

PAULO JOSÉ DUARTE NETO

ANÁLISE MULTIVARIADA DA FORMA DO OTÓLITO
SAGITA PARA DISCRIMINAÇÃO DE ESTOQUES DE
DOURADO, *Coryphaena hippurus* (PISCES:
CORYPHAENIDAE), NO NORDESTE DO BRASIL

Recife, Fevereiro de 2005

PAULO JOSÉ DUARTE NETO

ANÁLISE MULTIVARIADA DA FORMA DO OTÓLITO
SAGITA PARA DISCRIMINAÇÃO DE ESTOQUES DE
DOURADO, *Coryphaena hippurus* (PISCES:
CORYPHAENIDAE), NO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biometria da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, para obtenção do título
de Mestre em Biometria

RECIFE – PERNAMBUCO - BRASIL
FEVEREIRO – 2005

PAULO JOSÉ DUARTE NETO

ANÁLISE MULTIVARIADA DA FORMA DO OTÓLITO
SAGITA PARA DISCRIMINAÇÃO DE ESTOQUES DE
DOURADO, *Coryphaena hippurus* (PISCES:
CORYPHAENIDAE), NO NORDESTE DO BRASIL

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biometria da
Universidade Federal Rural de
Pernambuco, para obtenção do título
de Mestre em Biometria

**Dissertação defendida e aprovada pela banca examinadora em 28 de
fevereiro de 2004.**

ORIENTADORA:

Prof^a. Dra Rosângela Paula Lessa – UFRPE

EXAMINADORES:

Prof^a. Dra. Sigridi Neumann Leitão– UFPE

Prof. Dr. Romildo Albuquerque Nogueira – UFRPE

Prof. Dr. Borko Stosic – UFRPE

COMECE FAZENDO O QUE É NECESSÁRIO,
EM SEGUIDA FAÇA O QUE É POSSÍVEL,
E BREVE VOCÊ ESTARÁ FAZENDO O QUE É
IMPOSSÍVEL.

São Francisco de Assis

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Rosângela Lessa, pela valorosa orientação e apoio antes e durante este trabalho.

Aos Professores Dr. Borko Stosic, Dr. Eufrázio Santos e Dr. Romildo Nogueira, pelos conselhos, colaborações e incentivos a este trabalho.

Aos meus amigos Dr. Teodoro Vaske, Msc. Francisco Marcante, Msc. José Lúcio, por toda ajuda concedida durante a realização da dissertação.

Ao Dr. Ronan Fablet, pelas sugestões e ajuda para a utilização do programa TNPC, fornecidas durante meu estágio no LASAA (Brest / França).

Ao meu grande amigo Engenheiro de Pesca Gustavo Oliveira, pela obtenção da amostra do Maranhão.

Ao Engenheiro de Pesca Hugo Campos, por ter permitido minha permanência e acesso total à filial da Netuno Pescados no estado do Maranhão, durante minhas amostragens.

A todos os bolsistas, estagiários e voluntários do Laboratório de Dinâmica de Populações Marinha (DIMAR), pela ajuda prestada durante o processamento do material biológico.

A todos os colegas da Biometria, especialmente à Macio, Marcela Verônica e José de Melo, pelo convívio, amizade e ajuda mútua.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desta dissertação.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT	v
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1. Identificação de Estoques Baseado em Morfometria.....	6
2.2. Avanços dos Métodos Morfométricos.....	7
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
3.1. Coleta da Amostra.....	10
3.2. Aquisição das Imagens e Variáveis do Otólito.....	10
3.3. Descrição das Variáveis.....	12
3.3.1. Descritores Básicos da Forma.....	12
3.3.2. Índices da Forma.....	13
3.3.3. Dimensão Fractal.....	14
3.3.4. Coeficientes de Fourier.....	15
3.4. Análise Estatística dos Dados.....	17
3.5. Descrição dos Métodos Estatísticos.....	19
3.5.1. Correção das Variáveis da Forma.....	19
3.5.2. Análise de agrupamento pelo critério de Ward.....	19
3.5.3. Análise de Componentes Principais (ACP).....	20
3.5.4. Distância de Separação de Classes.....	21
3.5.5. Análise Discriminante Canônica.....	22
3.5.6. Procedimento de “classificação jack-knife”	23
4. RESULTADOS.....	24
4.1. Variabilidade Geral da Forma do Otólito.....	24
4.2. Análise entre Regiões.....	27
5. DISCUSSÃO.....	34
6. CONCLUSÕES.....	38
7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1. Variáveis do otólito e suas correlações com o comprimento do otólito de <i>C. hippurus</i> . N.S. = não significativo.....	24
Tabela 4.2. Proporção e proporção acumulativa da variância explicada por cada componente principal.....	27
Tabela 4.3. Análise de variância para os componentes principais entre morfotipos e regiões. N.S. = não significativo.....	31
Tabela 4.4. Comparação espacial entre as variáveis do otólito de <i>C. hippurus</i> e suas respectivas distâncias de separação das classes (DSC). N.S. = não significativo.....	32
Tabela 4.5. Matriz de classificação Jack-knifed das frequências dos casos assinalados em cada região usados para diferenciar as amostras.....	32
Tabela 4.6. Contribuição das variáveis do otólito de para a discriminação das amostras de <i>C. hippurus</i> a partir dos coeficientes padronizados da variável canônica (VC1).....	33

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Anatomia do ouvido interno. (A) otólitos com a representação do sistema labirinto de peixes teleósteos (B) vista dorsal do aparato vestibular de um típico teleósteo. Ast=asteriscus; Lag=vestíbulo lagenar; Lap=lapillus; Sac=vestíbulo sacular; Sag=sagita; sc=canais semicirculares; utr= vestibulo utricular.....	2
Figura 1.2. Esquemas de migração e local dos supostos estoques de dourado, <i>Coryphaena hippurus</i> , sugeridos por Lessa, 2003 (A) e Oxenford Hunte, 1986a (B), na costa nordeste da América do Sul. Em B, as setas tracejadas indicam áreas onde dados de sazonalidade e tamanho não foram disponíveis. Os pontos brancos mostram os estados onde foram amostrados o par de otólito sagita (MA – Maranhão e RN – Rio Grande do Norte).....	5
Figura 3.1. Exemplares de <i>Coryphaena hippurus</i> (A = macho e B= fêmea).	10
Figura 3.2. Face interna de um otólito sagita direito de dourado, <i>Corypahena hippurus</i> (linha = 1mm).....	11
Figura 3.3. Exemplos de imagens de otólitos de <i>Coryphaena hippurus</i> , obtidas a partir do programa TNPC (linha = 1mm).....	11
Figura 3.4. Ilustração gráfica da variável área (A) utilizada para caracterizar o otólito sagita de dourado, <i>Coryphaena hippurus</i> , das diferentes regiões de coleta da costa nordeste do Brasil.....	12
Figura 3.5. Ilustração gráfica da variável perímetro (P) utilizada para caracterizar o otólito sagita do dourado, <i>Coryphaena hippurus</i> , das diferentes regiões de coleta da costa nordeste do Brasil.....	13
Figura 3.6. Exemplo de um conjunto de caixas de tamanho r na determinação da dimensão fractal pelo método de contagem de caixas (box-couting).....	15
Figura 4.1. Dendrograma baseado nas distâncias euclidianas das amplitudes das 30 primeiras harmônicas.....	25
Figura 4.2. Três morfotipos de otólito de <i>C. hippurus</i> estabelecidos pela análise de agrupamento a partir das amplitudes das 30 primeiras harmônicas.....	25
Figura 4.3. Representação gráfica da porcentagem de variância explicada por cada autovalor na análise de componentes principais.....	26
Figura 4.4. Visualização da variação (média e ± 2 vezes o desvio padrão - SD) da forma explicada por cada componente principal (PC).....	28
Figura 4.5. Gráficos do componente principal 1 (CP1) contra (A) componte	

principal 2, (B) componente principal 3 (CP3), (C) componente principal 4 (CP4), (D) componente principal 5 (CP5) e (E) componente principal 6 (CP6). ○ = morfotipo 1; Δ = Morfotipo 2; e ■ = morfotipo 3..... 29

Figura 4.6. Contribuição dos componentes principais para a variância de cada harmônica, baseado na correlação entre os mesmos..... 30

Figura 4.7. Discriminação das amostras de *C. hippurus* do Maranhão (MA) e do Rio Grande do Norte (RN) baseado na freqüência dos escores da variável canônica (VC1)..... 33

**ANÁLISE MULTIVARIADA DA FORMA DO OTÓLITO PARA
DISCRIMINAÇÃO DE ESTOQUES DE DOURADO, *Coryphaena hippurus*
(PISCES: CORYPHAENIDAE), NA COSTA NORDESTE DO BRASIL**

Autor: Duarte-Neto, Paulo José

Orientadora: Prof^a. Dra. Rosângela Lessa

**Co-orientadores: Prof. Dr. Borko Stosic
Prof. Dr. Eufrázio Santos
Prof. Dr. Romildo Nogueira**

RESUMO

A forma do otólito sagita do dourado, *C. hippurus*, foi estudada para verificar a hipótese de dois estoques na costa nordeste do Brasil. Oitenta e dois otólitos foram coletados de espécimes desembarcados pela frota artesanal na costa do estado do Maranhão (MA), em dezembro 2003, e na costa do Rio Grande do Norte (RN), de abril a maio de 2004. A partir da imagem do otólito, foram obtidos vários descritores da forma (área, perímetro, retangularidade, circularidade, excentricidade, dimensão fractal e coeficientes de Fourier) para avaliar, sobre vários aspectos, qual o nível de similaridade entre os otólitos das duas amostras. Nenhuma diferença significativa, na amostra, foi observada entre os otólitos direitos e esquerdos e entre sexos. As análises de agrupamento e de componentes principais, baseadas nos coeficientes de Fourier das 30 primeiras harmônicas, estabeleceram um padrão de 3 morfotipos do otólito de dourado, os quais estão correlacionados a diferenças gerais da forma. A ANOVA entre os CPs sugeriu que este padrão esteja relacionado a características genéticas, pois nenhuma evidência de seleção clinal foi encontrada. Na comparação das amostras do MA e do RN, foram encontradas diferenças significativas na estrutura do otólito entre as duas regiões estudadas, tanto nas análises de variância uni e multivariada, como também na análise discriminante canônica. O sucesso de classificação foi de 57,1% para a amostra do MA e 69,6% para a do RN. A dimensão fractal demonstrou ser um eficiente descritor, pois foi significativamente diferente em todas as análises e apresentou um dos maiores valores de DSC. Os resultados sobre diferenças das características da forma do otólito sagita, que aparentam estar relacionadas a taxas de crescimento, adicionou evidências indicativas para a confirmação da hipótese de 2 circuitos migratórios do *C. hippurus* ao longo da costa brasileira mesmo havendo uma grande variabilidade individual.

Palavras Chaves: forma do otólito, descritores da forma, análise multivariada, *Coryphaena hippurus*, estoque.

**MULTIVARIATE ANALYSIS OF OTOLITH SHAPE FOR STOCK
DISCRIMINATION OF DOLPHINFISH, *Coryphaena hippurus* (PISCES:
CORYPHAENIDAE), IN THE NORTHEASTERN BRAZILIAN COAST**

Author: Duarte-Neto, Paulo J.

Adviser: Prof^a. Dra. Rosângela Lessa

**Co-advisers: Prof. Dr. Borko Stosic
Prof. Dr. Eufrazio Santos
Prof. Dr. Romildo Nogueira**

ABSTRACT

The otolith shape of dolphinfish, *C. Hippurus*, was studied to verify the hypotheses of two stocks in the northeastern Brazilian coast. Eighty two sagittal otoliths were collected from specimens caught by the artisanal fleet in two regions of northeastern Brazil (Maranhão – MA and Rio Grande do Norte – RN coasts), in December of 2003 and April to May of 2004, respectively. Several types of shape descriptors were taken (area, perimeter, rectangularity, circularity, eccentricity, fractal dimension and Fourier coefficients) to evaluate the similarity level between regions. Differences between left and right otoliths and by sex were not found in the sample. Cluster and principal components (PC) analyses, based in the Fourier coefficients of 30th harmonics, revealed a three morphotypes pattern, concerning general differences of otolith shape. This pattern is supposed to be influenced by genetic factors, according to ANOVA results among the six significant PC, regardless clinal variation between samples. When the two geographical regions were compared, significant differences were found in the otolith structure using both MANOVA and ANOVA, for all shape descriptors. Canonical discriminant analysis suggested the separation of the two regions samples, with a success classification of 57,1% for MA and 69,6% for RN, despite the high variability among otoliths shapes. The fractal dimension was a powerful descriptor to discriminate the two samples in this work, since the significance in all cases and high DSC value. Differences in sagittal otoliths shape, possibly are due to different growth rates, added evidences to confirm the two stocks hypotheses of *C. hippurus* along the Brazilian coast.

Key Words: otolith shape, shape descriptors, multivariate analysis, *Coryphaena hippurus*, fish stock.

1. INTRODUÇÃO

A identificação de unidades de estoques é um requerimento indispensável na avaliação das pescarias modernas e, em consequência, no manejo efetivo das espécies em exploração (BEGG *et al.*, 1999). Para atingir integralmente tal estratégia de manejo, é necessária a reavaliação dos estoques, particularmente, quando suas condições de exploração ou biológicas mudam, ou quando tecnologias mais eficientes para determinação de estoques tornam-se disponíveis (BEGG e WALDMAN, 1999), tal como o avanço da tecnologia dos sistemas de análise de imagens (CADRIN e FRIEDLAND, 1999). Neste contexto, serão utilizados neste trabalho alguns métodos estatísticos multivariados, em combinação com sistemas de análise de imagens para a reavaliação da estrutura do estoque de *Coryphaena hippurus* (LINAEUS, 1758) na costa do Brasil, tendo como base, as diferenças fenotípicas (vide cap. 2) do otólito inteiro.

A detecção do som em peixes envolve o ouvido interno e, em algumas espécies, estruturas periféricas do ouvido que intensificam esta detecção. Nos peixes, como em outros vertebrados, o ouvido interno apresenta 3 canais semicirculares e 3 órgãos otolíticos: o utrículo, a lagena, e o sáculo (Figura 1) (POPPER E LU, 2000). Cada órgão otolítico contém um único otólito calcário que é, aproximadamente, 3 vezes mais denso que o resto do corpo do peixe. Esses otólitos, o sagita (sáculo), o asteriscu (lagena), e o lápilus (utrículo), repousam sobre um epitélio sensorial (mácula), e estão conectados por uma fina membrana otolítica (LECOMTE-FINIGER, 1999; POPPER E LU, 2000).

Os otólitos (do grego *oto*: ouvido e *lito*: pedra), são constituídos de cristais de carbonatos de cálcio inseridos numa matriz protéica (proteínas representam 0,2 a 10% da composição do otólito) (LECOMTE-FINIGER, 1999), os quais são regulados pelo ritmo endógeno do metabolismo de cálcio (Migiya, 1987 *apud* MORALES-NIN, 2000) e pela secreção de neropeptídeo no ouvido interno (GAUDIE e NELSON, 1988). Sua formação começa a partir do *primordium* ou zona central do otólito, secretado pelo ouvido interno, que é, geralmente, o primeiro tecido calcificado no embrião (LECOMTE-FINIGER, 1999; DUNKELBERGER *et al.*, 1980 *apud* MORALES-NIN, 2000). O núcleo é formado quando a primeira unidade descontínua é depositada

(DUNKELBERGER *et al.*, 1980 *apud* MORALES-NIN, 2000). Isso geralmente corresponde ao nascimento, à primeira alimentação ou ao início da atividade do peixe (MORALES-NIN, 1992).

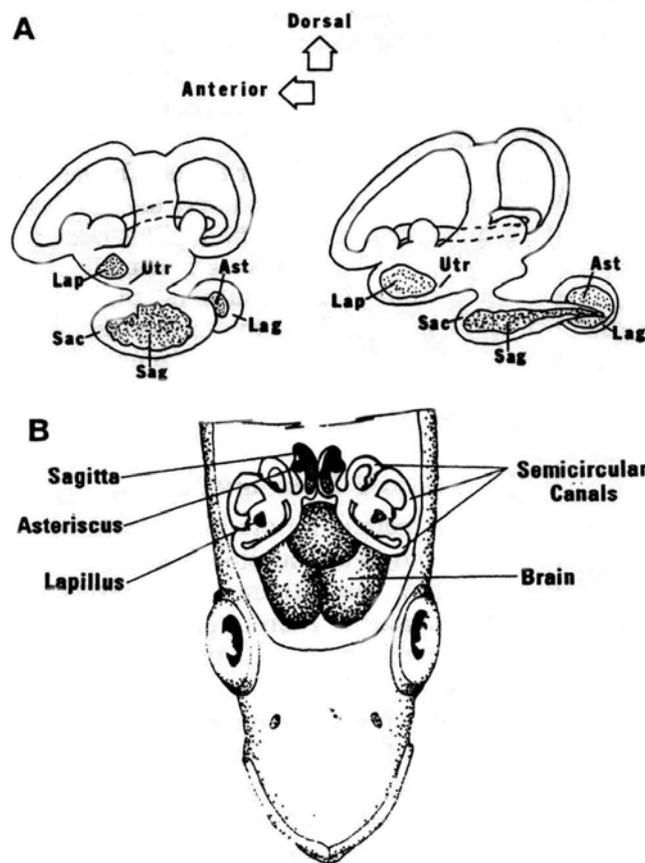


Figura 1.1. Anatomia do ouvido interno. (A) otólitos com a representação do sistema labirinto de peixes teleostes (B) vista dorsal do aparato vestibular de um típico teleosteo. Ast=asteriscus; Lag=vestíbulo lagenar; Lap=lapillus; Sac=vestíbulo sacular; Sag=sagitta; sc=canais semicirculares; utr= vestibulo utricular.

Os otólitos possuem as funções de equilíbrio e audição. Em relação a última, a frequência de som particular que otólito responde, como um transdutor, depende da sua forma (GAULDIE, 1988). Isto implica que a forma do otólito, e uma certa proporção entre sua forma e a área sensorial, mantêm-se durante a vida (LOMBARTE e POPER, 1994), já que a distribuição de morfotipos de otólitos reflete adaptações para otimizar a sobrevivência no contexto de diferentes sons ambientais (GAULDIE e CRAMPTON, 2002).

A forma do otólito em peixes é, geralmente, complexa e altamente espécie-específica (NOLF, 1985; GAEMER, 1984) e, como outros caracteres morfológicos espécie-específicos, apresenta freqüentemente variação clinal relativa a distância, locação geográfica (WORTHMAN, 1979) e ou profundidade (WILSON, 1985). Isto faz com que essa variação possa ser explorada como uma ferramenta para a discriminação de estoques (BIRD *et al.*, 1986).

Lombarte e Castellón (1991) mostraram como a forma do otólito é regulada pela espécie e, em menor grau, pelos fatores ambientais. Em adicional, Gaudie (1988) descreveu como a forma do otólito pode ser controlada por diversos fatores, tais como a forma da cápsula ótica e do crânio, e a marcação e descontinuidade no crescimento do otólito controlado pela mácula. Conseqüentemente, os estímulos fornecidos à mácula são provocados pelas variações das condições ambientais, bem como fotoperíodo, temperatura e regime alimentar (LECOMTE-FINGER, 1999). Tais características fazem com que o otólito seja uma estrutura ideal para ser utilizada em identificação de estoques, pois contém uma gama de medidas características, incluindo densidade ótica, zonação microestrutural e padrões de crescimento, elementos constituintes e morfometria linear e da forma (CAMPANA e NEILSON, 1985). Esta última, em particular, tem sido bastante empregada na identificação de estoques de peixes marinhos, incluindo a cavalinha, *Scomber scombrus* (CASTONGUAY *et al.*, 1991), merluza, *Merluccius bilinearis* (BOLLES e BEGG, 2000), bacalhau, *Melanogrammus aeglefinus* (BEGG *et al.*, 2000) e cavala branca, *Scomberomorus cavalla* (DE VRIES *et al.*, 2002).

O dourado, *C. hippurus*, é uma espécie pelágica, oceânica e circuntropical, comum nas águas dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (JOHNSON, 1978, *apud* CASTRO *et al.*, 1999) e é geralmente limitada pela isoterma de 20° C (GIBBS & COLLETE, 1959, *apud* CASTRO *et al.*, 1999). Possuem grande importância nas pescarias esportivas e comerciais de todo mundo (PALKO, *et al.*, 1982). Segundo LESSA (2003), o dourado corresponde cerca de 18% das capturas da frota atuneira no Atlântico Equatorial e 17% da pesca artesanal ao longo da costa nordeste do Brasil, onde são capturados por uma frota de pequena escala, cujos barcos têm acesso facilmente às águas profundas devido a estreita plataforma continental.

Em relação aos seus padrões de migração, Oxenford e Hunte (1986), baseados na sazonalidade das pescarias de dourado, tamanho médio de captura, história de vida e características genéticas dessa espécie, propuseram dois circuitos migratórios no nordeste e sudeste do Caribe. Eles sugerem um circuito migratório nordeste incorporando, o norte das ilhas do Caribe, o sudoeste dos Estados Unidos e Bermuda; e um circuito sudeste (Figura 2), incorporando o sudeste das ilhas do Caribe e a costa norte e nordeste do Brasil. Acredita-se que os dourados que seguem o circuito nordeste viajam em sentido noroeste das proximidades de Porto Rico em fevereiro, através das Bahamas em abril/maio, até a Flórida e Geórgia em maio/junho, Carolina do Norte e Sul em junho/julho, e então retornam em direção sudeste, pelo Atlântico, passando pelas Bermudas em julho/agosto e atingindo as Ilhas Virgens e Porto Rico novamente em novembro/dezembro. Já os que seguem o circuito sudeste, acredita-se que viajem em sentido norte, passando por Granada em fevereiro/março, St. Vicent, Barbados, St. Lucia e Martinica em março/abril e então retornam em direção sudeste pelo Atlântico, descendo a costa nordeste da América do Sul (OXENFORD e HUNTE, 1986).

De acordo com este esquema, poderia ser possível que picos de abundância no nordeste do Brasil ocorressem em algum momento entre junho e janeiro. Ainda, considerando-se as distâncias entre as Ilhas Virgens e a costa nordeste do Brasil, seriam aceitáveis altas abundâncias ocorrendo no Brasil em setembro (LESSA, 2003). Contudo, em estudos realizados por este autor, também baseado na sazonalidade das pescarias de dourado e tamanho médio de captura, é sugerido outro circuito migratório restrito a costa leste do Brasil (Figura 2), do Rio Grande do Norte (RN) – Pernambuco (PE), de maio a julho, passando pela Bahia (BA), de setembro a dezembro, até a costa do Espírito Santo (ES), de novembro a fevereiro. Sobre essa perspectiva, o circuito seria finalizado por um movimento ao norte, retornando a baixas latitudes (RN em maio).

Entrementes, diferenças no tamanho dos indivíduos nas áreas estudadas sugerem diferentes níveis de exploração entre os estoques do Brasil e do Caribe. A ocorrência de dois estoques diferentes ao longo da costa brasileira, definidos em base dos tamanhos (LESSA, 2003), compõe um conjunto de hipóteses que ainda necessita ser provado.

Além dos fatores migratórios e das diferenças de tamanho entre os dois estoques, foi observado, em estudo anterior sobre idade e crescimento do dourado, uma grande variação na forma dos otólitos coletados (LESSA, 2003). Assim, uma análise da forma do otólito se faz necessária para determinar como se comporta a variabilidade do otólito de *C. hippurus*, se estas variações são provocadas pela inserção de dois estoques na amostra ou se constituem apenas uma variação individual, o que não diminui a possibilidade de haver dois estoques desta espécie na região.

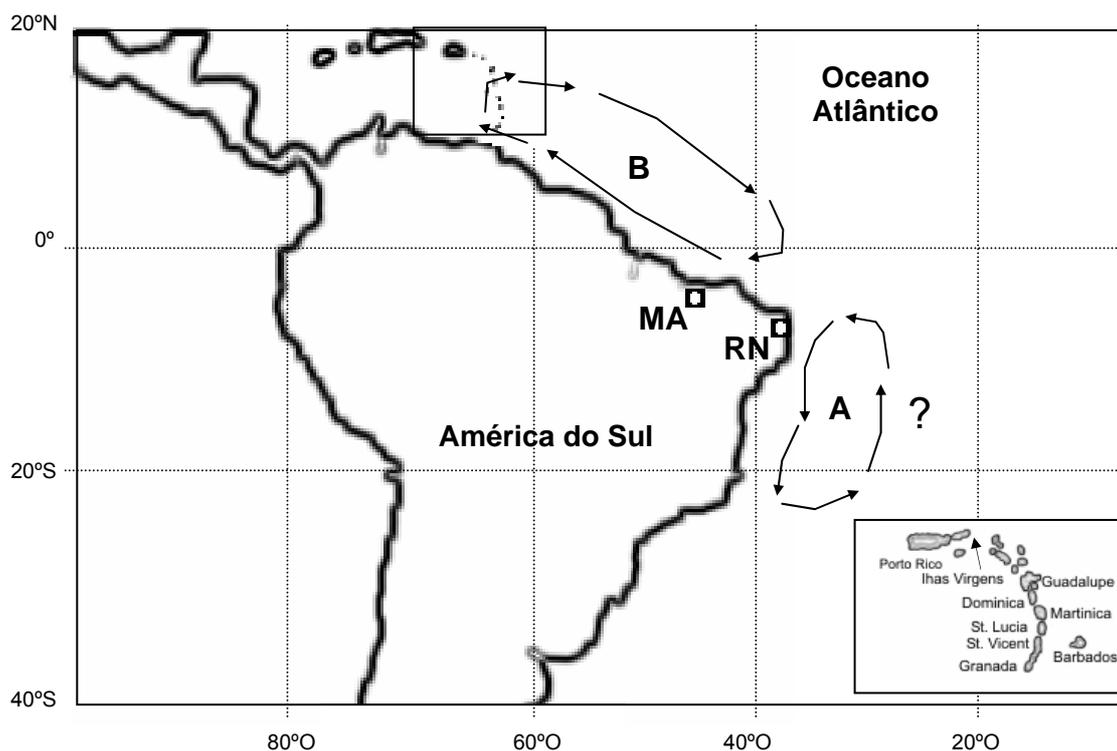


Figura 1.2. Esquemas de migração e local dos supostos estoques de dourado, *Coryphaena hippurus*, sugeridos por Lessa, 2003 (A) e Oxenford e Hunte, 1986 (B), na costa nordeste da América do Sul. Os pontos brancos mostram os estados onde foram amostrados o par de otólitos sagita (MA – Maranhão e RN – Rio Grande do Norte). A figura no canto direito representa o zoom da região indicada no mapa por um retângulo.

Conseqüentemente, devido às incertezas sobre a definição dos estoques de *C. hippurus*, explorados na costa da região Nordeste do Brasil, este trabalho teve como objetivo realizar a análise da forma do otólito sagita, a fim de verificar o comportamento da variabilidade geral da forma e encontrar características morfométricas únicas que possibilitem separar os supostos estoques. Estes objetivos foram abordados através da obtenção e avaliação de

diversos descritores da forma do otólito inteiro, utilizando técnicas de processamento de imagem e análise multivariada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Identificação de estoques pesqueiros pode ser simples e qualitativo, como a observação de diferentes períodos de passagem de uma espécie anádroma em um único rio, ou pode ser altamente complexa e quantitativa, requerendo técnicas de laboratório e análises estatísticas (BEGG e WALDMAN, 1999).

Por esta razão, a identificação de estoques apresenta-se como uma área multidisciplinar da ciência pesqueira, envolvendo genética, biometria e estudos da história de vida (IHSEN *et al.*, 1981; BEGG *et al.*, 1999). Por exemplo, em um retrospecto da história da identificação de estoques de *Morone saxatilis*, Waldman *et al.* (1988) encontraram que a identificação de estoques foi baseada sobre: dados de captura, marcação e recaptura, merística, morfometria, morfologia da escama, parasitas, citogenética, electroforesis, imunogenética, DNA mitocondrial, e DNA nuclear. Abordagens adicionais, como mensuração de isótopos estáveis (ROELKE e CIFUENTES, 1997), análise da forma do otólito (CAPANA e CASSELMAN, 1993), marcação termal (VOLK *et al.*, 1999), entre outros, foram aplicadas para outros peixes.

Uma definição geral do termo estoque geralmente envolve um grupo de indivíduos auto-sustentáveis por todo o tempo, mas definições precisas variam entre disciplinas. Por exemplo, a variação morfométrica pode ser usada para discriminar “estoques fenotípicos”, definidos como grupos de indivíduos de uma espécie que possuem, em comum, caracteres que são ambientalmente dependentes (BOOKE, 1981).

2.1. Identificação de Estoques Baseado em Morfometria

A variabilidade no crescimento, desenvolvimento, e maturação criam uma variedade de formas do corpo dentro de uma espécie. Algumas características ontogenéticas são ocultadas ou substituídas pelo desenvolvimento seguinte, mas outros persistem como um registro de uma história de vida individual. Efeitos interativos do ambiente, da seleção, e da

genética na ontogenia individual produzem diferenças morfométricas dentro de uma espécie (CADRIN, 2000).

Apesar desta sensibilidade ao ambiente, taxas ontogenéticas influenciam a taxa de crescimento de uma população e a resposta do estoque à exploração (GARROD e HORWOOD, 1984). Conseqüentemente, grupos intra-específicos com diferenças estáveis na história de vida necessitam ser identificados, a fim de se obter modelos de dinâmica de populações precisos para avaliação de estoques e manejo, independentemente de diferenças ou similaridades genéticas (CARVALHO e HAUSE, 1994). A identificação baseada na morfometria pode discriminar tais grupos pela focalização em características que mudam com o desenvolvimento ou maturação.

2.2. Avanços dos Métodos Morfométricos

O trabalho pioneiro de Thompson (1917, *apud* CADRIN e FRIEDLAND, 1999; CADRIN, 2000) sugeriu que a variação morfométrica pode ser explicada pela simples transformação de características similares em espaços de coordenadas. Apesar de que o embasamento geométrico fosse atrativo, eram difíceis de quantificar ou testar.

Quantificações de variações morfométricas foram primeiramente limitadas ao crescimento relativo de dimensões lineares bivariadas, denominada alometria (HUXLEY, 1932 *apud* CADRIN e FRIEDLAND, 1999; CADRIN, 2000). Por exemplo, Huxley mostrou que o tamanho relativo dos caracteres sexuais secundários de crustáceos podem indicar idade de maturação (CADRIN e FRIEDLAND, 1999; CADRIN, 2000). Inspirado por Huxley, Templeman (1935,) encontrou diferenças alométricas entre estoques geográficos da lagosta Americana, *Homarus americanus* (CADRIN, 2000).

Métodos alométricos bivariados são ineficientes para a classificação de estoques, pois somente duas dimensões lineares são consideradas (CADRIN e FRIEDLAND, 1999). Tessier (1938 *apud* CADRIN e FRIEDLAND, 1999) estendeu a teoria alométrica através da análise de componentes principais para resolver a covariância entre múltiplas dimensões morfométricas com o objetivo de se estudar o dimorfismo sexual de caranguejos aranha (*Maja*

squinado). Teissier foi o primeiro a interpretar o primeiro componente principal dos dados morfométricos como um índice multivariado de tamanho e os componentes secundários como índices da forma (REYMENT, 1990). Jolicoeur (1963) ilustrou como os desvios da isometria podem ser quantificados pela análise de componentes principais.

Um conjunto de técnicas estatísticas multivariadas tem sido desenvolvido e aplicado à morfometria. Técnicas como análise de componentes principais, análise das variáveis canônicas e de funções discriminantes são extremamente úteis na ordenação dos dados morfométricos, pois permitem que parâmetros biológicos subjacentes às relações morfológicas entre indivíduos ou grupos possam ser mais facilmente detectados e interpretados (MONTEIRO e REIS, 1999).

Nas últimas duas décadas, o desenvolvimento de técnicas de captura e processamento de imagens digitais tem revolucionado as pesquisas morfométricas. A morfometria multivariada tradicional é agora mais efetiva para a identificação de estoques devido à melhora da coleta de dados e da descrição mais efetiva da forma. Imagens digitais podem ser capturadas por câmeras digitais ou por sistemas de vídeos acoplados a um computador. Aquisição de imagens por vídeo tem se tornado uma ferramenta para a rápida coleta de muitas medidas morfométricas, com mais precisão que os métodos manuais (ROHLF, 1990). Contudo, a rápida coleta de dados, facilitada pela análise de imagem, é perigosa, pois a estabilidade das análises multivariadas depende da proporção de observações (n) pelas variáveis (p); n precisa ser maior que p , e o poder analítico aumenta com o aumento da proporção de $n:p$.

Com o desenvolvimento da análise de processamento de imagens, surgiram métodos geométricos mais avançados para a pesquisa morfométrica (ROHLF e BOOKSTEIN, 1990). A morfometria geométrica pode ser dividida em duas categorias gerais, “métodos de contorno” e “métodos de marcos anatômicos”. Métodos de contorno usam funções trigonométricas (e.x. polinomiais, séries de Fourier) ou outras funções empíricas para representar coordenadas do contorno da forma (ROHLF e BOOKSTEIN, 1990).

As séries de Fourier descrevem os contornos por meio de descritores chamados de harmônicas. A amplitude de cada harmônica representa a contribuição relativa para a forma empírica de um objeto, isto é, a amplitude da

segunda harmônica é uma media de alongamento, a terceira de triangularidade, etc. (BIRD *et al.*, 1986). Vários estudos foram bem sucedidos usando transformações de Fourier de escamas ou otólitos para discriminar estoques. Jarvis *et al.* (1978, *apud* TUSET *et al.*, 2003) foram os primeiros a aplicar séries de Fourier em escamas para diferenciar estoques pesqueiros. Descrições da forma dos otólitos usando séries de Fourier foram mais tarde usados para separar estoques de *Coregonus clupeformis* (CASSELMAN *et al.*, 1981), *Clupea herengus* (BIRD *et al.*, 1986), *Salmo salar* (FRIEDLAND e REDDIN, 1994), *Scomber scombus* (CASTONGUAY *et al.*, 1991), entre outros.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Coleta da Amostra

As amostras de dourado foram coletadas em dezembro 2003 e abril a maio de 2004, provenientes de exemplares desembarcados pela frota artesanal em duas áreas da Região Nordeste do Brasil, a primeira na costa do Maranhão (MA) e a segunda na costa do Rio Grande do Norte (RN) (Figura 1.2), a fim de se obter uma amostra representativa dos dois supostos estoques. Os indivíduos foram limitados ao grupo de idade entre 0,5 a 1,2 anos. As idades foram estimadas a partir dos parâmetros de crescimento determinados por Lessa *et al.* (2004). De cada indivíduo foram registrados o comprimento zoológico, o sexo, a partir do dimorfismo sexual existente na parte frontal da cabeça (Figura 3.1), e retirado o par de otólitos sagita, totalizando 82 otólitos (35 – MA; 47 – RN). Em laboratório, os otólitos foram limpos e acondicionados em tubos de Ependorf a seco.



Figura 3.1. Exemplares de *Coryphaena hippurus* (A = macho e B= fêmea).

3.2. Aquisição das Imagens e Variáveis do Otólito

Os otólitos direito e esquerdo foram orientados com o *sulcus acusticus* voltado para cima e o *antirostrum* para o lado esquerdo (Figura 3.2). As imagens (Figura 3.3) foram obtidas através de um sistema de vídeo acoplado a

um microscópio estereoscópico e ligado a um microcomputador. O tratamento das imagens foi realizado através do programa de Tratamento Numérico de Estruturas Calcificadas (TNPC), desenvolvido pelo Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER). A partir deste programa foram obtidas as variáveis perímetro, área, comprimento do otólito, retangularidade, circularidade e excentricidade. Um programa em linguagem C, denominado WINFAS, foi desenvolvido para a determinação da dimensão fractal do otólito, através do método de contagem de caixas (box-counting). A análise de Fourier elíptica (EFA), para a obtenção dos coeficientes de Fourier, foi realizada no programa SHAPE ver. 1.2 (HIROYOSHI IWATA, 2002).

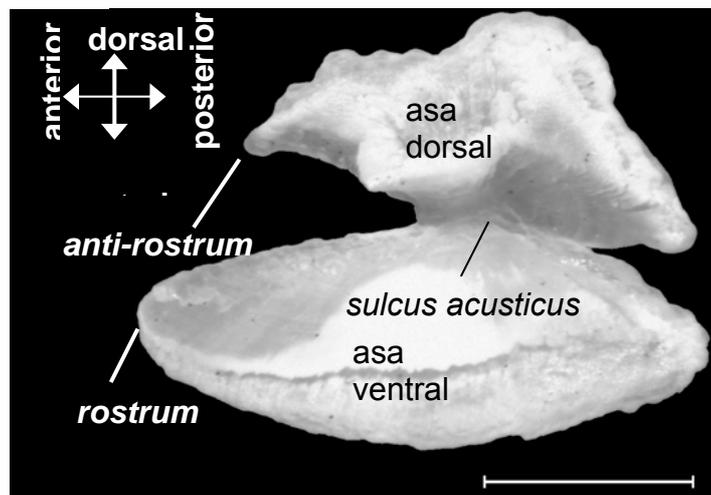


Figura 3.2. Face interna de um otólito sagita direito de dourado, *Corypahena hippurus* (linha = 1mm).

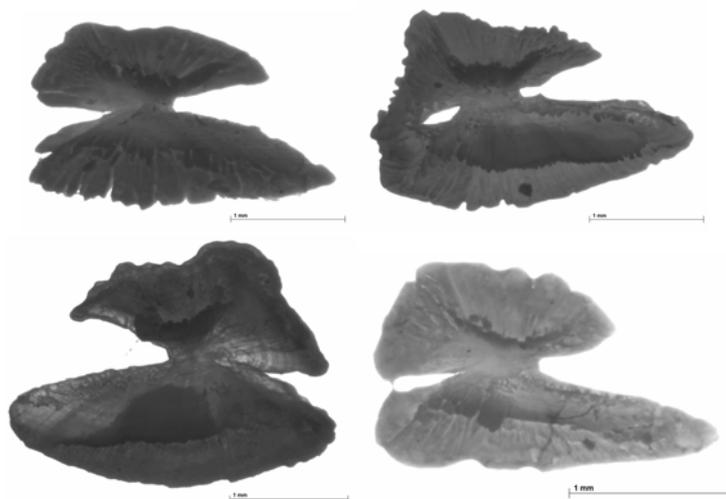


Figura 3.3. Exemplos de imagens de otólitos de *Coryphaena hippurus*, obtidas a partir do programa TNPC (linha = 1mm).

3.3. Descrição das Variáveis

Neste capítulo serão abordados todos os tipos de descritores da forma do otólito de *C. hippurus* utilizados no presente estudo, os quais foram escolhidos de forma que se pudesse avaliar sobre vários aspectos, desde características simples até mais complexas, qual o nível de similaridade entre os otólitos das duas amostras.

3.3.1. Descritores Básicos da Forma

- Área (TROADEC e BENZONOU, 2002) (Figura 3.4):

$$(1) \quad A(x) = \sum_{ij} g(x_i, y_j),$$

com: $g(x_i, y_j) = 1$ se $\in X$ e $g(x_i, y_j) = 0$ se $\notin X$

- Perímetro (TROADEC e BENZONOU, 2002) (Figura 3.5):

$$(2) \quad P(X) = \frac{a}{4} \left[a(N_{0^\circ} + N_{90^\circ}) + \frac{a}{\sqrt{2}} (N_{45^\circ} + N_{135^\circ}) \right],$$

soma dos pixels da borda em diferentes direções corrigidos para partes diagonais, onde a = tamanho do pixel e N_0 , N_{90} , N_{45} e N_{135} = soma de pixels para os ângulos 0, 90, 45 135°.

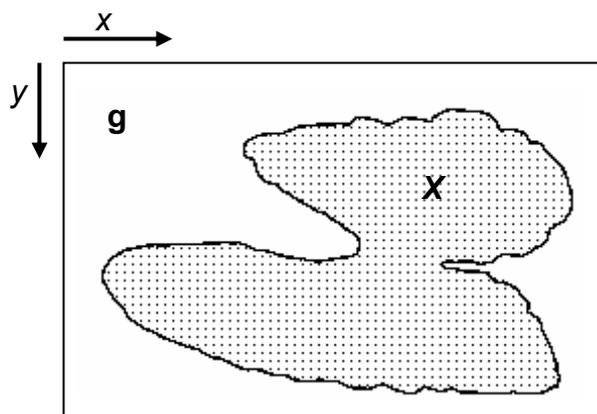


Figura 3.4. Ilustração gráfica da variável área (A) utilizada para caracterizar o otólito sagital de dourado, *Coryphaena hippurus*, das diferentes regiões de coleta da costa nordeste do Brasil.

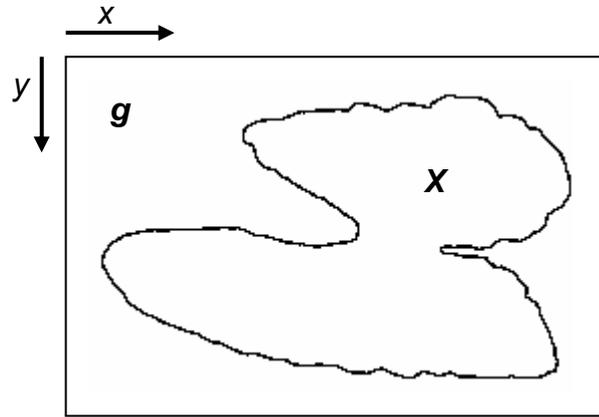


Figura 3.5. Ilustração gráfica da variável perímetro (P) utilizada para caracterizar o otólito sagital do dourado, *Coryphaena hippurus*, das diferentes regiões de coleta da costa nordeste do Brasil.

3.3.2. Índices da Forma

- Retangularidade – descreve a variação do comprimento e largura com respeito a área; 1,0 representa um retângulo perfeito:

$$(3) \quad RE = \frac{A}{F_{\max} \cdot F_{\min}}$$

onde F_{\max} e F_{\min} correspondem, respectivamente, ao comprimento e largura máxima do menor retângulo capaz de envolver o otólito.

- Circularidade – Este índice mede a similaridade de uma estrutura a um círculo perfeito, possuindo valor mínimo de 4π (12,57):

$$(4) \quad CI = \frac{P^2}{A}$$

- Excentricidade – A excentricidade é calculada a partir dos momentos de segunda ordem do contorno:

$$(5) \quad E = \frac{(4\pi)^2 (M_{2x} - M_{2y})^2 + 4M_{2xy}^2}{A^2}$$

onde:

$$(6) \quad M_{2x} = \frac{1}{A} \sum (x_i - M_{1x})^2$$

$$(7) \quad M_{2y} = \frac{1}{A} \sum (y_i - M_{1y})^2$$

$$(8) \quad M_{2xy} = \frac{1}{A} \sum (x_i - M_{1x})(y_i - M_{1y})$$

e (x,y) representam as coordenadas de um ponto de um objeto na imagem. A posição do centro de gravidade da silhueta é definida a partir dos momentos de ordem 1:

$$(9) \quad M_{1x} = \frac{1}{A} \sum x_i$$

$$(10) \quad M_{1y} = \frac{1}{A} \sum y_i$$

3.3.3. Dimensão Fractal

A dimensão fractal do contorno do otólito também foi considerada, dado que as medidas fractais são bastante aplicadas em diferentes problemas acerca de processamento de imagem e reconhecimento de padrões (COSTA E CESAR, 2001).

Quando se fala da dimensão fractal de um objeto, refere-se a uma medida de quanto este objeto difere de sua dimensão topológica. Por exemplo, uma linha muito sinuosa apresenta dimensão topológica igual a 1 (pois é uma linha, se fosse 2 seria um plano). No entanto, a quantidade de convoluções nesta linha, em várias escalas diferentes de observação, pode fazer com que ela seja aproximadamente uma estrutura bidimensional. A dimensão fractal será um número entre 1 e 2. Desta forma, a análise fractal não permite a comparação de contornos com relação a forma, mas sim quanto a sua complexidade, podendo-se dizer que quanto mais alta a dimensão fractal, mais complexa será a estrutura (COSTA e CEZAR, 2001; MONTEIRO e REIS, 1999).

O método de contagens de caixas (box-counting), utilizado neste trabalho, é um dos mais populares para se determinar a dimensão fractal. Ele possui o seguinte procedimento básico: dividi-se a área do conjunto analisado em um

certo número de caixas de tamanho r (Figura. 3.6). Conta-se o número de caixas, $N(r)$, nas quais existem pelo menos um ponto do conjunto. Reduz-se sucessivamente o tamanho das caixas e mede-se, a cada vez, o número de caixas que possuam pelo menos um ponto do conjunto. Traça-se um gráfico do logaritmo de $N(r)$ em função do logaritmo de $1/r$ e determina-se a dimensão fractal pela inclinação do gráfico (b) (NUSSENZVEIG, 1990; BASSINGTHWAIGHTHE *et al.*, 1994), ou seja,

$$(11) \quad d_{\text{box-counting}} = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\log N(r)}{\log \left(\frac{1}{r} \right)}$$

No programa WINFAS, os tamanhos da caixa variaram em $r + 1$, iniciando com tamanho igual a 1 pixel, a fim de se obter uma estimacão mais precisa da dimensão fractal.

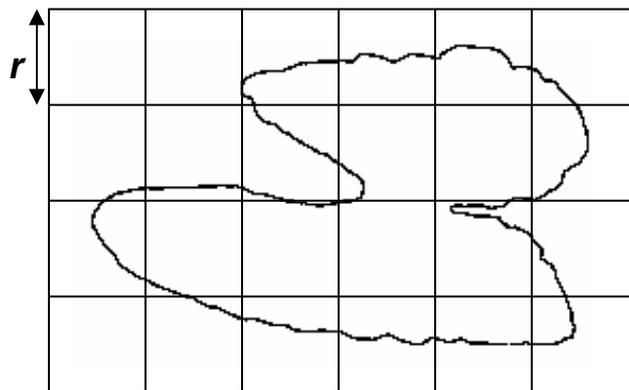


Figura 3.6. Exemplo de um conjunto de caixas de tamanho r na determinaco da dimensão fractal pelo método de contagem de caixas (box-counting).

3.3.4. Coeficientes de Fourier

Análise de Fourier do contorno do otólito resulta em uma descrio matemática de uma silhueta que pode ser usada tanto para descrever como comparar formas de otólitos quantitativamente (BIRD *et al.*, 1986). Uma das vantagens de se utilizar esta técnica  prover descritores que podem ser interpretados invariantes com respeito a tamanho, translao e rotao (DIAZ *et al.*, 1997).

Diferentes variações de análise Fourier existem para contornos fechados, como: análise de Fourier para ângulos igualmente espaçados, de ângulos tangentes, em dois eixos e elíptica (MONTEIRO E REIS, 1999; ROHLF e ARCHIE, 1984). No presente trabalho, a última foi escolhida como método para determinação dos componentes de Fourier, pois é mais eficiente com respeito a flexibilidade e consistência dos resultados (ROHLF e ARCHIE, 1984).

Este método, desenvolvido por Kuhl e Giardina (1982), propõe a decomposição do contorno pela variação em coordenadas x e y , separadamente (Δx e Δy), como funções paramétricas da distância em corda cumulativa (t) ao longo do contorno. Esta distância é proporcionalizada de modo que varie sempre de 0 a 2π ao longo de todo o contorno. As duas funções paramétricas são definidas em $x(t)$ e $y(t)$, respectivamente, como

$$(6) \quad x(t) = A_0 + \sum_{n=1}^N a_n \cos nt + \sum_{n=1}^N b_n \operatorname{sen} nt \quad ,$$

e

$$(12) \quad y(t) = C_0 + \sum_{n=1}^N c_n \cos nt + \sum_{n=1}^N d_n \operatorname{sen} nt \quad ,$$

onde a_n , b_n , c_n e d_n são os coeficientes (amplitudes) da harmônica n ; e N é igual ao número máximo de harmônicas (LESTREL, 1997; MONTEIROS e REIS, 1999). Os coeficientes de Fourier para a projeção x são

$$(13) \quad a_n = \frac{1}{n^2 \pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} [\cos(nt_p) - \cos(nt_p - 1)] \quad ,$$

e

$$(14) \quad b_n = \frac{1}{n^2 \pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} [\operatorname{sen}(nt_p) - \operatorname{sen}(nt_p - 1)] \quad ,$$

onde q é o total de pontos ao longo do polígono; t_p é a distância entre o ponto p e o ponto $p + 1$ ao longo do polígono; e x_p e y_p são as respectivas projeções do segmento p a $p + 1$. Os coeficientes de Fourier para a projeção y são

$$(15) \quad c_n = \frac{1}{n^2 \pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} [\cos(nt_p) - \cos(nt_p - 1)] \quad ,$$

e

$$(16) \quad d_n = \frac{1}{n^2 \pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} [\text{sen}(nt_p) - \text{sen}(nt_{p-1})] \quad ,$$

Além dos 4 coeficientes a_n , b_n , c_n e d_n que precisam ser calculados, duas constantes, A_0 e C_0 , também necessitam ser estimadas. As constantes B_0 e D_0 são iguais a zero. As duas primeiras constantes são calculadas da seguinte forma:

$$(17) \quad A_0 = \frac{1}{2\pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta x_p}{2\Delta t_p} [t_p^2 - t_{p-1}^2] + \alpha_p [t_p - t_{p-1}] \quad ,$$

e

$$(18) \quad C_0 = \frac{1}{2\pi} \sum_{p=1}^q \frac{\Delta y_p}{2\Delta t_p} [t_p^2 - t_{p-1}^2] + \beta_p [t_p - t_{p-1}] \quad ,$$

Os termos α_p e β_p necessários acima são derivados de

$$(19) \quad \alpha_p = \sum_{j=1}^{p-1} \Delta x_n - \left[\frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \sum_{j=1}^{p-1} \Delta t_j \right] \quad ,$$

e

$$(20) \quad \beta_p = \sum_{j=1}^{p-1} \Delta y_n - \left[\frac{\Delta y_p}{\Delta t_p} \sum_{j=1}^{p-1} \Delta t_j \right] \quad ,$$

onde $\alpha_1 = \beta_1 = 0$.

Cada uma das harmônicas possui nesta análise quatro parâmetros, diminuindo a quantidade de harmônicas necessárias para descrever um contorno em relação a outros métodos, mas não necessariamente diminuindo a dimensionalidade (MONTEIRO e REIS, 1999).

3.4. Análise Estatística dos Dados

Todas as variáveis morfométricas foram primeiramente examinadas quanto a normalidade e homogeneidade de variâncias e devidamente transformadas antes de qualquer análise estatística, casos estes critérios não fossem atendidos. Para todas as medidas morfométricas, com exceção dos componentes de Fourier, foi determinado o efeito do comprimento do otólito na

magnitude de cada variável utilizando a análise de covariância (ANCOVA). Variáveis correlacionadas significativamente com o comprimento do peixe foram corrigidas utilizando o coeficiente angular (b) comum dentre os grupos.

Através da análise de variância multivariada (MANOVA), foi comparada a simetria entre o otólito direito e esquerdo e verificada diferenças nos otólitos entre sexos, com o propósito de verificar se estes fatores possuem alguma influência na variação da forma do otólito.

Para se avaliar a existência de padrões de forma entre os otólitos de *C. hippurus* de maneira imparcial, ou seja, sem a definição a priori de grupos, duas técnicas multivariadas foram lançadas, utilizando a matriz de dados dos componentes de Fourier, obtidos a partir da Análise de Fourier Elíptica (AFE). A primeira foi a análise de agrupamento (AG) através do critério de Ward, utilizando distâncias Euclidianas como indicador de similaridade entre os otólitos, e a segunda foi a análise de componentes principais (ACP). Esta última também foi aplicada a fim de se reduzir a dimensionalidade dos dados. Sendo assim, foram utilizados, como variáveis na análise multivariada entre as regiões, os escores do conjunto de componentes principais que apresentaram o máximo de informações em termos de variância total contidas nos dados iniciais.

A MANOVA foi utilizada para comparar as amostras de otólitos de *C. hippurus* entre as duas regiões. A análise de variância univariada (ANOVA) foi então aplicada para examinar individualmente as variáveis morfométricas e explicar qualquer diferença detectada pela MANOVA.

A performance de classificação baseada em um único descritor foi avaliada usando a Distância de Separação entre Classes (DSC), o que permite determinar quais dos descritores da forma usados neste trabalho maximiza a separação das classes.

Posteriormente, foi realizada a análise discriminante canônica, a fim de detectar diferenças morfométricas entre as regiões estudadas. Variáveis canônicas significantes ($p < 0.05$) representaram as combinações ótimas de regiões e variáveis morfométricas que produziu a melhor discriminação geral entre os grupos. Coeficientes padronizados de cada variável significativa representaram a contribuição de cada variável morfométrica para a discriminação da amostra de *C. hippurus* entre os estados. O procedimento de

classificação jack-knife foi utilizado para gerar uma matriz de classificação não tendenciosa.

Todas as análises estatísticas foram realizadas nos programas MINITAB ver. 13.2 (MINITAB Inc.) e STATISTICA ver. 6.0 (StatSoft Inc.).

3.5. Descrição dos Métodos Estatísticos

3.5.1. Correção das Variáveis da Forma

O modelo para correção das variáveis da forma do otólito que foram correlacionadas significativamente ao comprimento do peixe é o seguinte (LLEONART *et al.*, 2000):

$$(21) \quad Y_i^* = Y_i (X_0 / X_i)^b.$$

onde, Y_i é a i – ésima observação da variável morfométrica Y ; X_0 é comprimento zoológico médio; X_i é o comprimento zoológico do indivíduo i ; e b é o coeficiente angular comum dentre os grupos, obtido a partir da ANCOVA. Esta equação converte qualquer observação particular (X_i , Y_i) em um ponto teórico (X_0 , Y_i^*) de modo que todas as observações X_i serão normalizadas para um único X_0 , mantendo o fator da forma particular para cada indivíduo.

3.5.2. Análise de agrupamento pelo critério de Ward

O critério de Ward baseia-se na perda de informações resultante do agrupamento dos indivíduos e medidas através da soma dos quadrados dos desvios das observações individuais, relativo às médias dos grupo em que são classificadas. Este método pode ser resumido nas seguintes etapas:

- a. Primeiro são calculadas as médias das variáveis para cada grupo;
- b. Em seguida, é calculado o quadrado da distância Euclidiana entre médias e os valores das variáveis para cada indivíduo;
- c. Somam-se as distâncias para todos os indivíduos;
- d. Por último, pretende-se otimizar a variância mínima dentro dos grupos.

A função objetivo que se pretende minimizar é também chamada soma dos quadrados dos erros (ESS) ou soma dos quadrados dentro dos grupos (WSS).

No início do processo de agrupamento, cada indivíduo constitui um grupo e $WSS = 0$. Em seguida, são agrupados os dois indivíduos que provocam um aumento mínimo no valor da soma dos quadrados dos erros, passando a existir $n - 1$ grupos; estes $n - 1$ grupos são reexaminados e transformados em $n - 2$ grupos, mas de tal modo que o aumento na função objetivo seja minimizado; o processo continua de forma sistemática até todos os indivíduos formarem um grupo apenas.

3.5.3. Análise de Componentes Principais (ACP)

ACP é uma técnica bastante utilizada para avaliar padrões de variação e covariação dentro e entre um conjunto de amostras, como populações e espécies, sem definir a priori os grupos de interesse. Tem como propósito tomar p variáveis X_1, X_2, \dots, X_p correlacionadas e encontrar combinações destas que produzam índices Z_1, Z_2, \dots, Z_p não correlacionados, denominados componentes principais. De acordo com Manly (1986), a necessidade da correlação entre as variáveis originais é uma profícua propriedade, pois significa que os índices são mensurações de diferentes dimensões nos dados. Caso as variáveis não sejam correlacionadas, não há sentido na realização desta análise.

Os componentes principais são definidos da seguinte maneira:

$$(22) \quad Z_i = a_{1i} X_1 + a_{2i} X_2 + \dots + a_{pi} X_p = \sum_{j=1}^p a_{ij} X_j,$$

onde, Z_i = i -ésimo componente principal ($i = 1, 2, \dots, p$);

X_j = j -ésima variável ($j = 1, 2, \dots, p$);

a_{ij} = coeficiente de ponderação da j -ésima variável no i -ésimo componente.

Estas novas variáveis Z_i são combinações lineares das variáveis originais e são deduzidas em ordem decrescente de importância, de modo que o primeiro componente principal contém o máximo possível da variação nos dados originais, $\text{var}(Z_1) \geq \text{var}(Z_2) \geq \dots \geq \text{var}(Z_p)$, onde $\text{var}(Z_i)$ denomina-se a variância de Z_i no conjunto de dados considerado. Desta forma, podemos verificar se os primeiros componentes podem explicar a maior parte da variação nos dados e reduzir a dimensionalidade efetiva do problema para

menor que p , número original de variáveis. Segundo Johnson e Wichern (1992) os primeiros componentes devem absorver de 80 a 90% da variação total, para serem usados como substitutos dos dados originais e, de acordo com o critério de Kaiser, deve-se excluir os componentes cujos autovalores são inferiores à média.

Os componentes principais são obtidos pela solução do sistema $\det(S - \lambda_i I) = 0$, onde λ_i são os autovalores da matriz de covariância S , os quais representam a variância dos componentes principais sendo $\lambda_1 > \lambda_2 > \dots > \lambda_p \geq 0$ e $\text{var}(Z_i) = \lambda_i$, e I é a matriz identidade $p \times p$. A importância relativa destes componentes (Imp. de Z_i) é avaliada pela porcentagem da variação que eles explicam (JOHNSON e WICHERN, 1992):

$$(23) \quad \text{Imp. de } Z_i = \frac{\lambda_i}{\sum_{k=1}^p \lambda_k} = \frac{\lambda_i}{\text{Tr}(S)},$$

para $K = 1, 2, \dots, p$ e $\text{Tr}(S)$ é o traço da matriz S .

Os coeficientes a_{ij} da Equação 10 são os elementos que correspondem aos autovetores normalizados (v_i), ou seja, v_1 é o autovetor que corresponde ao maior autovalor λ_1 e assim sucessivamente. Eles são obtidos do sistema

$$(S - \lambda_i I) \cdot a_i = 0 \text{ e fazendo-se } v_i^* = \frac{v_i}{\|v_i\|} \text{ encontra-se o vetor normalizado.}$$

3.5.4. Distância de Separação de Classes

O potencial de classificação baseado em um único descritor pode ser avaliado usando Distância de Separação de Classes (DSC) (COSTA E CEZAR, 2002). A DSC entre as classes α e β com respeito ao m -ésimo descritor é definida como

$$(24) \quad D_{\alpha,\beta,m} = \frac{|\mu_{\alpha,m} - \mu_{\beta,m}|}{\sqrt{\sigma_{\alpha,m}^2 + \sigma_{\beta,m}^2}},$$

onde $\mu_{\alpha,m}$ e $\mu_{\beta,m}$ são as médias estimadas do m -ésimo descritor para as classes α e β , respectivamente; e $\sigma_{\alpha,m}^2$ e $\sigma_{\beta,m}^2$ são as variâncias estimadas do m -ésimo

descritor para as classes α e β , respectivamente, para $m = 1, 2, \dots, N$. O potencial de classificação aumenta com $D_{\alpha, \beta, m}$.

3.5.5. Análise Discriminante Canônica

A análise discriminante canônica (ADC) fornece uma descrição das diferenças entre grupos especificados *a priori* em um conjunto de dados multivariados. O objetivo é encontrar um ou mais eixos sobre os quais se projetarão os grupos de tal modo que seja maximizada a soma de quadrados entre os grupos relativamente à soma de quadrados dentro os grupos (MONTEIRO e REIS, 1999; REIS, 1997).

Como nesta análise os grupos são definidos a priori, os autovalores e autovetores, dos quais são deduzidas as direções de maior variação nos dados originais que permitem a redução da dimensionalidade e a explicação da variação em termos de variáveis latentes, são obtidos a partir de duas matrizes. A primeira quantifica a variação dentro dos grupos (matriz de soma dos quadrados dentro os grupos – W) e a outra quantifica a variação entre os grupos (matriz de soma dos quadrados entre os grupos – B) e são definidas como:

$$(25) \quad W = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X}_j)(X_{ij} - \bar{X}_j)^T$$

$$(26) \quad B = T - W$$

onde x_{ij} é a observação de uma das p variáveis do j -ésimo indivíduo no i -ésimo

grupo, $\bar{X}_i = \frac{\sum x_{ij}}{n_i}$ representa a média de uma dada variável para o i -ésimo

grupo, $\bar{X}_j = \frac{\sum n_i x_{ij}}{n_j}$ indexa a média geral para uma dada variável para todos

os grupos e $T = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (X_{ij} - \bar{X})(X_{ij} - \bar{X})^T$ é a matriz da soma total dos

quadrados para n indivíduos classificados em k grupos e caracterizados por p variáveis.

Os autovalores e autovetores são obtidos da matriz $W^{-1} \cdot B$ e se os autovalores são $\lambda_1 > \lambda_2 > \dots > \lambda_p$ então λ_i é a proporção da soma dos quadrados entre-grupos para a soma dos quadrados dentro-grupos para a i -ésima

combinação linear das variáveis originais, Z_i , e os elementos do autovetor correspondente, $\mathbf{a}'_i = (\mathbf{a}_{1i}, \mathbf{a}_{2i}, \dots, \mathbf{a}_{pi})$, são os coeficientes de Z_i na Equação 22.

As combinações lineares são escolhidas de tal forma que Z_1 reflita as diferenças entre os grupos o máximo quanto possível; Z_2 o máximo possível das diferenças não exibidas em Z_1 ; Z_3 o máximo possível das diferenças não exibidas em Z_1 e Z_2 e assim sucessivamente.

3.5.6. Procedimento de “classificação jack-knife”

A matriz de classificação, gerada pela análise discriminante, tende em favor da alocação dos indivíduos aos grupos de onde eles realmente vieram. Em outras palavras, a média do grupo é determinada pelas observações daquele grupo e, desta forma, não seria estranho se esperar que uma observação fosse mais próxima do centro do grupo do qual ela ajudou a determinar. Para eliminar esta tendência é necessário ser realizada uma “classificação jack-knife” das observações. Isto envolve a alocação de cada indivíduo ao seu grupo mais próximo sem a utilização deste indivíduo na determinação do centro do grupo (MANLY, 1986). A regra de classificação generalizada a quaisquer grupos l e j ($j \neq l$) é dada por (REIS, 1997):

$$(27) \quad K_{lj} = (\bar{X}_l - \bar{X}_j)^T S^{-1} X_i - \frac{1}{2} (\bar{X}_l - \bar{X}_j)^T S^{-1} (\bar{X}_l + \bar{X}_j)$$

e X_i será classificado no grupo l se $K_{lj} > 0$.

4. RESULTADOS

Apenas 2 descritores (circularidade e perímetro) foram log-transformadas para corrigir a não-normalidade e heterogeneidade de variâncias. A ANCOVA indicou que apenas excentricidade e retangularidade não se correlacionaram com o comprimento do otólito ($P > 0,05$); as outras variáveis foram corrigidas para o comprimento usando seus respectivos coeficientes angulares (Tabela 4.1).

Tabela 4.1. Variáveis do otólito e suas correlações com o comprimento do otólito de *C. hippurus*. N.S. = não significativo.

<i>Variável</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>b</i>
Área	240,73	0,00001	1,878
Perímetro	92,96	0.00001	5,340
Retangularidade	_____	N.S	_____
Circularidade	6,17	0,015	15,572
Excentricidade	_____	N.S	_____
Dimensão Fractal	_____	N.S	_____

Não houve diferença significativa (MANOVA, $P > 0,05$) entre os otólitos direito e esquerdo, desta forma, na ausência do primeiro, o segundo era usado. Também não foi encontrada diferença significativa nos otólitos entre os sexos (MANOVA, $P > 0,05$), sendo todas as análises posteriores realizadas com sexos agrupados.

4.1. Variabilidade Geral da Forma do Otolito

A figura 4.1 mostra o dendrograma das amplitudes das 30 primeiras harmônicas, tendo os otólitos mais similares alocados juntos. Três grupos gerais de forma do otólito foram estabelecidos quando analisados até uma distância euclidiana de 50% da distância máxima. Os 3 tipos de forma são mostrados na figura 4.2. O morfotipo 1 apresenta a asa dorsal quase do mesmo tamanho da asa ventral, enquanto que os morfotipos 2 e 3 apresentam

a asa dorsal bem menor que a ventral, com a diferença que no segundo grupo a asa dorsal está unida a asa ventral pela porção posterior.

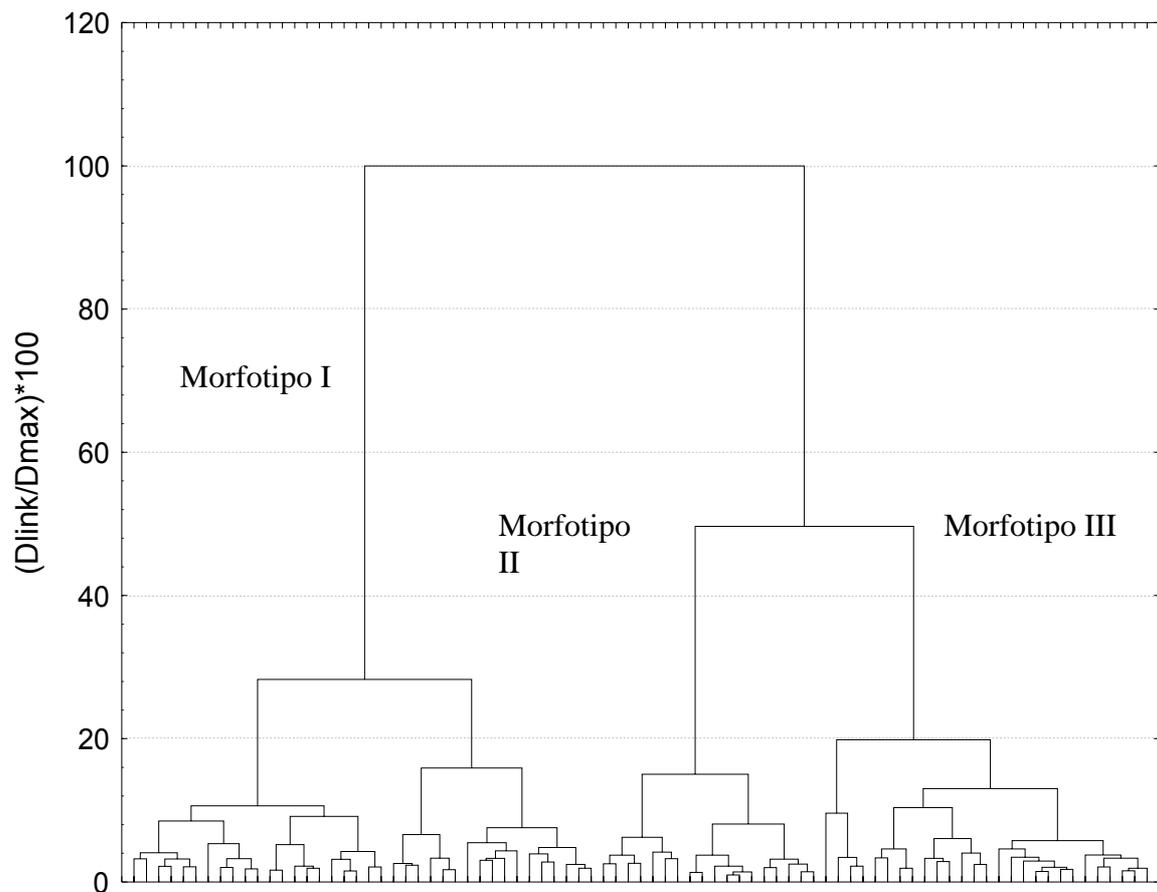


Figura 4.1. Dendrograma baseado nas distâncias euclidianas das amplitudes das 30 primeiras harmônicas.



Figura 4.2. Três morfotipos de otólito de *C. hippurus* estabelecidos pela análise de agrupamento a partir das amplitudes das 30 primeiras harmônicas.

Doze componentes principais (CP) foram considerados significativos seguindo o critério de Kaiser. Entretanto, graficamente (Figura 4.3) nota-se que a partir do sexto componente principal os autovalores se estabilizam. Desta forma, foram utilizados apenas os seis primeiros componentes e explicam 83,44% da variação (Tabela 4.2). Ao se analisar a forma média e ± 2 vezes o desvio padrão estabelecido para os seis primeiros componentes principais (Figura 4.4), é verificado, também, que as principais características exibidas pelos componentes são o tamanho da asa dorsal em relação a asa ventral e a união posterior entre as duas asas.

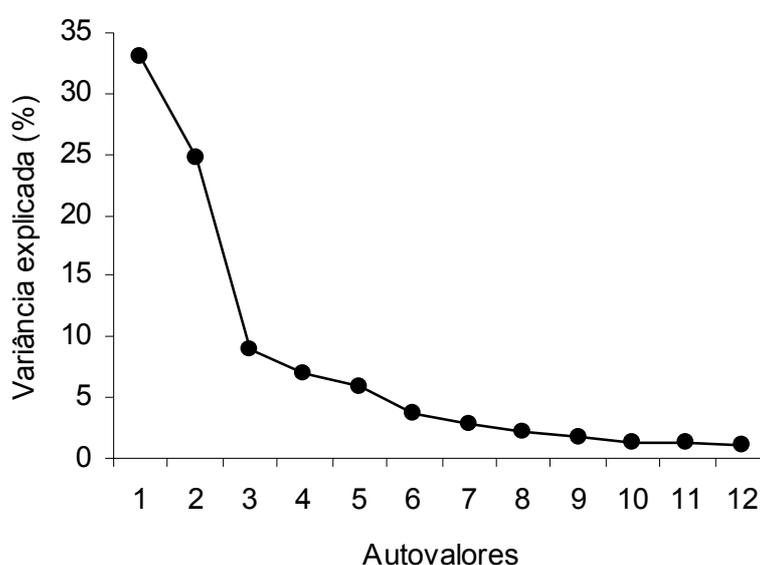


Figura 4.3. Representação gráfica da porcentagem de variância explicada por cada autovalor na análise de componentes principais.

A figura 4.5 mostra os gráficos entre CP1 e os 5 componentes seguintes. CP1 contra CP3 (Figura 4.5 C) apresenta claramente os mesmos grupos obtidos pela análise de agrupamento, enquanto que para os demais apenas o grupo 3 se torna claro, o que evidencia pelo menos 3 morfotipos de otólito de dourado, já que estes dois componentes estão fortemente relacionados às duas características citadas acima (Figura 4.4).

Tabela 4.2. Proporção e proporção acumulativa da variância explicada por cada componente principal.

<i>Componente Principal</i>	<i>Autovalor</i>	<i>Proporção</i>	<i>Proporção Acumulativa</i>
CP1	0,0215	33,09	33,09
CP2	0,0161	24,72	57,81
CP3	0,0058	8,90	66,71
CP4	0,0046	7,11	73,82
CP5	0,0038	5,85	79,67
CP6	0,0024	3,77	83,44
CP7	0,0018	2,78	86,22
CP8	0,0014	2,16	88,38
CP9	0,0011	1,76	90,14
CP10	0,0009	1,35	91,49
CP11	0,0008	1,25	92,74
CP12	0,0007	1,04	93,78

A contribuição dos CPs para a variância de cada harmônica, baseada na correlação entre os dois, é mostrada na figura 4.6. Como CP1 deteve a maior porcentagem da variância total explicada, sua contribuição foi quase homogeneia para quase todas as harmônicas, porém com um pequeno incremento em direção as últimas, demonstrando a importâncias destas para a variação da forma do contorno do otólito de *C. hippurus*. O CP2 e CP3 foram mais relacionados com as primeiras harmônicas, enquanto que o CP4 contribuiu tanto para a variância das primeiras quanto das últimas harmônicas. CP5 e CP6 mostraram a mesma tendência do CP4, mas com um menor número de harmônicas correlacionadas.

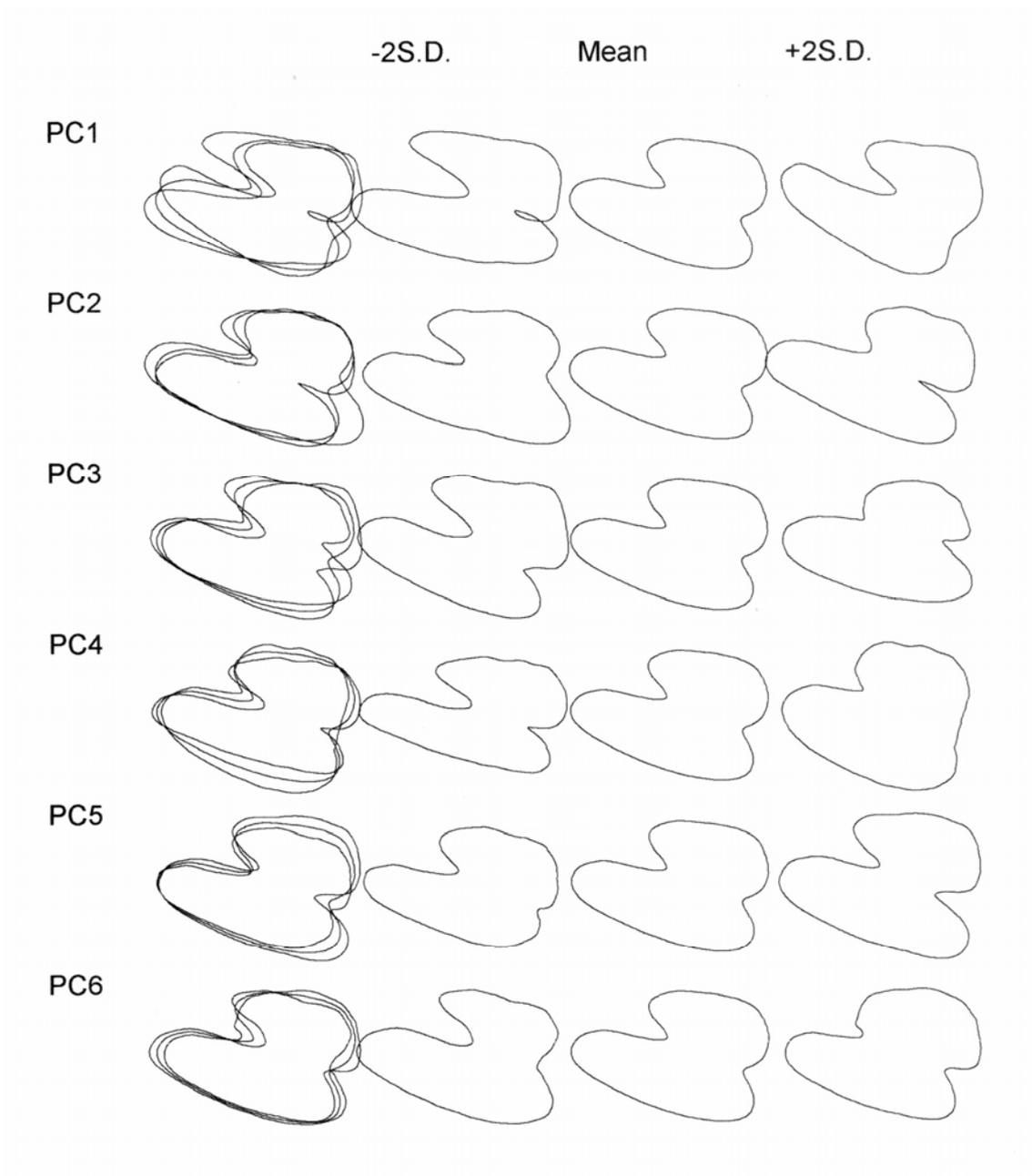


Figura 4.4. Visualização da variação (média e ± 2 vezes o desvio padrão - SD) da forma explicada por cada componente principal (PC).

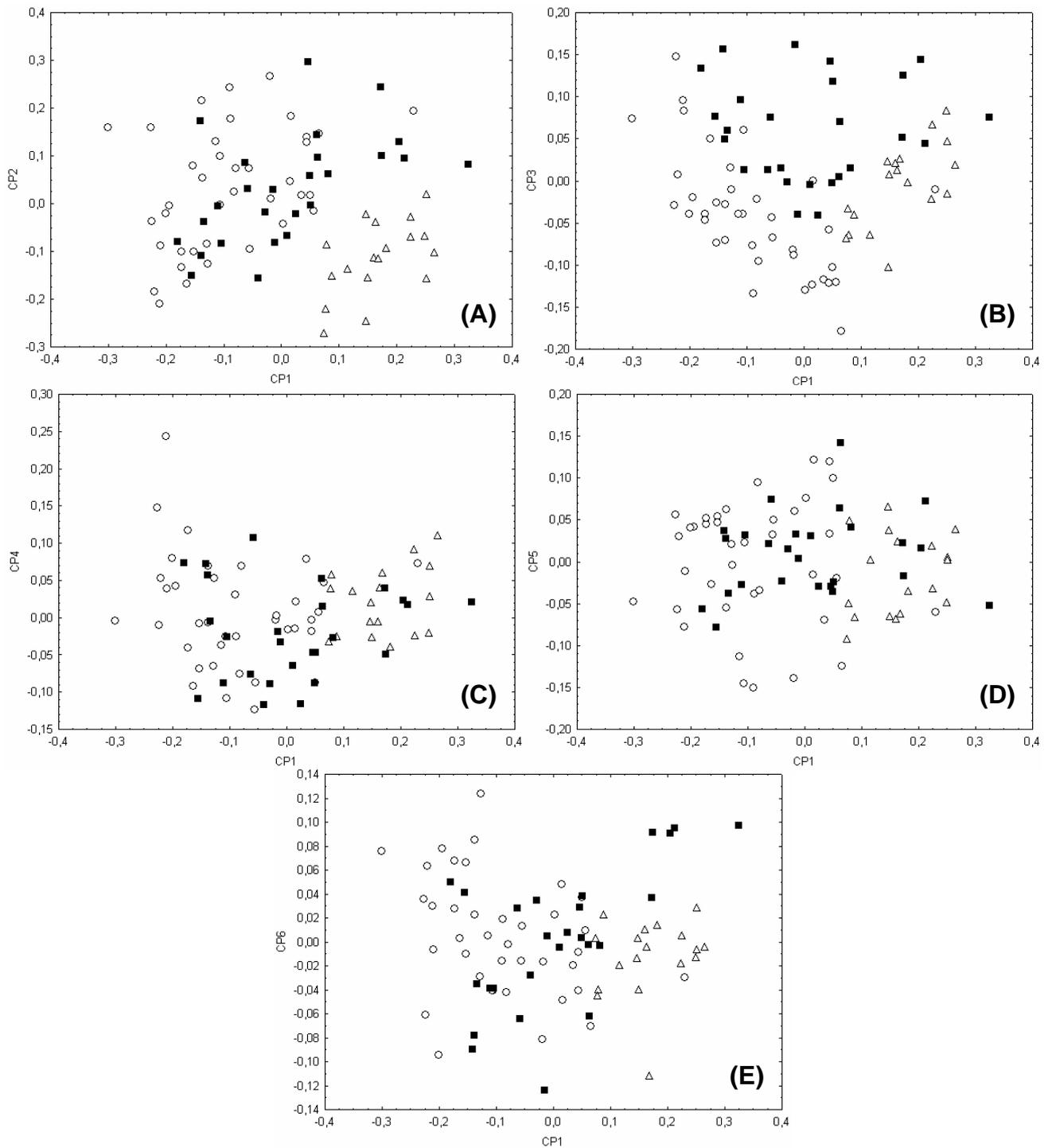


Figura 4.5. Gráficos do componente principal 1 (CP1) contra (A) componte principal 2, (B) componente principal 3 (CP3), (C) componente principal 4 (CP4), (D) componente principal 5 (CP5) e (E) componente principal 6 (CP6). ○ = morfotipo 1; Δ = Morfotipo 2; e ■ = morfotipo 3.

Os resultados da ANOVA realizada com os componentes principais significativos entre os 3 morfotipos (Tabela 4.3) indicam que os CP1, CP2 e CP3, estão relacionados com as variações entre grupos de forma, enquanto que o CP4 está relacionado a variações entre locação geográfica, de acordo com a comparação entre regiões. Os demais componentes não foram significativos em nenhuma das duas situações. Como as harmônicas mais correlacionadas com o CP4 correspondem aos menores valores de contribuição para os 3 primeiros componentes (Figura 4.5), pode-se dizer que estas harmônicas são aquelas que contêm a maior variação da forma entre as regiões.

Para verificar qualquer relação entre os morfotipos e a idade do indivíduo, a ANOVA foi aplicada, comparando as idades absolutas dos indivíduos agrupados por morfotipos e nenhuma diferença significativa foi encontrada ($P > 0.05$).

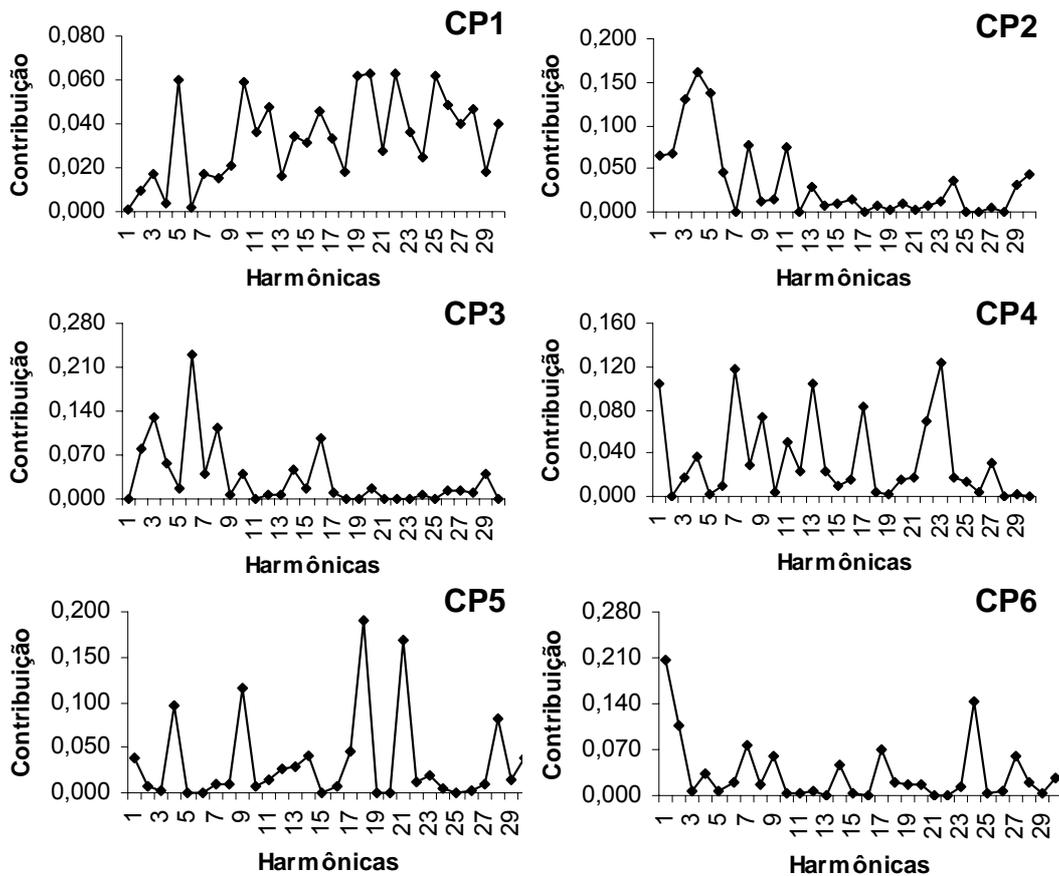


Figura 4.6. Contribuição dos componentes principais para a variância de cada harmônica, baseado na correlação entre os mesmos.

Tabela 4.3. Análise de variância para os componentes principais entre morfotipos e regiões. N.S. = não significativo.

Componente Principal	Entre Morfotipos			Entre Regiões	
	<i>F</i>	<i>P</i>	morfotipos significantes (<i>P</i> < 0,001)	<i>F</i>	<i>P</i>
CP1	34,3	0,00001	Todos	—	N.S.
CP2	11,57	0,00004	1-2; 2-3	—	N.S.
CP3	18,47	0,00001	1-3;2-3	—	N.S.
CP4	—	N.S.	—	10,47	0,002
CP5	—	N.S.	—	—	N.S.
CP6	—	N.S.	—	—	N.S.

4.2. Análise entre Regiões

A MANOVA apresentou diferença significativa ($P = 0,0137$) entre as regiões. ANOVA indicou que excentricidade, dimensão fractal e o PC4 são as variáveis explicativas desta diferença (Tabela 4.4) e também foram as que apresentaram maior capacidade de separação entre regiões, de acordo com seus valores de DSC. Os valores baixos de DSC obtidos para a maioria dos componentes principais mostram novamente que a variabilidade do contorno do otólito de *C. hippurus* está mais relacionada às diferenças individuais que às diferenças geográficas.

A análise discriminante canônica confirmou a separação entre as amostras das duas regiões estudadas, mesmo havendo grande variação de forma, sugerindo dois estoques de *C. hippurus* na Região Nordeste do Brasil, como indicado pela análise de variância multi e univariada (Figura 4.7). Diferença significativa nos escores discriminantes (VC1) foi encontrada entre as regiões (ANOVA, $P < 0,001$). O sucesso de classificação foi de 57,1% para a amostra do Maranhão e 69,6% para o Rio Grande do Norte (Tabela 4.5). As variáveis que mais contribuíram para a separação foram retangularidade, área e dimensão fractal (Tabela 3.6).

Tabela 4.4. Comparação espacial entre as variáveis do otólito de *C. hippurus* e suas respectivas distâncias de separação das classes (DSC). N.S. = não significativo.

Variáveis	ANOVA		DSC
	F	P	
Área	—	N.S.	0,254
Perímetro	—	N.S.	0,227
Retangularidade	—	N.S.	0,241
Circularidade	—	N.S.	0,024
Excentricidade	7,839	0,0064	0,416
Dimensão Fractal	11,71	0,001	0,504
CP1	—	N.S.	0,060
CP2	—	N.S.	0,228
CP3	—	N.S.	0,071
CP4	10,58	0,002	0,517
CP5	—	N.S.	0,036
CP6	—	N.S.	0,248

Tabela 4.5. Matriz de classificação Jack-knifed das frequências dos casos assinalados em cada região usados para diferenciar as amostras.

Classificação individual de <i>C. hippurus</i>		
	MA	RN
MA	20	14
RN	15	32
Total N	35	46
N Correto	20	32
Correto (%)	57,1	69,6

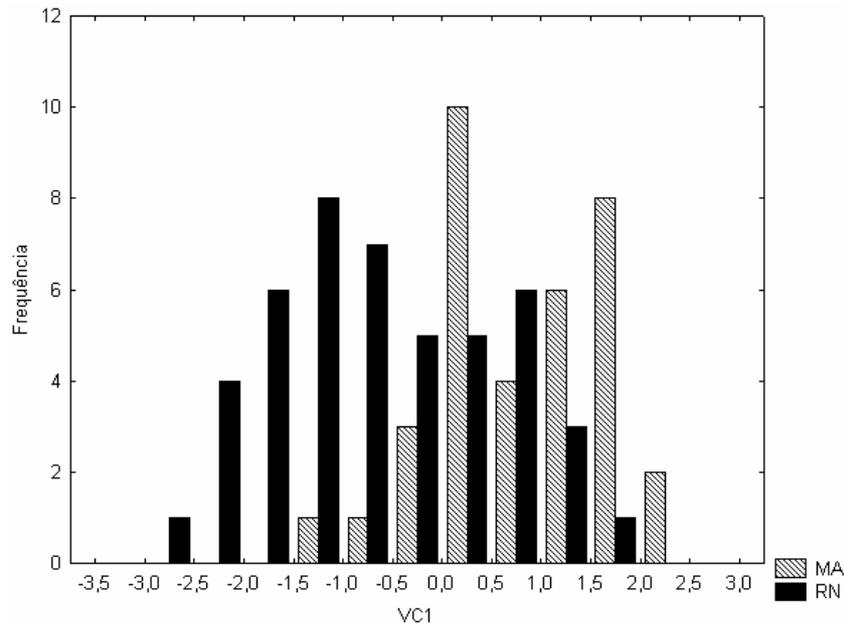


Figura 4.7. Discriminação das amostras de *C. hippurus* do Maranhão (MA) e do Rio Grande do Norte (RN) baseado na frequência dos escores da variável canônica (VC1).

Tabela 4.6. Contribuição das variáveis do otólito de para a discriminação das amostras de *C. hippurus* a partir dos coeficientes padronizados da variável canônica (VC1).

Variáveis do Otólito	Variável Canônica 1
Área	0,518058
Dimensão Fractal	0,518940
Excentricidade	-0,383499
Rentangularidade	-0,935925
Circularidade	-0,299897
Perimetro	0,025160
PC1	-0,179414
PC2	-0,206879
PC3	0,061833
PC4	0,360611
PC5	-0,143509
PC6	-0,138619

5. DISCUSSÃO

De acordo com Cadrin e Friedland (1999), a análise de Fourier é um método eficiente para descrever a forma do contorno de uma estrutura, mas a interpretação do seu resultado, mesmo que significativo, é um pouco subjetiva. Porém, no presente estudo, a interpretação dos coeficientes de Fourier obtidos da AFE foi facilitada com a utilização da análise de agrupamento em conjunto com a ACP.

Neste trabalho, além de utilizar a ACP para facilitar a interpretação dos coeficientes de Fourier, ela foi utilizada para reduzir a dimensionalidade destes coeficientes. Alguns autores, como Campana e Casselman (1993), utilizaram as próprias harmônicas como se fossem componentes principais. Por exemplo, o último autor citado, apenas utilizou em suas análises as primeiras 10 harmônicas, pois elas explicavam de 95 a 99,9% da variância total. Porém, diferentemente dos componentes principais, as harmônicas, em geral, não explicam em ordem decrescente a variância (KAESLER, 1997), podendo ocorrer a exclusão de alguma harmônica de interesse.

O pequeno incremento em direção as últimas harmônicas, apresentado no gráfico da contribuição do CP1 (Figura 4.6), mostrou a importância destas para a variação da forma do contorno do otólito de *C. hippurus*. Desta maneira, através da ACP foi possível reduzir a dimensionalidade, levando-se em consideração o efeito de todas as harmônicas sobre a forma do otólito.

A partir da análise de agrupamento e da ACP, foram determinados 3 morfotipos, baseados na forma do contorno do otólito de *C. hippurus* (Figura 4.2). O morfotipo 1 apresenta a asa dorsal quase do mesmo tamanho da asa ventral, enquanto que os morfotipos 2 e 3 apresentam a asa dorsal bem menor que a ventral, com a diferença que no segundo grupo a asa dorsal está unida a asa ventral pela porção posterior. Bird *et al.* (1986) e Ehrlich *et al.* (1983), demonstraram que os coeficientes das primeiras harmônicas são interpretados e relacionados à forma geral do otólito. Neste caso, pode-se concluir que as características de cada morfotipo dizem respeito a diferenças gerais da forma do otólito de *C. hippurus*, pois estão mais relacionadas às primeiras harmônicas (Figura 4.6).

Como observado na Tabela 4.3, diferenças geográficas têm pouca influência sobre a determinação destes morfotipos, ao passo que foi encontrada diferença significativa apenas para CP4. Neste caso, como os resultados mostram que não há uma separação por diferenças geográficas do ambiente, isto é, nenhuma evidência de seleção clinal, a variação entre morfotipos talvez possa ser mantida pela seleção temporal. Nesta seleção, de acordo com Gauldie e Crampton (2002), um tipo é mantido em um ano, outro no próximo ano, e o primeiro tipo novamente no ano seguinte, e assim por diante, seguindo este padrão. O efeito disto é que em qualquer um dos períodos, se a seleção de um único tipo não for absoluta, ocorre um polimorfismo persistente, podendo ser encontrado ambos os morfotipos em uma amostra de um organismo.

No estudo entre as amostras do MA e do RN, foram encontradas diferenças significativas na estrutura do otólito sagita de *C. hippurus* entre as duas regiões estudadas, tanto nas análises de variância uni e multivariada, como também na ADC, fornecendo uma base fenotípica para a separação de estoques ao longo da costa do Brasil.

Dentre os descritores utilizados, a dimensão fractal demonstrou ser o mais eficiente, pois, além de não mostrar nenhuma relação com o comprimento do otólito, foi significativamente diferente em todas as análises e apresentou um dos maiores valores de DSC. A análise fractal já foi aplicada em vários campos diferentes (comportamento, morfologia, ecologia, evolução, fisiologia, geografia, física, química, entre outros) (MONTEIRO e REIS, 1999), porém, aparentemente, não há evidências da utilização deste tipo de descritor em estudos de discriminação de estoques utilizando otólito. Contudo, ela mostra ser uma característica bastante útil, podendo ser utilizada tanto em estudos como este, como, provavelmente, em estudos taxonômicos, baseados na forma do otólito.

Surpreendentemente, os coeficientes de Fourier, representados pelos componentes principais, foram uns dos descritores da forma do otólito de *C. hippurus* que menos contribuíram, na maioria das análises, para a discriminação deste estoques. Os 3 primeiros componentes, que juntos somaram 66,7% da variância total explicada, só apresentaram diferenças significativas entre os morfotipos (Tabela 4.3) e apenas o CP4 apresentou

diferenças entre regiões e um alto valor de DSC (Tabela 4.4). Isto mostra que a maior parte da variabilidade da forma do contorno do otólito de *C. hippurus* está ligada a diferenças individuais ou entre morfotipos e que as informações correspondentes às regiões foi resumida apenas nas harmônicas correlacionadas ao CP4 (Figura 4.6), sendo esta variação refletida tanto nas diferenças gerais como em pequenas diferenças da forma.

Desta maneira, é sugerido que a baixa contribuição dos coeficientes de Fourier para a separação dos estoques determinado neste trabalho, e conseqüentemente, o valor relativamente baixo do sucesso de classificação dos otólitos das duas amostras (57,1% para o MA e 69,6% para o RN), podem estar relacionados à grande variação individual da forma dos otólitos, à medida que a análise de Fourier é um método que proporciona uma representação do contorno com um grau de precisão bastante alto (ROHLF e ARCHIE, 1984). Já os outros descritores utilizados estariam menos relacionados a esta variabilidade. Em outras palavras, a variação entre as regiões estudadas está mais relacionada a características básicas do otólito e menos à forma do seu contorno. Isto indica, como em Cardinale *et al.* (2004), que a classificação do otólito é uma difícil tarefa, que requer ferramentas estatísticas complexas e combinações de vários descritores.

Campana e Casselman (1993) determinaram, em estudo para a discriminação de estoques do *Gadus morhua*, que a forma do otólito muda largamente em resposta a diferenças na taxa de crescimento. Assim, é sugerido que as diferenças na forma do otólito de *C. hippurus*, encontradas entre as regiões estudadas, esteja relacionada a diferenças do crescimento. Tal diferença é observada quando se compara os valores das constantes de crescimento (k) estimados para dourados capturados em Porto Rico ($k = 2,19 \text{ ano}^{-1}$ - RIVERA e APPELDOORN, 2000) e em Barabados ($k = 2,87 \text{ ano}^{-1}$ - OXFORD e HUNTE, 1983) com a taxa de crescimento determinada para os dourados capturados no nordeste do Brasil ($k = 0,897 \text{ ano}^{-1}$ - LESSA *et al.*, 2004), ainda que se considere diferenças nos métodos utilizados para estimar desses parâmetros de modo geral. Portanto, os dourados que compõe o circuito de migração do sul do Caribe ao norte do Brasil apresentariam taxas de crescimento mais altas que os dourados que pertencem ao circuito restrito ao leste do Brasil.

Ademais, a identificação de estoques, baseada em diferenças em eventos da história de vida, é provável ter interpretação biológica clara e pode ser indicativo de grupos interespecíficos com dinâmica de populações desiguais, as quais são centrais para a avaliação de estoques e manejos (CADRIN, 2000).

Neste contexto, os resultados das análises sobre diferenças das características da forma do otólito sagita, com relação a diferenças de taxas de crescimento, adicionou evidências indicativas para a confirmação da hipótese de 2 circuitos migratórios do *C. hippurus* ao longo da costa brasileira propostos por Lessa (2003), mesmo havendo uma grande variabilidade individual. No entanto, estas diferenças não fornecem uma base genética para a separação destes, elas devem refletir características fenotípicas de cada estoque, as quais sugerem histórias de vida distintas.

Em adicional, a evidência da separação destes circuitos migratórios pode ser útil na formação da definição dos estoques de *C. hippurus* no Atlântico oeste e, conseqüentemente, podem ser utilizados por diversos países que exploram este recurso, tanto no Atlântico central como no Atlântico sudoeste, para a definição de unidades de manejos, os quais devem ser consistentes e de acordo com a estrutura de estoque do recurso. Uma decisão incorreta pode levar a mudanças significantes na distribuição do recurso, mudanças na produtividade do estoque, ou declínios no recrutamento ao longo dos limites das unidades de estoques.

6. CONCLUSÕES

- Três morfotipos do otólito sagita de *C. hippurus* foram determinados, os quais estão relacionados a características gerais da forma.
- Foi fornecida uma base fenotípica para a separação de estoques ao longo da costa do Brasil, baseada em diferenças significativas entre as regiões estudadas, adicionando evidências indicativas para a confirmação da hipótese de 2 circuitos migratórios de *C. hippurus* propostos por Lessa (2003).
- A dimensão fractal provou ser um eficiente descritor no estudo da forma do otólito de *C. hippurus*.
- O estudo da forma do otólito sagita do *C. hippurus* sugere que o padrão da forma deste otólito é controlado tanto por características genéticas (i.e. pela seleção temporal de morfotipos) como por características fenotípicas (i.e. diferenças de taxas de crescimento).

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- BASSINGTHWAIGHTHE, J.B.; LIEBOVITCH, L.S. e WEST, B.J., 1994. Fractal physiology. Oxford University Press.
- BIRD, J.L.; EPPLER, D.T. e CHECKLEY JR, D.M., 1986. Comparisons of herring otoliths using Fourier series shape analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 43, 1228-1234.
- BEGG, G.A., K.D. FRIEDLAND e J.B. PEARCE, 1999. Stock identification and its role in stock assessment and fisheries management: an overview. Fisheries Research 43, 1-8.
- BEGG, G.A.; OVERHOLTZ, W.J. e MUNROE, N.J., 2000. The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) stocks on Georges Bank. Fishery Bulletin 99, 1-14.
- BEGG, G.A. e J.R. WALDMAN, 1999. An holistic approach to fish stock identification. Fisheries Research 43, 35-44.
- BOLLES, K.L., e BEGG, G.A., 2000. Distinction between silver hake (*Merluccius bilinearis*) stocks in U.S. waters of the northwest Atlantic based on whole otolith morphometrics. Fishery Bulletin 98, 451-462.
- BOOKE, H.E., 1981. The conundrum of the stock concept – are nature and nurture definable in fishery science? Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 38, 1479-1480.
- CADRIN, S.X., 2000. Advances in morphometric identification of fishery stock. Reviews in Fish Biology and Fisheries 10, 91-112.
- CADRIN, S.X., e FRIEDLAND, K.D., 1999. The utility of image processing techniques for morphometrics analysis and stocks identification. Fisheries Research 43, 129-139.
- CAMPANA, S.E. e CASSELMAN, J.M., 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 50, 1062-1083.
- CAMPANA, S.E., NEILSON, J.D., 1985. Microstructure of fish otoliths. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 42, 1014-1032.

- CARDINALE, M.; DOERING-ARJES, P. e GANGNON, P., 2004. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic-cod (*Gardus morhua*) otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 61, 158-167.
- CARVALHO, G.R. e HAUSER, L., 1994. Molecular genetics and stock concept in fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 4, 326-350.
- CASSELMAN, J.M.; COLLINS, J.J.; CROSMAN, E.J.; IHSEN, P.E. e SPANGLER, G.R., 1981. Lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) stocks of the Ontario waters of Lake Huron. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 38, 1772-1789.
- CASTOGUAY, M.; SIMARD, P. e GAGNON, P., 1991. Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) stock discrimination. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 48, 296-302.
- CASTRO, J. J., J. A. SANTIAGO, V. HERNÁNDEZ-GARCIA & C. PLA, 1999. Growth and reproduction of the dolphinfish (*Coryphaena equiselis* and *Coryphaena hippurus*) in the Canary Islands, Central-East Atlantic (preliminary results). *Scienza Marina* 63 (3-4), 317-325.
- COSTA, L.F. e CEZAR, Jr. R. M., 2001. Shape analysis and classification: theory and practice. CRC Press. New York. 659 p.
- DE VRIES, D.A.; GRIMES, C.B. e PRAGER, M.H., 2002. Using otolith shape analysis to distinguish eastern Gulf of Mexico and Atlantic Ocean stocks of king mackerel. *Fisheries Research* 57, 51-62.
- DIAZ, G.; CAPPAL, C. SETZU, M.D.; SIRIGU, S. e DIANA, A., 1997. Elliptic Fourier descriptors of cell and nuclear shapes. In: Lestrel, P.E. eds. *Fourier descriptors and their applications in biology*. Cambridge University Press, pp. 307-321.
- EHRlich, R.; BAXTER PHARR, Jr. R.; HEALY-WILLIAMS, N., 1983. Comments on the validity of Fourier descriptors in systematics: reply to Bookstein *et al.* *Systematic zoology* 32, 202-206.

- FRIEDLAND, K.D. e REDDIN, D.G., 1994. Use of otolith morphology in stock discriminations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 51, 91-98.
- GAEMERS, P.A.M., 1984. Taxonomic position of the Cichlidae (Pisces: Perciformes) as demonstrated by the morphology of their otoliths. Netherland Journal of Zoology 34, 566-595.
- GARROD, J.D. e HORWOOD, J.W., 1984. Reproductive strategies and the response to exploitation. In: Potts, G.W. e Wootton, R.J. eds. Fish Reproduction. Academic Press, pp. 367-384.
- GAULDIE, R.W., 1988. Function, form and time-keeping properties of fish otoliths. Comparative Biochemistry and Physiology A 91(2), 395-402.
- GAULDIE, R.W. e J.S. CRAMPTON, 2002. An eco-morphological explanation of individual variability in the shape of the fish otolith: comparison of the otolith of *Hoplostethus atlanticus* with other species by depth. Journal of Fish Biology 60, 1204-1221.
- GAULDIE, R.W. e D.G.A. NELSON, 1988. Aragonite twinning and neuroprotein secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths. Comparative Biochemistry and Physiology 90 A, 501-506.
- HIROYOSHI IWATA, 2002. A software package for quantitative evaluation of biological shapes based on elliptic Fourier descriptors. Department of Information Science and Technology. National Agricultural Research Center. Japan.
- IHSSEN, P.E.; BOOKE, H.E.; CASSELMAN, J.M.; MCGLADE, J.M.; PAYNE, N.R. e UTTER, F.M., 1981. Stock identification: materials and methods. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science 38, 1838 – 1855.
- JOHNSON, R.A. e WINCHERN, D.W., 1992. Applied multivariate statistical analysis of the same data, mathematics in the archaeological and historical sciences. Edinburgh University Press, Edinburgh, p. 138-149.
- JOLICOEUR, P.J., 1963. The multivariate generalization of the allometric equation. Biometrics 19, 497-499.

- KAESLER, R.L., 1997. Phase angles, harmonic distance, and the analysis of form. In: Lestrel, P.E. eds. Fourier descriptors and their applications in biology. Cambridge University Press, pp. 106-125.
- KUHL, F.P. e GIARDINA, C.R., 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. Computer Graphics and Image Processing 18, 236-258.
- LECOMTE-FINIGER, R., 1999. L'otolithe: la boîte des Téléostéens. Année de Biologie 38, 107-122.
- LLEONART, J.; SALAT, J. e TORRES, G.J., 2000. Removing allometric effects of body size in morphological analysis. Journal of Theoretical Biology 205, 85-93.
- LESSA, R.P., 2003. Dinâmica das frotas pesqueiras do Nordeste. Relatório REVIZEE/SCORE-NE 1, 108p.
- LESSA, R.P.; SANTANA, F.M; NOGUEIRA, G.D., 2004. Idade e crescimento e avaliação do dorado, *Coryphaena hippurus*. In: Lessa, R.P.; Nobrega, M.F. e Bezerra Jr., J.L., eds. Dinâmica de populações e avaliação de estoques.
- LESTREL, P.E., 1997. Introduction and overview of Fourier descriptors. In: Lestrel, P.E. eds. Fourier descriptors and their applications in biology. Cambridge University Press, pp. 22-44.
- LOMBARTE, A., CASTELLÓN, A., 1991. Interspecific and intraspecific variability in the genus *Merluccius* as determined by image analysis. Canadian Journal of Zoology 69, 2442-2449.
- LOMBARTE, A. e A.N. POPPER, 1994. Quantitative analysis of postembryonic hair cells addition in the otolith endorgans of the inner ear of the European hake, *Merluccius merluccius* (Gadiformes, Teleostei). Journal of Comparative Neurology 345, 419-428.
- MANLY, B.F.J., 1986. Multivariate statistical methods: A primer. Chapman and Hall, 215p.
- MONTEIRO, L.R. e S.F. REIS, 1999. Princípios de morfometria geométrica. Ribeirão Preto: Holos, 198p.
- MORALES-NIN, B., 1992. Determination of growth in bony fishes from otolith microstructure. FAO Fisheries Technical Paper 322.

- MORALES-NIN, B., 2000. Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fishery Research* 46, 53-67.
- NOLF, D., 1985. Otolith *piscium*. In: Schultze, H.P. (Ed.), *Handbook of Paleichthyology*, Vol. 10. Gusttav Fisher Verlag, Stuttgart, pp. 145.
- NUSSENZVEIG, H.M., 1990. Complexidade e caos. UFRJ/CPEA.
- OXENFORD, H.A., HUNTE, W., 1983. Age and growth of dolphin-fishes (*Coryphaena hippurus*) determined by growth rings in otoliths. *Fishery Bulletin* 84, 906-909.
- OXENFORD, H.A., HUNTE, W., 1986. A preliminary investigation of the stock structure of the dolphin, *Coryphaena hippurus*, in the western central Atlantic. *Fishery Bulletin* 84, 906-909.
- PALCO, B.J., BEARDSLEY, G.L., RICHARDS, W.J., 1982. Synopsis of the biological data on dolphin-fishes, *Coryphaena hippurus* Linnaeus, and *Coryphaena equiselis* Linnaeus. *FAO Fisheries Synopsis* 130, 28p.
- POPPER, A.N. e Z. LU, 2000. Structure-function relationship in fish otolith organs. *Fishery Research* 46, 15-25.
- REIS, E., 1997. *Estatística multivariada aplicada*. Sílabo, 343 p.
- REYMENT, R.A., 1990. Reification of classical multivariate analyses in morphometry. In: Rohlf, F.J. e Bookstein, F.L. Eds. *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. University of Michigan. *Museum of Zoology Special Publicatoin* 2, 123-144.
- RIVERA, G.A. e APPELDOORN, R.S., 2000. Age and growth of dolphinfish, *Coryphaena hippurus*, pff Puerto Rico. *Fishery Bulletin* 98, 345-352.
- ROELKE, L.A. e CIFUENTES, L.A., 1997. Use of stable isotopes to asses groups of king mackerel, *Scoberomorus cavalla*, in the Gulf of Mexico, and southeastern Florida. *Fishery Bulletin* 95, 540-551.
- ROHLF, F.L., 1990. An overview of image processing and analysis techniques for morphometrics. In: Rohlf, F.J. e Bookstein, F.L. Eds. *Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop*. University of Michigan. *Museum of Zoology Special Publicatoin* 2, 37-60.

- ROHLF, F.J. e ARCHIE, J.W., 1984. A comparison of Fourier methods for description of wing shape in mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Systematic Zoology*, 33(3), 302-317.
- ROHLF, F.J. e BOOKSTEIN, F.L., 1990. Proceedings of the Michigan Morphometrics Workshop. University of Michigan. Museum of Zoology Special Publication 2.
- TROADEC, H. e BENZONOU, A., 2002. Computer-assisted age estimation. In: Manual of fish sclerochronology (Panfili, J.; Pontual, H. (de); Troadec, H. e Wright, P.J., eds), pp. 199-241. Brest, France: Ifremer-IRD coedition.
- TUSET, V.M.; LOZANO, J.A.; GONZÁLEZ, J.A.; PERTUZA, J.F. e GARCIA-DIAZ, M.M., 2003. Shape indices to identify regional differences in otolith morphology of comber, *Serranus cabrilla* (L., 1758). *Journal of Applied Ichthyology* 19, 88-93.
- VOLK, E.C.; SCHRODER, S.L. e GRIMM, J.J., 1999. Otolith thermal marking. *Fisheries Research* 43, 205-219.
- WALDMAN, J.R.; GROSSFIELD, J. e WIRGIN, I., 1988. Review of stock discrimination techniques for striped bass. *North Am. J. Fish. Man.* 8, 410-425.
- WILSON, R.R., 1985. Depth related changes in sagitta morphology in six Macrourid fishes of the Pacific and Atlantic Oceans. *Copeia*, 1011-1017.
- WORTHMAN, H.A., 1979. Relação entre o desenvolvimento do otólito e o crescimento do peixe auxílio na distinção de populações de pescada (*Plagioscion squamosissimus*). *Acta Amazônica* 9, 573-586.