55,79 \pm 5,30	0,97 \pm 0,14
	Set	1811,33 \pm 529,45	56,38 \pm 6,50	0,99 \pm 0,12
	Out	1739,33 \pm 509,42	56,37 \pm 5,64	0,95 \pm 0,08
	Nov	1771,80 \pm 518,31	56,55 \pm 6,02	0,96 \pm 0,12
	Dez	1738,13 \pm 496,47	56,37 \pm 5,76	0,95 \pm 0,10
	2014	Jan	1754,73 \pm 496,33	56,90 \pm 6,47
Fev		1804,00 \pm 516,77	56,39 \pm 5,36	0,98 \pm 0,10
Mar		1864,20 \pm 534,94	56,38 \pm 5,67	1,02 \pm 0,17
Abr		1947,60 \pm 589,98	56,81 \pm 5,60	1,03 \pm 0,14
Mai		1880,93 \pm 551,14	57,12 \pm 5,59	0,98 \pm 0,09
Jun		1891,27 \pm 558,33	57,57 \pm 5,40	0,96 \pm 0,08
Jul		1807,00 \pm 618,28	57,23 \pm 5,58	0,94 \pm 0,17
Ago		1946,33 \pm 553,69	53,01 \pm 5,32	1,02 \pm 0,14

Na Figura 5.2 está representada a relação entre o diâmetro dos oócitos e o índice de condição (IC) dos exemplares de *Mugil cephalus*. Os valores máximos de IC foram encontrados Agosto-Setembro 2013, Março, Abril e Agosto 2014. Os valores máximos de IC foram encontrados Agosto-Setembro 2013, Março, Abril e Agosto 2014, acompanhados por decréscimo no diâmetro dos oócitos. De uma maneira geral, nos meses amostrados, o IC variou de forma inversa.

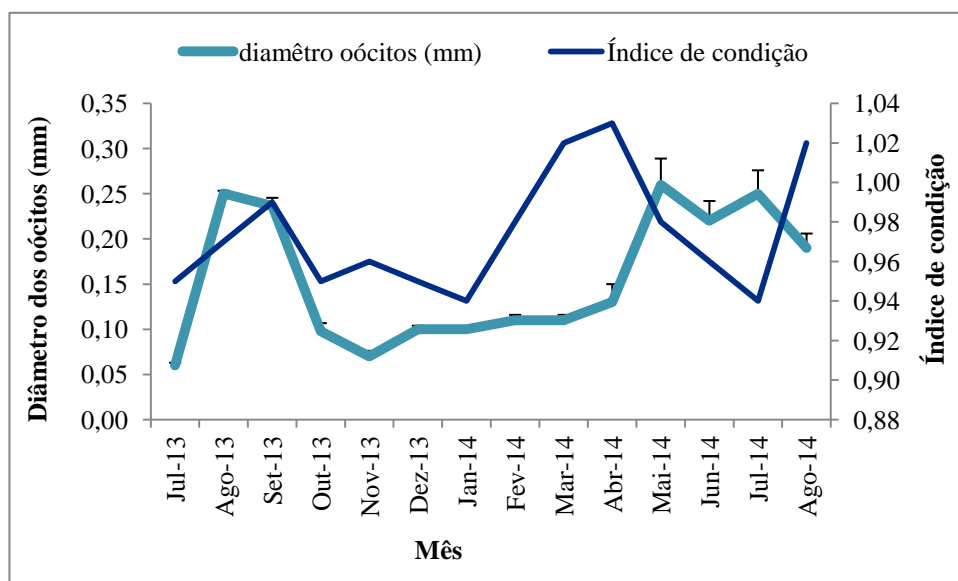


Figura 5.2 – Relação mensal entre o diâmetro dos oócitos (mm) das fêmeas de *Mugil cephalus* e o respetivo índice de condição (IC).

5.2. Avaliação do Estado de Maturação

O diâmetro dos oócitos variou entre 0,05 e 0,75 mm (Fig. 5.3) e o seu valor médio foi de $0,16 \pm 0,009$ mm. Os maiores diâmetros de oócitos foram registados em Agosto e Setembro 2013 e de Maio a Julho 2014. De Outubro 2013 a Março 2014, o tamanho dos oócitos não apresentou alterações significativas, estando apenas presentes a fase do "pré-vitelogénese" ($<0,21$) (Fig. 5.4). É possível observar que existe uma relação entre a variação térmica e o diâmetro dos oócitos das fêmeas, e consequentemente a maturação das gónadas das mesmas, como se pode verificar pela análise da Fig. 5.3 e 5.4.

O aumento do diâmetro médio dos oócitos vitelogénicos ocorreu em Abril 2014, e até no final do mês de Abril algumas fêmeas já se encontravam num estado de vitelogénese tardia e início de maturação dos oócitos. A partir de Maio 2014 as fêmeas já se encontravam prontas para a desova. A Agosto e Setembro 2013 é possível observar um diâmetro médio dos oócitos idêntico aos meses de desova (Maio a Julho 2014) (Fig. 5.3 e 5.4), no entanto apenas foram recolhidos oócitos na fase de desenvolvimento gonadal II e uma pequena percentagem na fase III, o que parece indicar o início da fase de regressão.

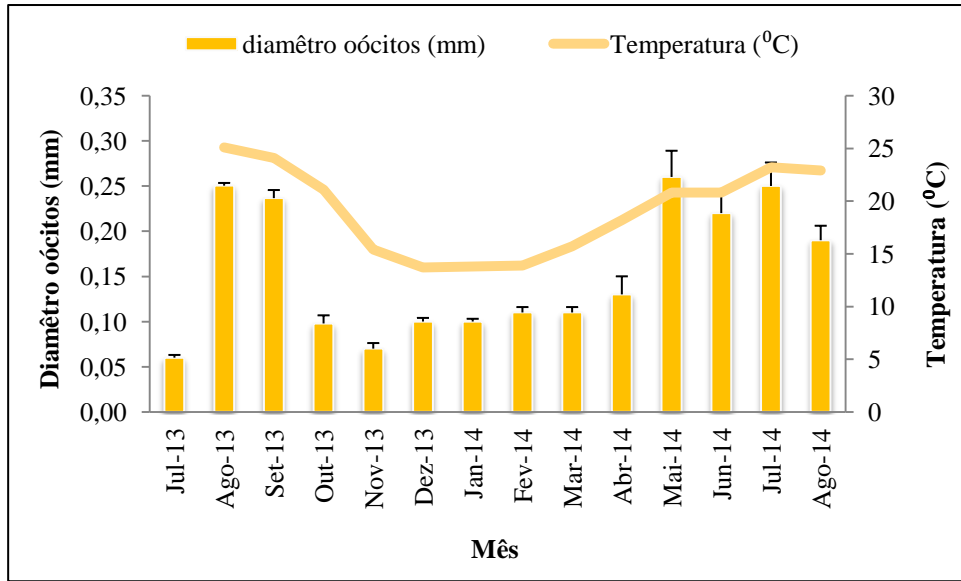


Figura 5.3 – Temperatura média da água do tanque exterior da EPPO, no período de um ano. Alterações no tamanho dos oócitos (diâmetro em mm) de *Mugil cephalus* durante um ano.

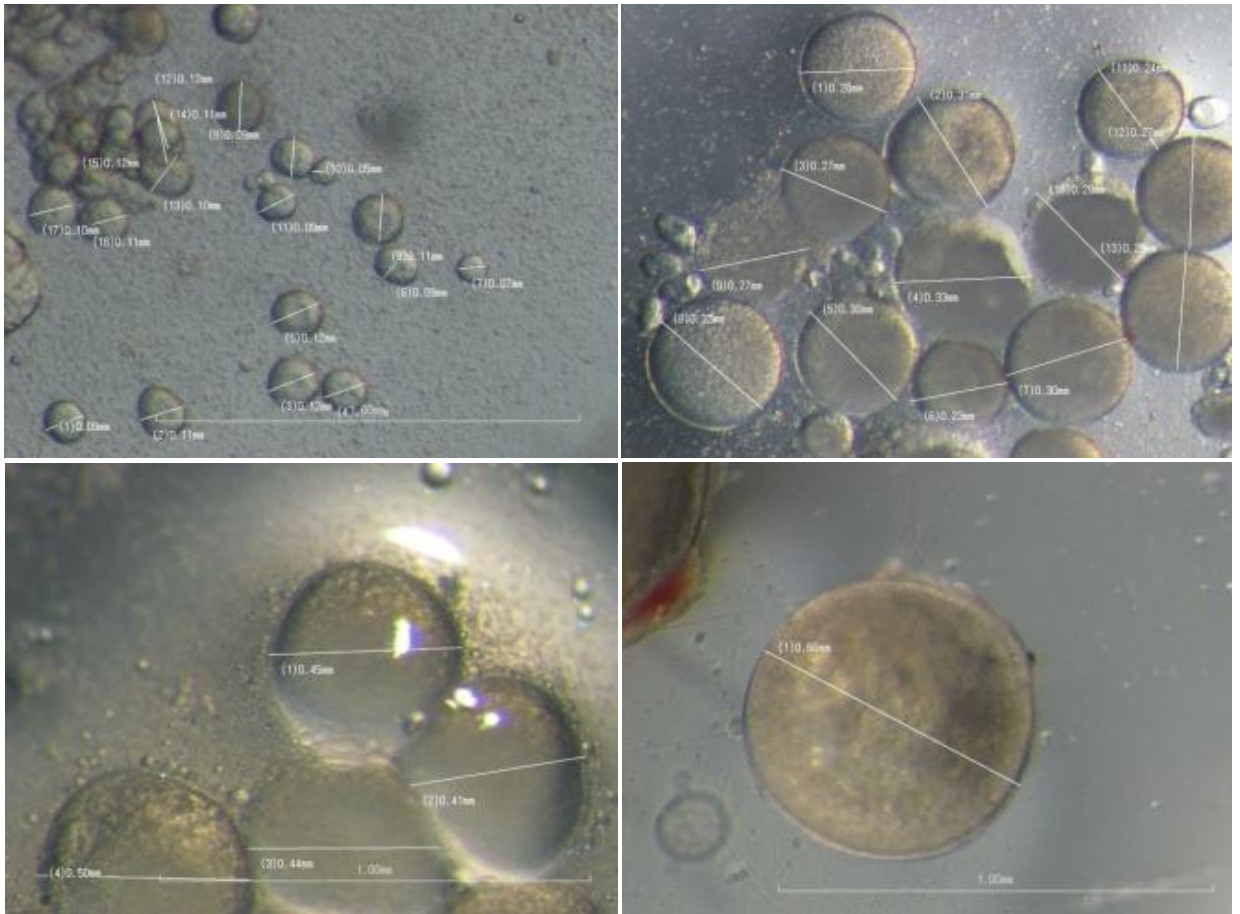
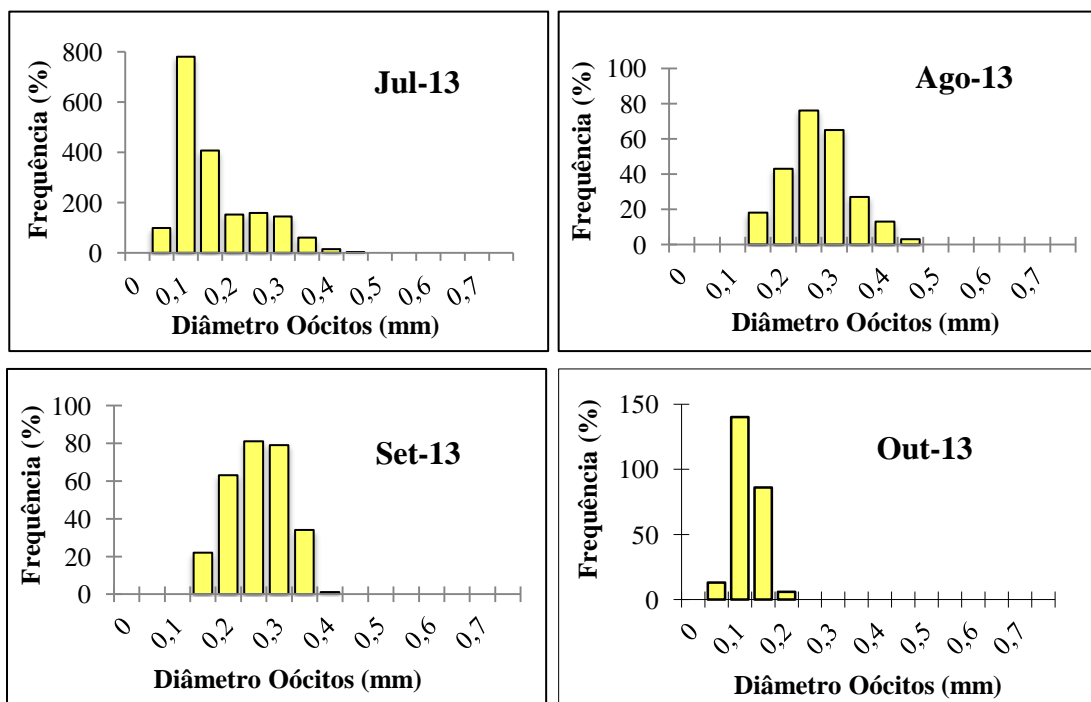
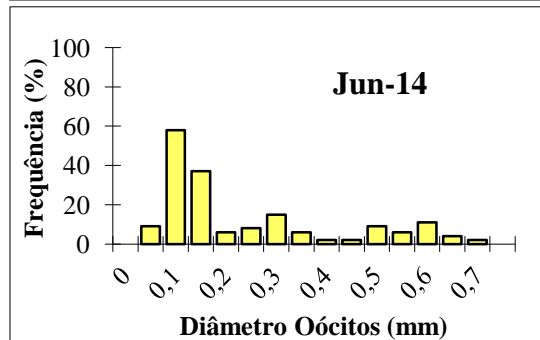
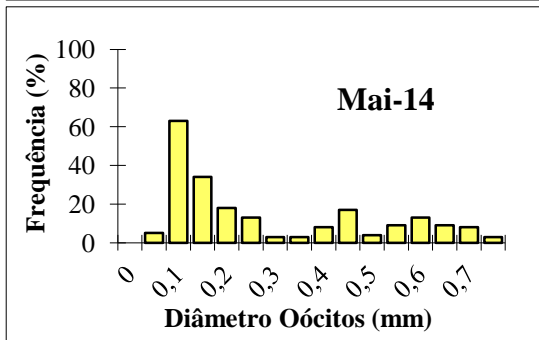
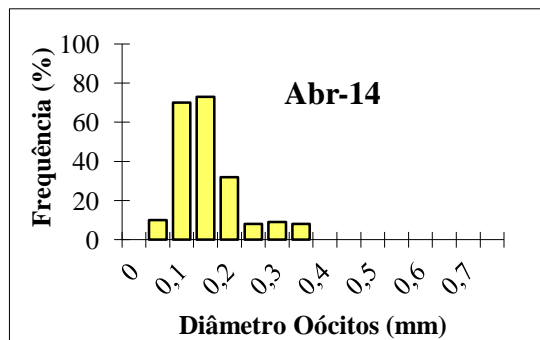
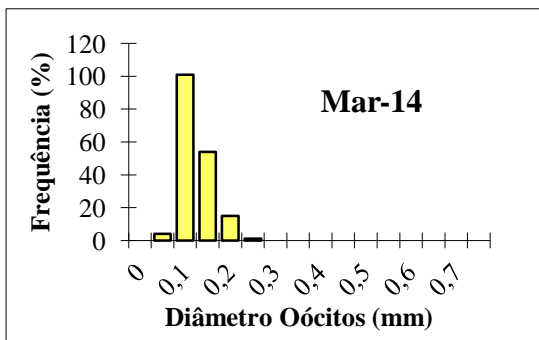
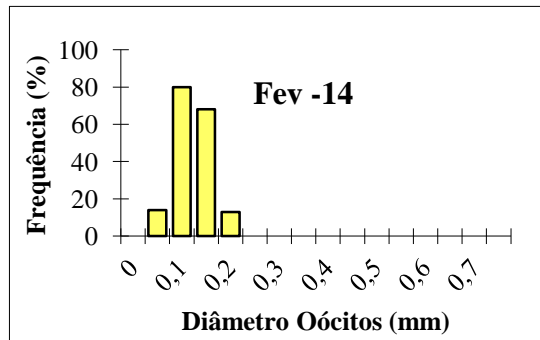
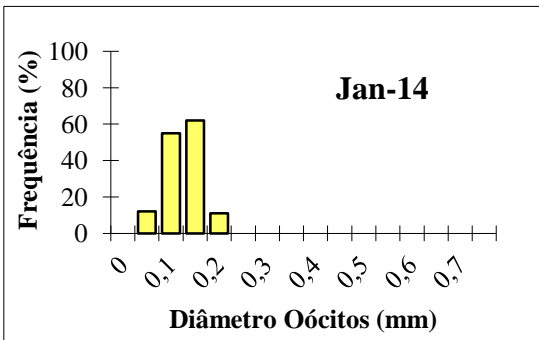
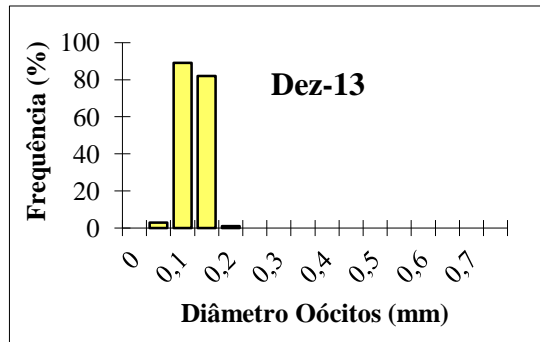
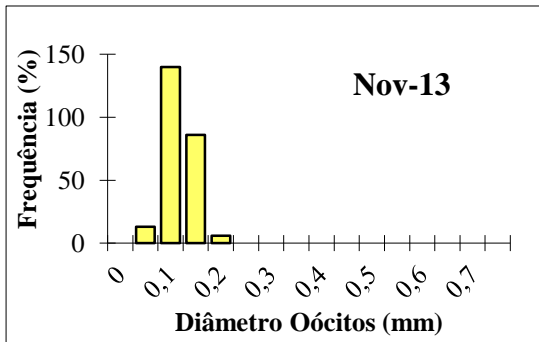


Figura 5.4 – Exemplares de oócitos de diferentes tamanhos de *Mugil cephalus*.

Uma distribuição de frequência do tamanho dos oócitos de *M. cephalus* está apresentada na Fig. 5.5, de forma a evidenciar os estados de maturação gonadal ao longo de um ano, de acordo com a escala desenvolvida de acordo por Greeley et al., 1987, Ibáñez e Gallardo-Cabello, 2004; Nash e Shehadeh, 1980; Yelghi et al., 2012.

Nem sempre foi possível a recolha de oócitos de todas as fêmeas, sugerindo que estas não estavam maduras. A fase IV não está representada em nenhum dos meses analisados, uma vez que não houve indivíduos com oócitos a atingir esse estado de maturação. Foi possível encontrar grupos de oócitos na primeira fase de desenvolvimento em todos os meses. Com exceção dos meses de Agosto e Setembro 2013, verificou-se uma moda no diâmetro dos oócitos entre 0,05 e 0,20 mm. A partir de Abril 2014 um segundo grupo de oócitos maiores iniciou a fase II (vitelogenese) com oócitos a atingir diâmetros de 0,35 mm. Tornou-se visível em Maio, Junho e Julho 2014, uma segunda moda no diâmetro dos oócitos, variando estes entre 0,44 e 0,75 mm, sendo que para além da existência de oócitos na fase II, foi também atingida a fase III da maturação gonadal. A partir de Agosto, o grupo de oócitos que não sofreu maturação final iniciou um processo de regressão ou atresia (Fig. 5.5).





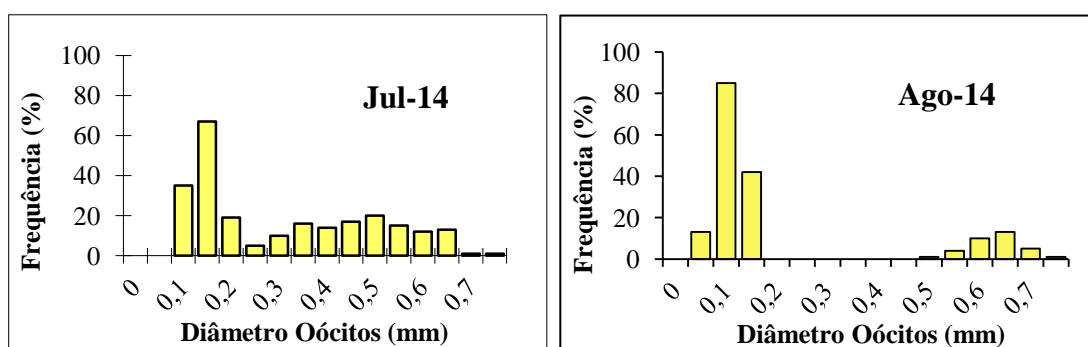


Figura 5.5 – Perfil de frequência de tamanhos correspondentes aos estados de maturação dos oócitos, usado para estimar a fecundidade de *Mugil cephalus* durante o período de um ano. Barras representam as frequências do diâmetro dos oócitos em intervalos de classe de 0,05 entre 0 e 1 mm.

5.3. Parâmetros Hematológicos

5.3.1. Morfologia Celular

As células sanguíneas foram identificadas e caracterizadas com auxílio de microscopia da seguinte forma: eritrócitos, leucócitos: trombócitos, linfócitos, monócitos e granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos, quando possível) (Fig. 5.6 (A-F)).

Os eritrócitos foram as células encontradas em maior número. Estas células eram caracterizadas por um núcleo central roxo, e plasma com uma tonalidade cinzento claro (Fig. 5.6A). Os trombócitos foram o segundo grupo de células mais identificadas representando cerca de 40% do número de leucócitos (Fig. 5.7), aparecendo em aglomerados de células ou apenas uma. Apresentavam uma forma redonda, oval ou alongada, um núcleo central roxo escuro, e o citoplasma quando visível apresentava uma cor clara (Fig. 5.6B). Os linfócitos foram o segundo tipo de leucócitos com maior representatividade, com cerca de 28% (Fig. 5.7). Estas eram geralmente pequenas células redondas, mas foi possível observar formas maiores. Estas células apresentavam uma forma redonda ou oval, com um núcleo grande, esférico e centrado, que ocupava a maior parte da célula, e o citoplasma, com uma tonalidade azul claro, limitado a uma pequena área em torno do núcleo (Fig. 5.6C). No que diz respeito aos monócitos, estes representaram cerca de 22% das células identificadas (Fig. 5.7). Estas apresentavam formas de redondo a irregulares, caracterizadas por um núcleo excêntrico redondo ou irregular, com citoplasma abundante. Estas células exibiam um núcleo com uma tonalidade

azul-violeta, e o citoplasma cinzento azulado (Fig. 5.6D). Dentro dos grupo dos granulócitos (Fig. 5.6E), os neutrófilos foram as células mais identificadas, com um núcleo excêntrico, roxo e em forma de rim e, o citoplasma com tonalidades cinzentas a azul claro, com pequenos grânulos redondos (Fig. 5.6F).

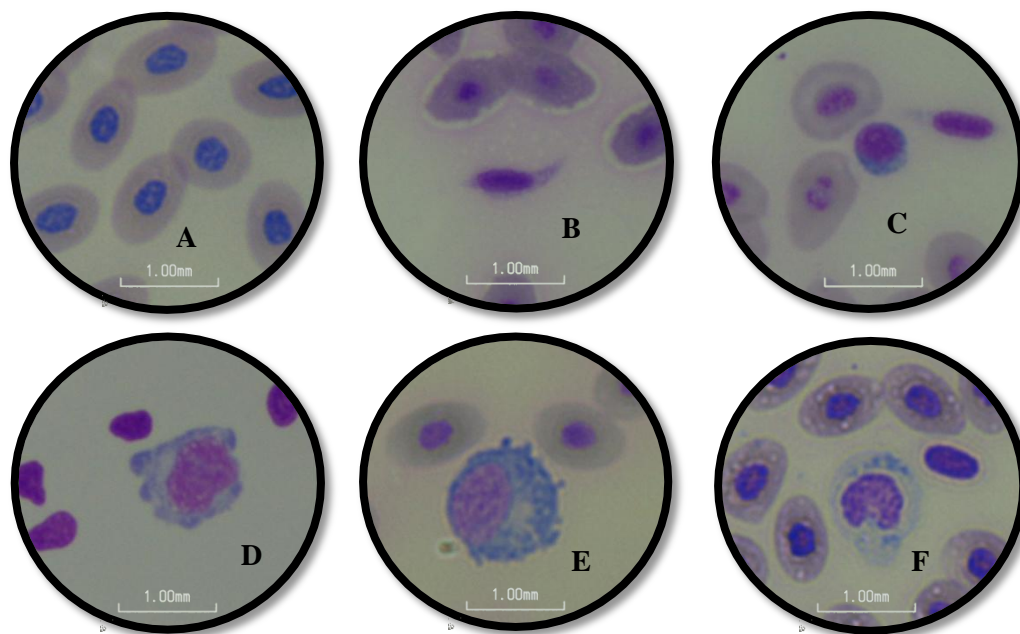


Figura 5.6 – Fotografias das células sanguíneas de *Mugil cephalus* coradas com Wright – Giemsa. (A) Eritrócitos (B) Trombócito; (C) Linfócito; (D) Monócito; (E) Granulócito; (F) Granulócito: Neutrófilo. Ampliação x100.

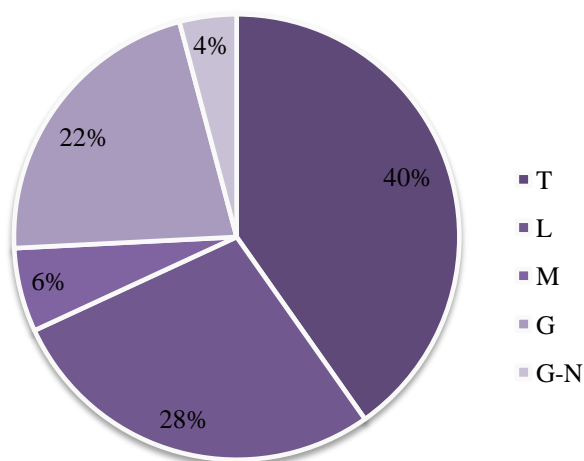


Figura 5.7 – Representação gráfica das percentagens das células sanguíneas identificadas no decorrer do período de estudo (Out-13 – Jul-14). (T: trombócito, L: Linfócito, M: Monócito, G: Granulócito, G-N: Granulócito neutrófilo).

5.3.2. Análise Hematológica

Os valores médios dos diferentes parâmetros avaliados na análise hematológica efetuada a partir do sangue das fêmeas de *Mugil cephalus* durante o período experimental estão apresentados na tabela 5.3.

Tabela 5.3 – Valores médios dos parâmetros sanguíneos avaliados em *Mugil cephalus*. (Hct: hematócrito, Hgb: hemoglobina, RBC: glóbulos vermelhos, MCHC: concentração de hemoglobina corpuscular média, MCH: hemoglobina corpuscular média, MCV: volume corpuscular médio).

Parâmetros	Média ± desvpad
Hct (%)	23,46 ± 1,75
Hgb (g/dl)	4,69 ± 0,76
RBC	1,30 ± 0,29
MCHC (g/dl)	21,26 ± 7,19
MCH (pg)	3,86 ± 1,26
MCV (fl)	181,37 ± 6,19

Análises ANOVA mostraram diferenças estatisticamente significativas em todos os parâmetros hematológicos analisados. Os RBC variaram entre $0,98 \pm 0,236$ e $1,82 \pm 0,417$. Foram verificadas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$), sendo Abril o mês com valor significativamente superior em relação a Dezembro, Janeiro, Fevereiro, Março e Julho, por sua vez Junho apresentou um valor significativamente inferior em relação aos meses de Dezembro e Julho. A concentração de hemoglobina (Hgb) variou de $3,06 \pm 0,460$ a $7,75 \pm 3,075$ g/dl e a maior concentração foi registrada no mês de Maio ($7,75 \pm 3,075$ g/dl). Este valor foi significativamente superior ($p < 0,05$) aos valores registrados nos meses de Outubro, Novembro, Dezembro, Junho e Julho. A menor concentração de Hgb foi observada para o mês de Julho ($3,06 \pm 0,460$) ($p < 0,05$) em relação às concentrações obtidas para os meses de Janeiro, Março e Maio (Fig. 5.8). A taxa de Hct apresentou valores percentuais de $16,85 \pm 3,81$ a $29,74 \pm 7,01$ %. O valor significativamente inferior ($p < 0,05$) foi encontrado no mês de Julho ($16,84 \pm 3,81$) e apresentou diferenças estatisticamente significativas em relação aos meses de Abril e Junho (Fig. 5.9).

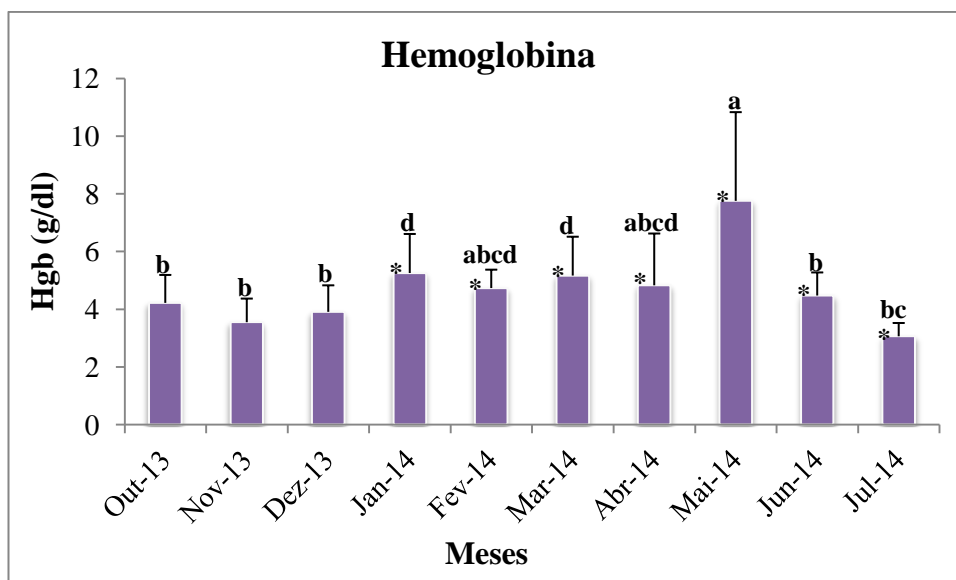


Figura 5.8 – Alterações da concentração de Hgb de *Mugil cephalus* durante o período de estudo (média \pm desviopadrão; g/dl). As letras (abcd) indicam as diferenças significativas entre os meses ($p < 0,05$). O asterisco indica ocorrência do parasita externo *Caligus sp.*.

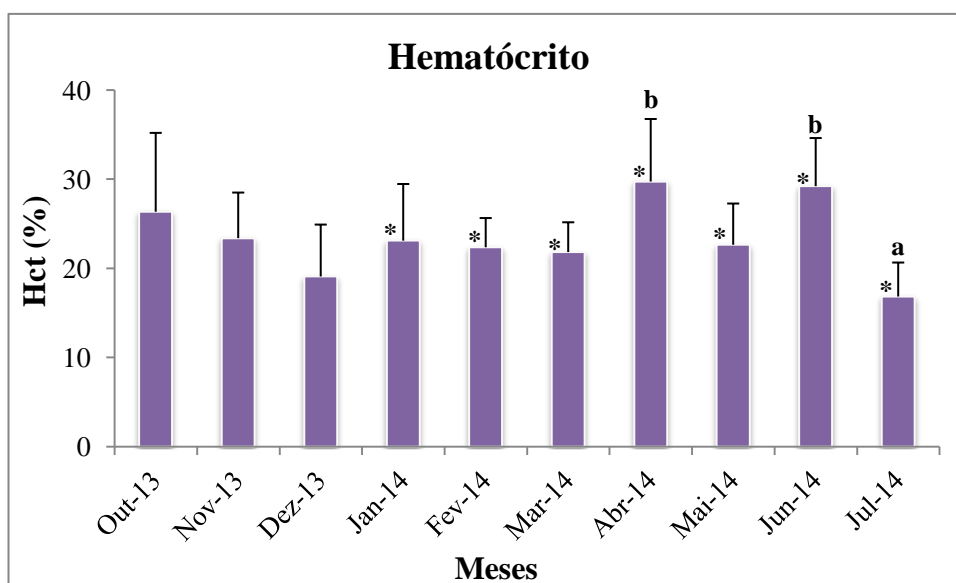


Figura 5.9 – Alterações dos valores de Hct de *Mugil cephalus* durante o período de estudo (média \pm desviopadrão; %). As letras (ab) indicam as diferenças significativas entre os meses ($p < 0,05$). O asterisco indica ocorrência do parasita externo *Caligus sp.*.

A concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) observada no presente trabalho variou de $15,93 \pm 4,62$ a $34,89 \pm 13,44$ g/dl, e a hemoglobina corpuscular média (MCH) entre $2,67 \pm 0,85$ e $6,18 \pm 2,39$ pg. Em ambos os parâmetros verificou-se

diferenças estatisticamente significativas, e o mês de Maio foi o mês que apresentou valores superiores em relação aos meses de Outubro, Novembro, Abril e Junho (Fig. 5.10).

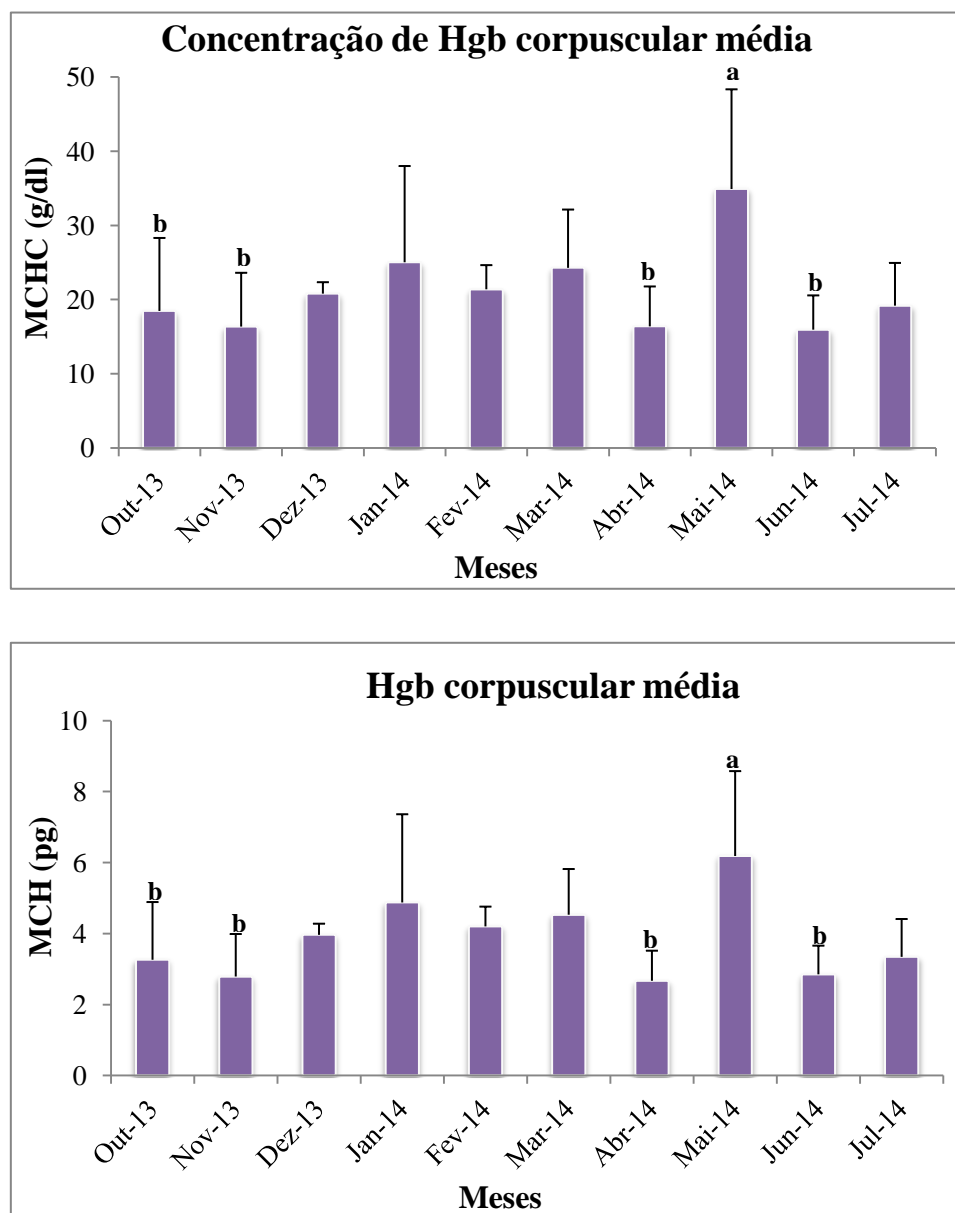


Figura 5.10 – Valores médios \pm desvio padrão da concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) (g/dl) e da hemoglobina corpuscular média (MCH) (pg) do perfil hematológico analisado para *Mugil cephalus*. As letras (ab) indicam as diferenças significativas entre os meses ($p < 0,05$).

6. Discussão

Os peixes estão intimamente associados com o ambiente aquático, e as alterações físicas e químicas das condições ecológicas desse habitat são rápidas e refletem mudanças fisiológicas mensuráveis nos peixes. Estas alterações incluem não só os parâmetros sanguíneos mas também a reprodução e o desenvolvimento das gónadas dos peixes (Fazio et al., 2012; Ferreira et al., 2011; Goel et al., 1984).

O tamanho da maturação sexual registado para *M. cephalus* é bastante variável, com as fêmeas a apresentarem um comprimento total entre 27-35 cm, sendo ligeiramente maiores do que os machos (25 – 30 cm de comprimento total - CT) (Ameur et al., 2003). Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que ocorre maturação das gónadas em exemplares com CT entre os 43,6 e os 67,3 cm. No entanto, nunca foi atingida 100% da maturação, uma vez que foi exibido um desenvolvimento síncrono dos oócitos, em que, pelo menos duas populações de oócitos com diferentes tamanhos foram distinguidas ao mesmo tempo durante o ciclo reprodutivo. No entanto, esta diferença no tamanho dos oócitos pode dever-se ao facto de estas não estarem no período de reprodução, ainda que se encontrassem sexualmente maduras. Contudo, os resultados relativamente à maturação sexual da tainha podem ser ambíguos. McDonough et al. (2005) definiram um CT de cerca de 29 cm para a primeira maturação de fêmeas de *M. cephalus*, mas 100% da maturação das gónadas apenas ocorre quando estas apresentam um CT médio de cerca de 40 cm. Anteriormente McDonough et al. (2003) referiram que cerca de 50% da maturação ocorre quando estas apresentam um CT entre 40,1 e 45 cm, e 100% com indivíduos com um CT superior a 50 cm..

Vários métodos têm vindo a ser utilizados para a determinação do período de reprodução da tainha (Greeley et al., 1987; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; Koutrakis, 2011; McDonough et al., 2003, 2005; Yelghi et al., 2012). Nos resultados obtidos neste estudo foi observado um rápido desenvolvimento dos oócitos coincidente com o aumento da temperatura da água (18,2 para 21° C), com a maturação dos oócitos a finalizar a terceira fase de desenvolvimento (vitelogénese) e a inicializar a fase IV (pré-desova). Este resultado está de acordo com Kuo et al. (1974) in Yelghi et al. (2012) e Trape et al., 2009 que referiram que a temperatura regula o desenvolvimento das gónadas e a vitelogénese, e parece controlar a atividade de desova da tainha.

O período durante o qual os oócitos crescem é limitado a quatro meses (Abril-Julho), quando passam de um tamanho de 0,35 – 0,45 mm para um tamanho de 0,50 – 0,75 mm, após concluído o crescimento dos oócitos vitelogénicos. Com base nestas evidências, a época de desova de *M. cephalus*, nas instalações da EPPO a sul de Portugal, ocorre de Maio a Julho (Primavera tardia e no Verão), quando a temperatura apresenta uma média de $\pm 21^{\circ}\text{C}$, estando em conformidade com Kuo et al. (1974) in Bichy, 2000 que sugerem que a tainha apresenta maior probabilidade de completar a oogénese a uma temperatura de 21°C . Segundo Bartulović et al. (2011), Greeley et al. (1987) e McDonough et al. (2003) *M. cephalus* tem um único ciclo reprodutivo por ano com duração de 2 a 5 meses, o que suporta os resultados obtidos neste trabalho experimental. É possível, porém, que uma desova limitada possa ocorrer durante o período de repouso/regressão (Solomon e Rammarine, 2007), como sugerido pelos menores tamanhos do oócitos registados nos meses de Julho 2013 e Agosto 2014, e pela presença de tamanhos de oócitos superiores em Agosto 2013 e Julho 2014. Estas diferenças podem ser devidas a pequenas variações inter- anuais, causadas por fatores ambientais, como as flutuações da temperatura da água, durante o ciclo reprodutivo.

Resultados semelhantes ao deste estudo relativamente à temperatura ótima da água para a desova da tainha, têm sido descritos por outros autores para esta espécie em diferentes locais. *M. cephalus* do Golfo do México, desova no Outono e Inverno, coincidindo com os meses com a temperatura ótima (19 e 26°C) para a reprodução desta espécie (Ditty e Shaw, 1996; Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello, 2004; Ibáñez e Gutiérrez Benítez, 2004). Em águas costeiras do sudeste dos Estados Unidos, a desova ocorre de Setembro a Fevereiro com temperaturas a rondar os 20 a 28°C (Anderson, 1958; Bichy, 2004; Greeley et al., 1987). Na Grécia, a desova de *M. cephalus* ocorre a partir de Julho até ao final de Novembro, com temperaturas entre os 22 e os 26°C (Koutrakis, 2004). Estes dados sugerem que as diferenças entre épocas e zonas de desova devem estar relacionadas com a diferença de latitude e longitude dos países, uma vez que os limites das temperaturas são semelhantes (Das et al., 2013; Greeley et al., 1987; Ibáñez e Gutiérrez Benítez, 2004; Koutrakis, 2011).

O índice de condição é um importante indicador da correlação entre a acumulação/gasto das reservas de lipídicas e a condição dos peixes em atividades cíclicas, como por exemplo no processo de reprodução (Lima-Junior e Goitein, 2006; Felizardo et

al., 2011). Para a tainha *M. cephalus*, os menores valores de IC foram observados nos meses de Maio-Julho, coincidindo com o período reprodutivo. Estes valores podem refletir o gasto energético para a produção de gâmetas. Os maiores valores de IC ocorreram pouco antes do início da fase da desova (Março e Abril), provavelmente devido à maior intensidade alimentar, acumulando grande reservas de gordura que foi posteriormente utilizada como fonte de energia para o desenvolvimento gonadal. Ibáñez-Aguirre e Gallardo-Cabello (2004) também observaram valores superiores no índice de condição antes da desova e inferiores durante a época de desova para *Mugil cephalus*.

Estudos anteriores demonstram que as fêmeas de *M. cephalus* desovam uma vez por ano ou em *batches* durante um curto período de tempo (Greeley et al., 1987; McDonough et al., 2003). Os resultados obtidos neste trabalho suportam esta hipótese, uma vez que apenas foi observado um *batch* de oócitos na fase IV do desenvolvimento durante três meses (Maio, Junho e Julho 2014). O facto de nos restantes meses apenas ter sido possível obter oócitos nas três primeiras fases de desenvolvimento (<0,50 mm), também é consistente com uma única desova sazonal, visto que mesmo em espécies com desova síncrona como a tainha *M. cephalus*, é possível ocorrer duas ou três fases de desenvolvimento em simultâneo dentro do ovário (Bartulović et al., 2011; Tyler e Sumpter, 1996). Além disso, mesmo dentro de um oócito, é provável que haja períodos prolongados, quando um certo número de fases de crescimento se sobrepõem (Tyler e Sumpter, 1996).

A utilização do número total de oócitos para a estimativa da fecundidade pode ser um engano (Koutrakis, 2011). Este facto reflete-se nos dados obtidos neste estudo como demonstrado pela distribuição de frequências dos oócitos da espécie estudada, em que as primeiras fases foram representativas em todos os meses, resultado da grande parte dos oócitos que nunca chegou a maturar e, por conseguinte, não contribuíram para o processo de reprodução. Contudo, estes resultados parecem ser comuns para esta espécie, de acordo com Greeley et al., 1987 que relatam que quase 30 % dos oócitos nas gónadas de *Mugil cephalus* são imaturos, por sua vez McDonough et al., 2005 encontraram fêmeas com oócitos imaturos todos os meses do ano, enquanto Koutrakis, 2011 descreve um elevado intervalo percentual de 3,9 - 28,1% de oócitos imaturos em duas espécies da mesma família, *Liza saliens* e *Liza ramada*, durante todo o ciclo reprodutivo.

Há um interesse crescente relativamente à análise dos parâmetros hematológicos e características estruturais das células sanguíneas dos peixes. (Fazio et al., 2012, 2013a; Rey Vázquez e Guerrero, 2007; Satheeskumar et al., 2012a). As variações destes parâmetros são causadas por *stress* ambiental, desnutrição, sexo, tamanho, diferenças sazonais e eficiência da reprodução em particular nas fêmeas (Cech e Wohlschlag, 1982; Cnaani et al., 2004; Fazio et al., 2012, 2013a; Goel et al., 1984; Pradhan et al., 2012).

No presente estudo foram observadas diferenças significativas em todos os parâmetros hematológicos avaliados entre os meses do período experimental. Os glóbulos vermelhos (RBC) são o tipo de células dominante no sangue da grande maioria das espécies de peixes (Svobodová et al., 2008). O número elevado de eritrócitos foi associado a movimento rápido, predação e elevada atividade (Rambhaskar e Srinivasa Rao, 1986 *in* Satheeskumar et al., 2012a). Contrariamente, os resultados obtidos neste estudo mostram valores inferiores no número de RBC, o que leva a crer que estes indivíduos apresentam uma atividade mais reduzida, pois segundo Svobodová et al., 2008, baixos valores de RBC verificam-se em espécies com uma atividade mais reduzida. As diferenças significativas nos valores do número de RBC, assim como os baixos valores entre alguns meses, sugerem que possa ter ocorrido uma maior necessidade metabólica devido à ocorrência do parasita *Caligus sp.* ou por serem indivíduos com uma atividade menor sem necessidade de captura e procura de alimento. Resultados semelhantes ao deste estudo foram encontrados por Fazio et al., 2013b, por sua vez estão em desacordo como os valores reportados por Faggio et al., 2013, 2014; Fazio et al., 2012, 2013a; Shateeskumar et al., 2012a, 2012b. Todavia, os indivíduos utilizados nestes estudos foram capturados no meio selvagem e foi efetuado imediatamente todo o processo de colheita de sangue e sacrifício dos indivíduos, contrariamente aos indivíduos utilizados no corrente estudo.

Uma das principais alterações nas células vermelhas do sangue verificou-se através da concentração de hemoglobina (Hgb). No entanto, os valores médios obtidos em *M. cephalus* para esta variável estão dentro da normalidade descritos por Cech e Wolhschlag, 1982; Faggio et al., 2013, 2014; Fazio et al., 2013b para esta espécie, porém mais baixos do que os valores obtidos por Fazio et al., 2012, 2013a; Shateeskumar et al., 2012a, 2012b. Contudo, baixos valores de hemoglobina estão associados a peixes com uma atividade mais baixa (Shateeskumar et al., 2012a), tal como os indivíduos utilizados neste estudo que já estavam adaptados às condições do tanque, e por sua vez sem necessidade de

movimentação para captura de alimento. O aumento da concentração de Hgb verificada nos meses de Janeiro, Março e Maio pode ter ocorrido devido ao mecanismo de compensação para equilibrar o baixo valor de RBC encontrado nesses meses, tal como observado por Fazio et al., 2013c em dourada (*Sparus aurata*). Além disso, foi possível observar nos resultados obtidos, que em alguns meses quando o oxigénio dissolvido (O₂d) diminuiu a concentração de Hgb aumentou, isto deve-se à relação entre a Hgb e o O₂d que mostra adaptações não só às condições ambientais, mas também às necessidades metabólicas, sendo que ambos regulam a disponibilidade e o transporte de oxigénio para os tecidos (Jawad et al., 2004).

No presente trabalho, a taxa de hematócrito variou de 16,85 a 29,74 %. Resultados semelhantes foram obtidos por Cech e Wolhschag, 1982; Faggio et al., 2014; Fazio et al., 2012, 2013b; Shateeskumar et al., 2012a, 2012b. Este é um parâmetro que pode ser utilizado como uma ferramenta de gestão na aquacultura e na pesca para diagnosticar anemias e monitoramentos hemorrágicos dos peixes, por meio do volume relativo ocupado pelos eritrócitos numa amostra de sangue expresso em percentagem (Blaxhall e Daisley, 1973 in Shateeskumar et al., 2012b; Ziskowski *et al.*, 2008). Neste estudo, os valores de Hct foram maiores no início da maturação (Abril-14), e durante a época de desova (Maio-14 e Junho-14). Resultados semelhantes foram descritos por Jawad et al., 2004 para *Tenualosa ilisha*. Este aumento de Hct tem sido explicado devido aos requisitos de elevada energia que os peixes necessitam durante a época de reprodução (Jawad et al., 2004). Durante os meses da época de desova dos indivíduos de *M. cephalus*, a temperatura da água do tanque exterior da EPPO estava elevada, resultando num menor teor de oxigénio na água, o que pode também ter resultado no aumento dos valores de Hct. Estes dois fatores, um fisiológico pela alta necessidade de energia durante a época de reprodução e, outro ambiental induzido pelo aumento da temperatura da água, são assim provavelmente responsáveis pelo aumento no valor de Hct encontrado.

Os valores de MCHC neste estudo estão de acordo com os relatados por Faggio et al., 2013, 2014; Fazio et al., 2012, 2013a, 2013b. Por sua vez, os valores de MCH obtidos foram inferiores aos relatados na literatura para esta espécie, no entanto de acordo com Fazio et al., 2012 valores mais baixos de MCH estão associados a um aumento de temperatura. Este facto corrobora os resultados obtidos neste estudo, uma vez que os meses com os valores mais baixo de MCH são também os meses com temperaturas mais elevadas

(Outubro, Abril, Junho e Julho). Os valores de MCV encontrados em todos os meses são significativamente superiores aos estudos anteriores para esta espécie (Faggio et al., 2013, 2014; Fazio et al., 2012, 2013a, 2013b). Os elevados valores obtidos neste estudo poderão ter ocorrido devido a um esforço acrescido dos glóbulos vermelhos devido ao stress induzido durante as amostragens, uma vez que foram feitas amostragens mensais, ao contrário dos estudos citados anteriormente em que os indivíduos eram capturados e sacrificados em cada amostragem.

7. Considerações Finais

Este estudo descreve o padrão de desenvolvimento dos oócitos nas gónadas durante o ciclo anual em *M. cephalus*, tendo sido proposto um sistema de classificação do estágio dos ovários baseado nas fases e perfis de frequência de tamanho dos oócitos. Posto isto, e pelas características reprodutivas dos exemplares de *Mugil cephalus* da EPPO a sul de Portugal observadas no presente trabalho, pode concluir-se que apresentam uma maior frequência de fases de maturação gonadal nos meses de Maio a Julho, indicando este período como o de reprodução desta espécie. Aparentemente, o ciclo reprodutivo da tainha é fortemente influenciado pela temperatura, sendo a época de desova coincidente com subidas de temperatura.

Os resultados deste estudo fornecem algum conhecimento dos parâmetros hematológicos durante o ciclo reprodutivo de *M. cephalus*. No presente estudo, foi possível constatar a influência que alguns fatores físico-químicos da água, como a temperatura e o oxigénio dissolvido, exercem sobre estes parâmetros, sugerindo que estes possam, portanto, ser convenientemente utilizados como ferramentas de monitorização de efeitos nas mudanças do habitat, da saúde e do cultivo dos peixes. Além disso, como observado neste estudo, podem ser indicativos das mudanças durante o ciclo reprodutivo.

8. Investigação Futura

A fim de entender melhor o ciclo reprodutivo desta espécie, será necessário continuar a acompanhar o desenvolvimento gonadal das fêmeas e caracterizar o ciclo reprodutivo dos machos, complementando ambos com técnicas histológicas e índice gonadossomático. Além disso, seria importante observar a influência que outros parâmetros, como o pH e a salinidade, exercem nos parâmetros hematológicos da espécie, bem como a resposta dos indivíduos durante o ciclo reprodutivo a alterações dos mesmos.

Apesar de verificado, com este estudo, o enorme potencial na reprodução, desova e possibilidade de cultivo desta espécie em aquacultura, é ainda imprescindível responder à dificuldade da tainha em desovar naturalmente em cativeiro, determinando e melhorando as técnicas de cultivo, de forma a otimizar a produção de larvas e juvenis e diminuir os custos inerentes à sua reprodução e produção.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aizen, J., Meiri, I., Tzchori, I., Levavi-Sivan, B. e Rosenfeld, H. (2005). Enhancing spawning in the grey mullet (*Mugil cephalus*) by removal of dopaminergic inhibition. *General and Comparative Endocrinology*, 142(1-2): 212–221.
- Ameur, B., Bayed, A. e Benazzou, T. (2003). Rôle de la communication de la lagune de Merja Zerga (Gharb, Maroc) avec l’océan Atlantique dans la reproduction d’une population de *Mugil cephalus* L. (Poisson Mugilidae). *Bulletin de l’Institut Scientifique*, 25: 77-82.
- Anderson, W. W. (1958). Larval development, growth, and spawning of striped mullet (*Mugil cephalus*) along the south Atlantic coast of the United States. Fish and Wildlife Service. *Fishery Bulletin*, 58: 501-519.
- Aoki, J. Y., Hatsuyama, A., Hiramatsu, N. e Soyano, K. (2011). Effects of ethynylestradiol on vitellogenin synthesis and sex differentiation in juvenile grey mullet (*Mugil cephalus*) persist after long-term exposure to a clean environment. *Comparative Biochemistry and Physiology. Toxicology & Pharmacology*, 154(4): 346–52.
- Arruda, L. M., Azevedo, J. N. e Neto, A. I. (1991). Age and growth of the grey mullet (Pisces, Mugilidae) in Ria de Aveiro (Portugal). *Scientia Marina*, 55(3): 497-504.
- Averbeck, C. (1992). Haematology and blood chemistry of healthy and clinically abnormal great black-backed gulls (*Larus marinus*) and herring gulls (*Larus argentatus*). *Avian Pathology*, 21(2): 215-223.
- Barman, U. K., Jana, S. N., Garg, S. K., Bhatnagar, A. e Arasu, A. R. T. (2005). Effect of inland water salinity on growth, feed conversion efficiency and intestinal enzyme activity in growing grey mullet, *Mugil cephalus* (Linn.): Field and laboratory studies. *Aquaculture International*, 13(3): 241–256.
- Barra, A., Garau, V. L., Dessi, S., Sarais, G., Cereti, E., Arlorio, M., Coisson, J. D. e Cabras, P. (2008). Caratterizzazione chimica e genetica della bottarga di muggine da diverse origini geografiche. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10847-10852.
- Bartulović, V., Dulčić, J., Matić-Skoko, S. e Glamuzina, B. (2011). Reproductive cycles of *Mugil cephalus*, *Liza ramada* and *Liza aurata* (Teleostei: Mugilidae). *Journal of Fish Biology*, 78(7): 2067–73.
- Bekova, R., Raikova-Petrova, G., Gerdzhikov, D., Petrova, E., Vachkova, V. E Klisarova, D. (2013). Food spectrum of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) along the Bulgarian Black Sea coast. *Agricultural Science and Technology*, 5: 173-178.
- Bichy, J. B. (2000). Reproductive biology of striped mullet, *Mugil cephalus*, in North Carolina. North Carolina State University. Final report to North Carolina Sea Grant Fishery Resource Grant Project #97-FEG-09.

- Bichy, J. B. (2004). A life history assessment on the reproduction and growth of the striped mullet *Mugil cephalus*, in North Carolina. North Carolina State University. Master Thesis
- Biswas, G., Debasis, D., Thirunavukkarasu, A. R., Natarajan, M., Sundaray, J. K., Kailasam, M. e Sarkar, A. (2012). Effects of stocking density, feeding, fertilization and combined fertilization-feeding on the performances of striped grey mullet (*Mugil cephalus* L.) fingerlings in brackishwater pond rearing systems. *Aquaculture*, 338-341: 284–292.
- Boglione, C., Costa, C., Giganti, M., Cecchetti, M., Dato, P. Di, Scardi, M. e Cataudella, S. (2006). Biological monitoring of wild thicklip grey mullet (*Chelon labrosus*), golden grey mullet (*Liza aurata*), thinlip mullet (*Liza ramada*) and flathead mullet (*Mugil cephalus*) (Pisces: Mugilidae) from different Adriatic sites: meristic counts and skeletal anoma. *Ecological Indicators*, 6(4): 712–732.
- Boyd, C. E. (2003). Guidelines for aquaculture effluent management at the farm-level. *Aquaculture*, 226(1-4): 101–112.
- Cardona, L., Hereu, B. e Torras, X. (2008). Juvenile bottlenecks and salinity shape grey mullet assemblages in Mediterranean estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 77(4): 623–632.
- Cech, J. J. e Wohlschlag, D. E. (1982). Seasonal patterns of respiration, gill ventilation, and hematological characteristics in the striped mullet, *Mugil cephalus* L.. *Bulletin of Marine Science*, 32(1): 130-138.
- Chang, C. W., Tzeng, W. N. e Lee, Y. C. (2000). Recruitment and Hatching Dates of Grey Mullet (*Mugil cephalus* L.) Juveniles in the Tanshui Estuary of Northwest Taiwan. *Zoological Studies*, 39(2): 99–106.
- Chang, C., Iizuka, Y. e Tzeng, W. (2004). Migratory environmental history of the grey mullet *Mugil cephalus* as revealed by otolith Sr:Ca ratios. *Marine Ecology Progress Series*, 269: 277–288.
- Cnaani, A., Tinman, S., Avidar, Y., Ron, M. e Hulata, G. (2004). Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 35: 1434-1440.
- Corti, M. e Crosetti, D. (1996). Geographic variation in the grey mullet: a geometric morphometric analysis using partial warp scores. *Journal of Fish Biology*, 48: 255–269.
- Das, P., Pramanick, K., Maity, A. e Maiti, B. R. (2013). The role of some extra-gonadal hormones on the circannual ovarian cycle of the flathead grey mullet, *Mugil cephalus* L.. *Biological Rhythm Research*, 44(5): 830-843.
- Daskalov, G. M. e Prodanov, K. Marine environmental conditions and fishery productivity in the Black Sea (1998). In: Durand Marie-Hélène (ed.), Cury Philippe (ed.), Mendelssohn R. (ed.), Roy Claude (ed.), Bakun A. (ed.), Pauly D. (ed.) *Global versus local changes in upwelling systems*, 249-265.

- Desaunay, Y. e Guerault, D. (1997). Seasonal and long-term changes in biometrics of eel larvae: a possible relationship between recruitment variation and North Atlantic ecosystem productivity. *Journal of Fish Biology*, 51(A): 317-339
- Deutsch, L., Gräslund, S., Folke, C., Troell, M., Huitric, M., Kautsky, N. e Lebel, L. (2007). Feeding aquaculture growth through globalization: Exploitation of marine ecosystems for fishmeal. *Global Environmental Change*, 17(2): 238-249.
- Ditty, J. G. e Shaw, R. F. (1996). Spatial and temporal distribution of larval striped mullet (*Mugil cephalus*) and white mullet (*M. curema*, family: Mugilidae) in the northern gulf of mexico, with notes on mountain mullet, *Agonostomus monticola*. *Bulletin of Marine Science*, 59(2): 271-288.
- Durand, J., Shen, K., Chen, W., Jamandre, B. W., Blel, H., Diop, K. e Borsa, P. (2012). Systematics of the grey mullets (Teleostei: Mugiliformes: Mugilidae): molecular phylogenetic evidence challenges two centuries of morphology-based taxonomy. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64(1): 73-92.
- Eschmeyer, W. N. e Fricke, R. (eds) (2011). Catalog of fishes. (<http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>)
- Faggio, C., Casella, S., Arfuso, F., Marafioti, S., Piccione, G. e Fazio, F. (2013). Effect of storage time on haematological parameters in mullet, *Mugil cephalus*. *Cell Biochemistry and Function*, 31(5): 412-6.
- Faggio, C., Fedele, G., Arfuso, F., Panzera, M. e Fazio, F. (2014). Haematological and biochemical response of *Mugil cephalus* after acclimation to captivity. *Cahiers de Biologie Marine*, 55: 31-36.
- FAO. (2009). Aquaculture production. In *Yearbook of Fishery and Aquaculture Statistics* (pp. 84-188).
- FAO. (2012a). Cultured Aquatic Species Information Programme - *Mugil cephalus* (Linnaeus, 1758). *FAO Fisheries & Aquaculture*. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Mugil_cephalus/en
- FAO. (2012b). The State of the World Fisheries and Aquaculture. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome, Italy.
- FAO. (2014). The State of the World Fisheries and Aquaculture – Opportunities and challenges. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome, Italy.
- Fazio, F., Satheeshkumar, P., Senthil, D. K., Faggio, C. e Piccione, G. (2012). A Comparative study of hematological and blood chemistry of Indian and Italian Grey Mullet (*Mugil cephalus* Linnaeus 1758). *HOAJ Biology*, 1(1): 5.
- Fazio, F., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M., Panzera, M. e Faggio, C. (2013a). Haematological and serum protein profiles of *Mugil cephalus*: effect of two different habitats. *Ichthyological Research*, 60(1): 36-42.

- Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., Piccione, G. e Faggio, C. (2013b). Influence of different salinity on haematological and biochemical parameters of the widely cultured mullet, *Mugil cephalus*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 46(4): 211–218.
- Fazio, F., Marafioti, S., Filiciotto, F., Buscaino, G., Panzera, M. e Faggio, C. (2013c). Blood Hemogram Profiles of Farmed Onshore and Offshore Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) from Sicily, Italy. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 13: 415-422.
- Felizardo, V. O., Murgas, L. D. S., Winkaler, E. U., Pereira, G. J. M., Drumond, M. M. e Andrade, E. S. (2011). Fator de condição relacionado a aspectos reprodutivos da piarara (*Leporinus obtusidens*) (Characiformes: Anostomidae) coletadas a jusante da usina hidrelétrica do funil, minas gerais, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 12(3): 471-477.
- Ferreira, F., Santos, M. M., Reis-Henriques, M. A., Vieira, M. N. e Monteiro, N. M. (2011). The annual cycle of spermatogenesis in *Lipophrys pholis* (Bleniidae), a recently proposed sentinel species for pollution monitoring. *Ichthyological Research*, 58: 360-365.
- Gautier, D. e Hussenot, J. (2005). *Les Mulets des Mers D'Europe: Synthèse Des Connaissances Sur Les Bases Biologiques Et Les Techniques D'aquaculture* (p. 119). L'Houmeau, France: Ifremer.
- Goel, K. A., Mishra, B. P., Gupta, K. E Wadhwa, S. (1984). A comparative haematological study on a few freshwater teleosts. *Indian Journal of Fisheries*, 3: 108-112.
- Greeley, M. S. J., Calder, D. R. e Wallace, R. A. (1987). Oocyte Growth and Development in the Striped Mullet, *Mugil cephalus*, During Seasonal Ovarian Recrudescence: Relationship to Fecundity and Size at Maturity. *Fishery Bulletin*, 85(2): 187–200.
- Hsu, C. C., Han, Y. S. e Tzeng, W. N. (2007). Evidence of Flathead Mullet *Mugil cephalus* L. Spawning in Waters Northeast of Taiwan. *Zoological Studies*, 46(6): 717–725.
- Hung, C. M. e Shaw, D. (2006). The Impact of Upstream Catch and Global Warming on the Grey Mullet Fishery in Taiwan: A Non-cooperative Game Analysis. *Marine Resource Economics*, 21: 285–300.
- Ibáñez, A. L. e Gallardo-Cabello, M. (2004). Reproduction of *Mugil cephalus* and *M. curema* (Pisces: Mugilidae) From a Coastal Lagoon in the Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*, 75(1): 37–49.
- Ibáñez, A. L. e Gutiérrez Benítez, O. (2004). Climate variables and spawning migrations of the striped mullet and white mullet in the north-western area of the Gulf of Mexico. *Journal of Fish Biology*, 65: 822–831.
- Integrated Taxonomic Information System on-line database (ITIS), <http://www.itis.gov>.

- Jawad, L. A., Al-Mukhtar, M. A. e Ahmed, H. K. (2004). The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family Clupeidae). *Animal Biodiversity and Conservation*, 27 (2): 47–52.
- Kaiser, M. J., Attrill, M. J., Jennings, S., Thomas, D. N., Barnes, D. K. A., Brierley, A. S. e Raffaelli, D. G. (2011). *Marine Ecology: Processes, Systems, and Impacts* (2nd ed.). United States of America: Oxford University Press.
- Kelly, P. B., Reiser, R. e Hood, D. W. (1958). The origin and metabolism of marine fatty acids: The effect of diet on the depot fats of *Mugil cephalus* (The common mullet). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 35(5): 189–192.
- Koutrakis, E. T. (2004). Short Communication Temporal occurrence and size distribution of grey mullet juveniles (Pisces, Mugilidae) in the estuarine systems of the Strymonikos Gulf (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 20: 76–78.
- Koutrakis, E. T. (2011). Reproductive biology of two grey mullet species (Actinopterygii: Mugiliformes: Mugilidae) in a northern aegean sea estuarine system. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 41(1): 37-46.
- Lima-Junior, S. E. e Goitein, R. (2006). Fator de condição e ciclo gonadal de fêmeas de *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes, Pimelodidae) no rio Piracicaba (SP, Brasil). *Boletim do Instituto da Pesca*, 32(1): 87-94.
- McDonough, C. J., Roumillat, W. A. e Wenner, C. A. (2003). Fecundity and spawning season of striped mullet (*Mugil cephalus* L.) in South Carolina estuaries. *Fishery Bulletin*, 101(4): 822-834.
- McDonough, C. J., Roumillat, W. A. e Wenner, C. A. (2005). Sexual differentiation and gonad development in striped mullet (*Mugil cephalus* L.) from South Carolina estuaries. *Fishery Bulletin*, 103: 601–619.
- Menezes, N. A., Oliveira, C. e Nirchio, M. (2010). An old taxonomic dilemma: the identity of the western south Atlantic lebranche mullet (Teleostei : Perciformes : Mugilidae). *Zootaxa*, 2519: 59–68.
- Nash, C. E. e Shehadeh, Z. H. (1980). Review of Breeding and Propagation Techniques for Grey Mullet, *Mugil cephalus* L.. *ICLARM Studies and Reviews*, 3: 87. International Center for Living Resources Management, Manila, Philippines.
- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C., Clay, J. e Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405(6790): 1017–1024.
- Nirchio, M., Oliveira, C., Ferreira, I. A., Martins, C., Rossi, A. R. e Sola, L. (2009). Classical and molecular cytogenetic characterization of *Agonostomus monticola*, a primitive species of Mugilidae (Mugiliformes). *Genetica*, 135(1): 1–5.
- Pradhan, S. C., Patra, A. K., Sarkar, B. e Pal, A. (2012). Seasonal changes in hematological parameters of *Catla catla* (Hamilton 1822). *Comparative Clinical Pathology*, 21: 1473-1481.

- Psarra, S., Tselepides, A. e Ignatiades L. (2000). Primary productivity in the oligotrophic Cretan Sea (NE Mediterranean): seasonal and interannual variability. *Progress in Oceanography*, 46(2-4): 187-204.
- Rey Vázquez, G. e Guerrero, G. A. (2007). Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue & Cell*, 39(3): 151–60.
- Sadek, S. (2011). An overview on desert aquaculture in Egypt. In V. Crespi & A. Lovatelli, eds. *Aquaculture in desert and arid lands: development constraints and opportunities. FAO Technical Workshop*. FAO Fisheries and Aquaculture Proceedings No. 20. Rome, FAO. 141–158.
- Saleh, M. (2008). Capture-based aquaculture of mullets in Egypt. In A. Lovaletti & P. F. Holthus (Eds.), *Capture-base aquaculture. Global overview. FAO Fisheries Technical Paper. No 508*: 109–126. Rome, FAO.
- Shateeshkumar, P., Ananthan, G., Kumar S. e Jagadeesan, L. (2012a). Haematology and biochemical parameters of different feeding behaviour of teleost fishes from Vellar estuary India. *Comparative Clinical Pathology*, 21: 1187-1191.
- Shateeshkumar, P., Ananthan, G., Senthikumar, D., Khan, A. B. e Jeevanantham, K. (2012b). Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comparative Clinical Pathology*, 21: 275-281.
- Sbovodová, Z., Kroupová, H., Modrá, H. Flajshans, M., Randaki, T., Savina, L. V. e Gela, D. (2008). Haematological profile of common carp spawners of various breeds. *Journal of Applied Ichthyology*, 24: 55-59.
- Scano, P., Rosa, A., Cesare Maricola, F., Locci, E., Melis, M. P., Dessi, M. A. e Lai, A. (2008). ¹³C NMR, GC and HPLC characterization of lipid components of the salted and dried mullet (*Mugil cephalus*) roe “bottarga”. *Chemistry and Physics of Lipids*, 151(2): 69-76
- Shen, K. N., Jamandre, B. W., Hsu, C. C., Tzeng, W. N. e Durand, J. D. (2011). Plio-Pleistocene sea level and temperature fluctuations in the northwestern Pacific promoted speciation in the globally-distributed flathead mullet *Mugil cephalus*. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1): 83.
- Solomon, F. N. e Rammarine, I. W. (2007). Reproductive biology of white mullet, *Mugil curema* (Valenciennes) in the Southern Caribbean. *Fisheries Research*, 88: 133-138.
- Tacon, A. G. J. e Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture*, 285(1-4): 146–158.
- Tamaru, C. S., Kelley, C. D., Lee, C. S., Aida K., Hanyu, I. e Goetz, F. (1991). Steroid profiles during maturation and induced spawning of the striped mullet, *Mugil cephalus* L.. *Aquaculture*, 95: 149-168.

- Tavares-Dias, M., Moraes, F. R., Martins, M. L., Santana, A. E. (2002). Haematological changes in *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) with gill ichthyophthiriasis and saprolegniosis. *Boletim do Instituto da Pesca*, 28(1): 1-9.
- Trape, S., Durand, J. D., Guilhaumon, F., Vigliola, L. e Panfili, J. (2009). Recruitment patterns of young-of-the-year mugilid fishes in a West African estuary impacted by climate change. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85: 357–367.
- Tyler, C. R. e Sumpter, J. P. (1996). Oocyte growth and development in teleosts. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 6: 287-318.
- Videler, J. J. (2011). An opinion paper: emphasis on white muscle development and growth to improve farmed fish flesh quality. *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(2): 337–43.
- Waltham, N. J., Teasdale, P. R. e Connolly, R. M. (2013). Use of flathead mullet (*Mugil cephalus*) in coastal biomonitor studies: review and recommendations for future studies. *Marine Pollution Bulletin*, 69(1-2): 195–205.
- Wang, C. H., Hsu, C. C., Chang, C. W., You, C. F. e Tzeng, W. N. (2010). The Migratory Environmental History of Freshwater Resident Flathead Mullet *Mugil cephalus* L. in the Tanshui River, Northern Taiwan. *Zoological Studies*, 49(4): 504–514.
- Wang, C. H., Hsu, C. C., Tzeng, W. N., You, C. F. e Chang, C. W. (2011). Origin of the mass mortality of the flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) in the Tanshui River, northern Taiwan, as indicated by otolith elemental signatures. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8): 1809–13.
- Whitfield, A. K., Panfili, J. e Durand, J. D. (2012). A global review of the cosmopolitan flathead mullet *Mugil cephalus* Linnaeus 1758 (Teleostei: Mugilidae), with emphasis on the biology, genetics, ecology and fisheries aspects of this apparent species complex. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 22(3): 641–681.
- Yapa, K. A. S. (2000). Seasonal variability of sea surface chlorophyll-a of waters around Sri Lanka. *Proceedings of the Indian Academy of Science*, 109(4): 427-432.
- Yelghi, S., Shirangi, S. A., Ghorbani, R. e Khoshbavar Rostami, H. A. (2012). Annual cycle of ovarian development and sex hormones of grey mullet (*Mugil cephalus*) in captivity. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 11(3): 693–703.
- Yousif, O. M., Fatah, A. A., Krishna, K., Minh, D. V. e Hung, B. V. (2010). Induced spawning and larviculture of grey mullet, *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) in the Emirate of Abu Dhabi. *Marine Finfish Aquaculture Network*, XV(1): 41–43.
- Ziskowski, J., Mercaldo-Allen, R., Pereira, J.J., Kuropat, C., Goldberg R. (2008). The effects of fin rot disease and sampling method on blood chemistry and hematocrit measurements of winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* from New Haven Harbor (1987–1990). *Marine Pollution Bulletin* 56: 740– 750
- Zohar, Y. e Mylonas, C. C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197(1-4): 99–136.

ANEXOS

ANEXO I – CÁLCULOS DO ÍNDICE DE CONDIÇÃO

Índice de Condição (IC)

$$IC = \frac{\text{peso (g)}}{CF^3 \text{ (cm)}} \times 100 \%$$

ANEXO II – CÁLCULOS DOS ÍNDICES HEMATOLÓGICOS

Volume corpuscular médio (MCV)

$$MCV = \frac{\text{Hct} \times 10}{\text{RBC}}$$

Hemoglobina corpuscular média (MCH)

$$MCH = \frac{\text{Hgb}}{\text{RBC}}$$

Concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC)

$$MCHC = \frac{\text{Hgb} \times 100}{\text{Hct}}$$

ANEXO III – CÁLCULOS DO HEMATÓCRITO (%)

$$\text{Hct} = \frac{\text{distância ocupada pelos glóbulos vermelhos}}{\text{distância total ocupada pelo sangue}} \times 100$$