

ILKA SIQUEIRA LIMA BRANCO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DO CANGULO-PRETO (*Melichthys niger*, BLOCH, 1789)
CAPTURADO NO ARQUIPÉLAGO DE SÃO PEDRO E SÃO PAULO- BRASIL.**

**RECIFE,
2011**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DO CANGULO-PRETO (*Melichthys niger*, BLOCH, 1789)
CAPTURADO NO ARQUIPÉLAGO DE SÃO PEDRO E SÃO PAULO- BRASIL.**

Ilka Siqueira Lima Branco

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Fábio Hissa Vieira Hazin
Orientador
Ms. Danielle de lima Viana
Co-orientadora
Ms. Dráusio Veras
Co-orientador

Recife,
Fevereiro/2011

Ficha catalográfica

Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central - UFRPE

Ilka Siqueira Lima Branco
Biologia reprodutiva do cangulo-preto (*Melichthys niger*, bloch, 1789)
capturado no Arquipélago de São Pedro e São Paulo - Brasil.

70f: il.

Orientador: Fábio Hissa Vieira Hazin
Dissertação (Mestrado em Recursos Pesqueiros e
Aquicultura). Departamento de Pesca e Aquicultura.
Inclui bibliografia

CDD [Nº]

1. Ovigênese

2. Balistidae

I. Fábio Hissa Vieira Hazin

II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E AQUICULTURA

BIOLOGIA REPRODUTIVA DO CANGULO-PRETO (*Melichthys niger*, BLOCH, 1789) CAPTURADO NO ARQUIPÉLAGO DE SÃO PEDRO E SÃO PAULO- BRASIL.

Ilka Siqueira Lima Branco

Dissertação julgada adequada para obtenção do título de mestre em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 11/02/2011 pela seguinte Banca Examinadora.

Prof. Dr. Fábio Hissa Vieira Hazin - Orientador
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo Guilherme Oliveira - Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. William Severi - Membro interno
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof(a). Dr(a). Flávia Lucena Frédou - Membro externo
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Paulo Eurico Pires Travassos – Suplente
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dedicatória

*Aos que são eternamente por mim, em qualquer
condição: Lúcia de Fátima, Wilma Lima Branco e
Ricardo lima Branco (em memória).*

Agradecimentos

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Departamento de Pesca e Aquicultura e por terem me acolhido desde o início da minha graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, pela concessão da bolsa, permitindo que pudesse continuar estudando.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPq, por financiar o projeto que permitiu a conclusão desta dissertação, e ao Programa Arquipélago/ SECIRM e Marinha do Brasil pelo apoio logístico nas expedições científicas, permitindo a coleta do material analisado nesta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Fábio Hazin, por toda oportunidade que me deu ao longo da minha vida profissional, por sempre ter uma palavra de motivação e incentivo para comigo em alguns dos momentos difíceis da minha vida, palavras essas decisivas para que pudesse continuar na batalha. Muitíssimo obrigada Prof. Fábio.

Ao Prof. Dr. e amigo Paulo Oliveira (Paulinho) por ser a primeira pessoa a me dar a oportunidade de trabalhar no laboratório de Oceanografia Pesqueira (LOP), acreditando em meu potencial, levando meu nome ao Prof. Fábio sempre que podia. Por todos os momentos de alegria e descontração, por sempre me fazer acreditar que tudo irá dar certo no final... como vem dando! Muitíssimo obrigada a você também, Prof. Paulinho, espero que nossa parceria continue por muitos anos.

A Danielle Viana, agradeço não apenas pela co-orientação, mas principalmente por ter sido a pessoa que realmente acreditou que eu teria a capacidade de realizar um trabalho no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, me dando não só a oportunidade de conhecer aquele abençoado lugar, como a oportunidade de finalizar meu trabalho de dissertação.

A Dráusio Veras, pela amizade e ensinamentos. Por ter sido duro e muitas vezes rude comigo em momentos difíceis, atitudes essas essenciais para minha vida profissional. Agradecer não apenas por me co-orientar neste trabalho de dissertação, mas por ser meu eterno co-orientador. Agradecer por ter me apontado tantos trabalhos e principalmente por ter me mostrado que a leitura não é só importante mas essencial para continuar nesse caminho.

A Diogo Martins Nunes, pela inicial amizade e pela posterior aliança durante o período do mestrado. Por todo cuidado e paciência para comigo e principalmente pelo AMOR. Que esta aliança perdure pelo tempo da felicidade!

A Renata Felix, por sempre ter me ajudado de forma incondicional e desinteressada nas milhares de dúvidas que tive durante o desenvolvimento deste trabalho. Por sempre ter tido a paciência e principalmente por dispor do seu precioso tempo. Muito obrigada, Rê, você

certamente é um exemplo de pesquisadora para mim, sempre disposta a ajudar apenas no intuito de poder disseminar o saber, sempre muito delicada e generosa!

A minha família e em especial a minha querida e amada mãe Lúcia de Fátima, por ter me dado a vida e por ter me dado a possibilidade de estudar e trabalhar, além de sempre ser a minha MAIOR torcedora.

A Roberta Santos pelo amor incondicional.

A Manu Creio, grande amiga que ganhei durante esse período. Por toda FORÇA que sempre me deu e vem me dando. Por todos os momentos de desabafo, descontração e por sempre ter me apoiado em qualquer condição. Te desejo, Manu, tudo aquilo que existe de MELHOR no mundo, obrigada por tudo!

A Regina Coelli, grande IRMÃ, por todo amor e consideração que teve comigo. Por sempre me motivar a continuar na trilha desse caminho. Por sempre ter me escutado nos momentos mais difíceis, obrigada Rê por absolutamente tudo!

As meninas do LOP/LEMAR, grandes amigas, Dimu, Lala, Jú, Tati, Maga, Beth, Marizinha, Mari Travassos, Isa, Vanessinha, Nat Macena, Fernanda... enfim a todas vocês que deixam o laboratório um lugar bem mais bonito e alegre de se trabalhar!

Aos meus colegas de turma do mestrado, em especial a Nat e Jones, por todas as conversas e alegrias que tivemos durante esse período!

E por fim, porém não menos importante, a todas as pessoas que embarcaram para o ASPSP e me ajudaram a concluir este trabalho!

Resumo

O cangulo-preto, *Melichthys niger*, é uma espécie da família Balistidae, a qual é constituída por 11 gêneros e 40 espécies. Possuindo uma coloração que vai do azul marinho ao preto, com reflexos verde-metálicos, pode chegar a até 50 cm de comprimento total, apresentando uma distribuição circumtropical. No presente trabalho foram examinados exemplares de cangulo-preto, obtidos a partir da pesca comercial no Arquipélago de São Pedro e São Paulo- ASPSP (00°55'02" N e 29°20'42"W), no período de janeiro de 2006 a maio de 2008. Logo após a captura, os espécimes foram identificados e mensurados, aferindo-se os seus comprimentos total (CT) e padrão (CP). Em seguida, todos os exemplares foram dissecados para permitir a coleta do aparelho reprodutor, os quais foram fixados em solução de formol a 10%, tendo sido, então, acondicionados em bombonas plásticas, até a sua chegada ao laboratório. No período do estudo, foram analisados 777 indivíduos, dos quais 367 eram fêmeas e 410 eram machos. As fêmeas variaram de 19,0 a 32,0 cm de comprimento total, e os machos de 21,0 a 37,4 cm. A partir de análises histológicas foi possível verificar que os ovários de *M. niger* são formados por lamelas ovígeras contendo ovócitos em diferentes graus de desenvolvimento. Foram identificados cinco diferentes estágios da ovogênese: células jovens, ovócitos pré-vitelogênicos (perinucleolares), ovócitos alvéolo-corticais, ovócitos vitelogênicos, e ovócitos maduros. Além das células germinativas foram também identificadas algumas estruturas somáticas compondo os ovários: parede ovariana, células foliculares e os vasos sanguíneos. A distribuição mensal dos estágios maturacionais, a partir das análises dos ovários, indicou uma maior frequência de fêmeas maduras durante o primeiro semestre do ano no Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

Palavra-chave: Balistidae, ovogênese, maturação sexual, IG, tipo de desova

Abstract

The black triggerfish, *Melichthys niger*, is a fish of family Balistidae, which consists of 11 genera and 40 species. Possessing a coloration ranging from dark blue to black with green metallic reflections, can reach up to 50 cm in total length, with a distribution circumtropical. In this work we examined specimens of black triggerfish, obtained from commercial fishing in the archipelago of Saint Peter and Saint Paul-ASPSP (00 ° 55'02 "N and 29 20'42" W), from January 2006 to May 2008. Soon after capture, specimens were identified and measured, which sent up its total length (TL) and standard (CP). Next, all specimens were dissected to allow the collection of the reproductive system, which were fixed in formalin 10% and was then packed in plastic drums, until their arrival at the laboratory. During the study period, 777 individuals were analyzed, of which 367 were females and 410 were males. Females ranged from 19.0 to 32.0 cm total length, and males from 21.0 to 37.4 cm. From histological analysis was possible that the ovaries of *M. niger* are composed of ovigerous lamellae containing oocytes at different stages of development. We identified five different stages of oogenesis: young cells, pre-vitellogenic oocytes (perinucleolar) oocytes, cortical alveolar, vitellogenic oocytes and mature oocytes. In addition to the germ cells were also identified some somatic structures composing the ovary: ovary wall, follicular cells and blood vessels. The monthly distribution of maturation stages, from analysis of ovaries indicated a higher frequency of mature females during the first half of the year in the archipelago of Saint Peter and Saint Paul.

Keyword: Balistidae, Oogenesis, sexual maturation, IG, spawning type

Lista de figuras

Figura 1. Exemplar de <i>Melichthys niger</i> . Fonte: directsealife.com/shop/images.....	18
Figura 2. Mapa de distribuição do <i>Melichthys niger</i> . Fonte: www.fishbase.org.....	19
Artigo científico I: Desenvolvimento ovocitário e maturação ovariana do <i>Melichthys niger</i> (Bloch, 1789) capturado no Arquipélago de São Pedro e São Paulo – Brasil.	
Figura 1- Fotomicrografias dos estágios da ovogênese dos ovários de <i>M. niger</i> capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	32
Figura 2- Fotomicrografias das células germinativas e de estruturas somáticas dos ovários de <i>M. niger</i> capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	33
Figura 3. Valores médios do diâmetro (μm) dos ovócitos para cada estágio do desenvolvimento ovocitário dos ovários das fêmeas de <i>M. niger</i> capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	34
Figura 4. Valores médios do diâmetro (μm) dos núcleos dos ovócitos para cada estágio do desenvolvimento ovocitário dos ovários das fêmeas de <i>M. niger</i> capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	34
Figura 5. Fotomicrografia de secções dos ovários de <i>Melichthys niger</i> nos diferentes estágios de maturação, sendo (A) início de maturação; (B) maturação final; (C) madura e (D) repouso.....	37
Artigo científico II: Ciclo reprodutivo do cangulo-preto (<i>Melichthys niger</i> , Bloch, 1789) capturado no Arquipélago de São Pedro e São Paulo- Brasil	
Figura 1. Distribuição de frequência de comprimento total para machos e fêmeas de cangulo-preto, <i>Melichthys niger</i> , capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	62
Figura 2. Relação entre o comprimento total e o peso do ovário de fêmeas de cangulo-preto, <i>Melichthys niger</i> , capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	63
Figura 3. Distribuição mensal dos estágios maturacionais de fêmeas de cangulo-preto, <i>Melichthys niger</i> , capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008	63

Figura 4. Média mensal do índice gonadal (IG) de exemplares de <i>Melichthys niger</i> , capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008	64
Figura 5. Média mensal da variação de temperatura da superfície do mar no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008	64
Figura 6. Relação entre o comprimento total e o peso do testículo de machos de cangulo-preto, <i>Melichthys niger</i> , capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	65
Figura 7. Distribuição mensal dos estágios maturacionais de machos de cangulo-preto, <i>Melichthys niger</i> , capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.....	65
Figura 8. Distribuição da frequência do diâmetro (μm) dos ovócitos de fêmeas de cangulo-preto, <i>Melichthys niger</i> , capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008 (início de maturação 4 fêmeas, os outros estágios 5 fêmeas)	66

Lista de tabelas

Artigo científico I: Desenvolvimento ovocitário e maturação ovariana do *Melichthys niger* (Bloch, 1789) capturado no Arquipélago de São Pedro e São Paulo – Brasil.

Tabela1. Diâmetro (média \pm desvio padrão) dos ovócitos e dos seus núcleos, e a relação entre as duas medidas (%) para cada estágio do desenvolvimento ovocitário dos ovários das fêmeas de *M. niger* capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008..... 35

Artigo científico II: Ciclo reprodutivo do cangulo-preto (*Melichthys niger*, Bloch, 1789) capturado no Arquipélago de São Pedro e São Paulo- Brasil

Tabela 1- Distribuição mensal de machos e fêmeas do cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008..... 62

Sumário

Dedicatória

Agradecimento

Resumo

Abstract

Lista de figuras

Lista de tabelas

1- Introdução	12
2- Revisão de literatura	14
3- Referência bibliográfica.....	16
4- Artigo científico.....	19
4.1- Artigo científico I	19
4.2- Artigo científico II	33
5- Considerações Finais	46
6- Normas da Revista Journal of Fish Biology	46

1. Introdução

De uma maneira geral, os ecossistemas oceânicos insulares costumam abrigar uma biodiversidade elevada, com um grande número de espécies endêmicas. Ao longo da costa nordeste do Brasil, existem quatro conjuntos insulares oceânicos: o Arquipélago de Fernando de Noronha, o Arquipélago de São Pedro e São Paulo, as Ilhas de Trindade e Martin Vaz, e o Atol das Rocas. Apesar de suas diferenças, principalmente no que diz respeito às suas origens geológicas, as ilhas oceânicas brasileiras caracterizam-se por serem ambientes relativamente distantes da costa e, em geral, de área reduzida em relação a sua porção emersa (Serafini et al., 2010). Em razão do seu isolamento geográfico, o percentual de espécies endêmicas é alto e a vulnerabilidade dessas espécies é maior do que nos continentes, devido ao isolamento geográfico e ao espaço físico restrito e único (Alves & Castro, 2006; Mohr et al., 2009).

O Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP), distante cerca de 1.100 km do litoral do Rio Grande do Norte, é o menor arquipélago oceânico em águas nacionais, representando o ponto mais avançado do território brasileiro no Oceano Atlântico Norte. O ASPSP é constituído por um pequeno grupo de seis ilhas maiores e quatro menores, além de diversas pontas de rochas. A área total emersa é de cerca de 7.500 m² e a distância entre os pontos extremos é de 420 m (Campos *et al.*, 2005). Apesar de apresentar condições inóspitas à vida na sua parte emersa, o ASPSP é cercado por uma rica biodiversidade na parte submersa (Neto, 2009).

Em geral, a fauna de peixes recifais de todas as ilhas oceânicas brasileiras é bastante rica em número total de espécies e em número de espécies endêmicas. Segundo Serafini et al. (2010), entre as ilhas oceânicas brasileiras, o ASPSP apresenta a segunda maior taxa de endemismo, perdendo apenas para o Atol das Rocas.

Entre as várias famílias de peixes recifais e oceânicos que residem ou que visitam o ASPSP, destaca-se a balistidae, a qual tem como um dos seus principais representantes o cangulo preto, *Melichthys niger*. Em função do seu posicionamento geográfico, estrategicamente localizado entre os hemisférios norte e sul e, ainda, entre os continentes africano e americano, o ASPSP exerce uma forte influência no ciclo de vida de diversas espécies, possuindo uma grande importância como local de reprodução e alimentação para várias delas, entre as quais se inclui o *M. niger*. Entretanto, apesar de sua abundância relativamente elevada em ilhas oceânicas (Kavanagh e Olney, 2006) situadas em regiões tropicais, em todo mundo, informações sobre a biologia da espécie são ainda extremamente escassas.

O presente projeto, portanto, teve como principal objetivo investigar a biologia reprodutiva do cangulo-preto, *Melichthys niger* no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, incluindo informações sobre época e tipo de desova, além da caracterização do seu desenvolvimento ovariano e ovocitário. Tais informações são de extrema importância não apenas para um adequado conhecimento acerca da biologia da espécie, essencial para a sua conservação, mas para um melhor entendimento da dinâmica dos ecossistemas insulares.

2. Revisão de literatura

A ordem Tetradontiformes é representada por cerca de 9 famílias, 5 gêneros e mais de 400 espécies descritas mundialmente (Acero, 2006). Uma de suas famílias mais importantes é a Balistidae, a qual é constituída por 11 gêneros e 40 espécies (Nelson, 1994), caracterizadas, de uma forma geral, por apresentarem um tamanho médio (usualmente menor que 40,0 cm de comprimento), boca pequena e terminal, com dentes não fundidos em conjunto, e cores vivas (Fischer, 1974). Apresentam 3 espinhos na

primeira nadadeira dorsal, com o primeiro e maior deles apresentando função tanto de defesa contra prováveis predadores, quanto de ancoragem (Thresher, 1980). Uma característica importante que distingue os peixes da família Balistidae dos outros teleósteos é a presença de uma única nadadeira pélvica (Matsuura, 1979).

A maior parte das espécies da família tem hábitos bentônicos, ocorrendo próximas aos recifes de corais da linha de costa, em profundidades, em geral, de até 100 m, embora algumas apresentem hábitos pelágicos, ocorrendo no oceano aberto. Os espécimes são normalmente vistos nadando de forma solitária ou em pequenos grupos (Thresher, 1980).

Em geral se alimentam de pequenos invertebrados, incluindo equinodermos, moluscos e crustáceos, além de zooplâncton. Algumas espécies são altamente valorizadas comercialmente, sendo comumente capturadas como fauna acompanhante em arrastos de fundo e meia-água (Carpenter, 2001).

Existem ainda poucas informações a respeito do comportamento e do hábito reprodutivo das espécies que constituem a família Balistidae. De uma forma geral, possuem uma desova demersal, produzindo um grande número de pequenos ovos, adesivos, os quais, em algumas espécies, possuem uma coloração em tons de verde. Presumivelmente esses ovos permanecem camuflados, aderidos ao fundo, em corais e algas (Thresher, 1980). Algumas espécies se caracterizam por escavarem ninhos na areia para depositarem seus ovos fertilizados (Lobel, 1980). Nesses casos, o cuidado parental durante o desenvolvimento dos ovos é uma característica marcante do grupo. A espécie *Pseudobalistes flavimarginatus*, por exemplo, apresenta um cuidado biparental dos ovos. Enquanto a fêmea permanece oxigenando os mesmos com suas nadadeiras peitorais, os machos permanecem nas proximidades, perseguindo pequenos peixes que se aproximam do ninho (Gladstone, 1994).

Segundo Bernardes e Dias (2000), a fêmea de *Balistes capriscus*, por sua vez, prepara um ninho no substrato enquanto o macho afasta qualquer animal indesejável. A desova costuma ocorrer no fim do dia, com dezenas de milhares de ovos formando uma massa cinzenta. Em seguida à fecundação, a fêmea e o macho protegem os ovos até o momento da eclosão das larvas, período que se estende por volta de 55 horas.

Kawase (2003) relatou um comportamento semelhante para *Xanthichthys mento*, com a espécie desovando em pares em fundo arenoso e com ambos, macho e fêmea, cuidando dos ovos durante dois dias até a eclosão, após o que abandonam o território.

Os ovos adesivos de *Sufflamen chrysopterus*, ao serem depositados em fundo arenoso, acabam por se misturarem aos grãos de areia. Da mesma forma, porém, após a desova, a fêmea permanece ventilando os ovos e defendendo o ninho até a eclosão das larvas (Kawase e Nakazono, 1992).

Kuwamura (1997) observou igualmente que as fêmeas de *Rhinecantus aculeatu* apresentam uma desova com ovos demersais e adesivos, permanecendo “fixados” aos grãos de areia, corais e algas filamentosas. Em seguida à desova a fêmea se mantém próxima ao ninho, cuidando dos ovos, enquanto o pai, no entanto, segue visitando outras fêmeas. Nesse caso, o cuidado parental é exercido exclusivamente pela mãe.

Apesar de já terem sido realizados diversos estudos sobre o comportamento reprodutivo de algumas das espécies que compõem a família balistidae, muito pouco se sabe ainda a respeito do seu ciclo reprodutivo, perdurando uma carência aguda de informações, desde época, tipo e local de desova, até detalhes mais específicos, como o desenvolvimento ovariano e ovocitário. No caso de algumas espécies, como o *Melichthys niger*, uma das mais importantes da família, praticamente nada se conhece ainda sobre a sua biologia reprodutiva.

O *Melichthys niger*, conhecido popularmente como cangulo-preto (Fig. 1) caracteriza-se por possuir uma coloração que vai do azul marinho ao preto com reflexos verde-metálicos (Matsuura, 1980).



Figura 1. Exemplos de *Melichthys niger* no Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

Foto: Bruno Macena

A segunda nadadeira dorsal e a anal são pretas, com uma linha longitudinal azul clara na sua base, enquanto a nadadeira peitoral é totalmente preta. Pode chegar até 50 cm de comprimento (Cervigón *et al.*, 1992), com uma distribuição (Fig. 2) circumtropical (Carvalho-Filho, 1999), apresentando, no Oceano Atlântico, registros de ocorrência na Ilha de Navassa, no Mar do Caribe (Grace *et al.*, 2000); no Arquipélago dos Monjes, na Venezuela (Farina *et al.*, 2005); no Arquipélago de Fernando de Noronha (Sazima *et al.*, 2006); na Ilha de Trindade (Gasparini, 2001); na costa central (Martins *et al.*, 2007) e nordeste do Brasil (Feitosa *et al.*, 2005); entre outras localidades.

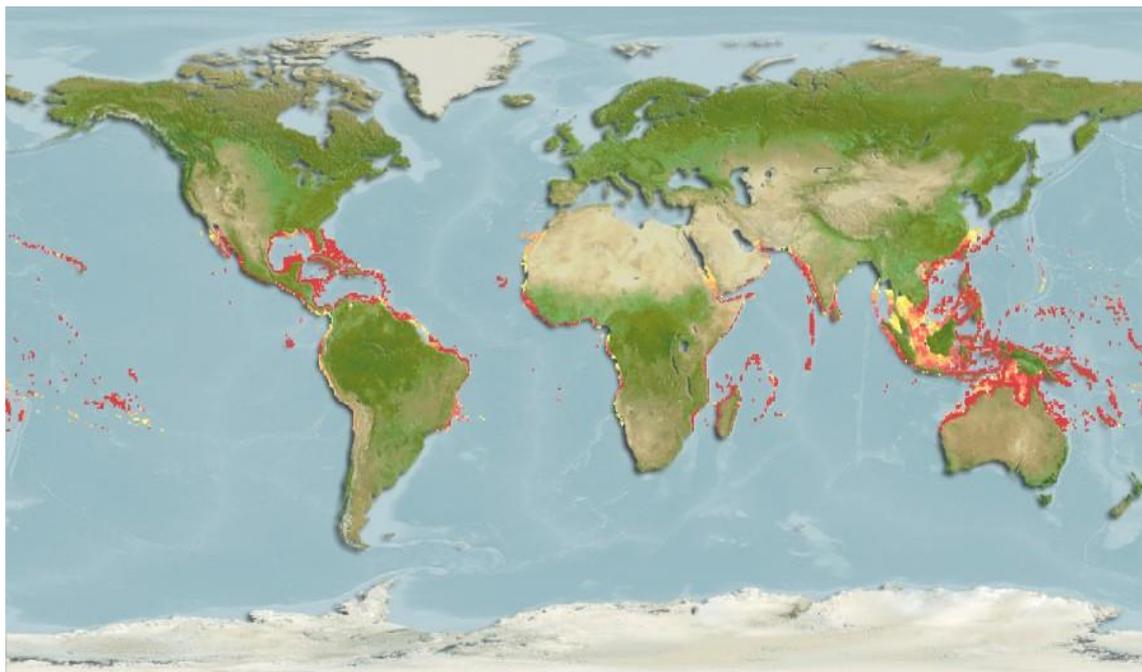


Figura 2. Mapa de distribuição do *Melichthys niger*. Fonte: www.fishbase.org

Em geral, apesar de ser uma espécie de peixe recifal, o cangulo-preto distribui-se bem acima do fundo, próximo à superfície e a recifes, ilhas e parcéis, em águas claras e afastadas da costa, caracterizando-se por viver em cardumes, ao contrário dos demais membros da família balistidae, que vivem normalmente solitários nos recifes oceânicos.

O cangulo-preto apresenta um hábito alimentar onívoro, se alimentando principalmente de algas e invertebrados bentônicos (esponjas, holoturias, equinóides, corais fragmentados, nematóides, oligoquetas, poliquetas, moluscos, decapodas, briozoários) que estão associados a estas algas, além de organismos planctônicos (Kavanagh e Olney, 2006).

A espécie caracteriza-se ainda por apresentar um dos mais impressionantes exemplos de agregação de peixes recifais, com grupos de centenas de espécimes circundando muitas das mais isoladas ilhas oceânicas, como, por exemplo, a Ilha de Ascensão, no Atlântico (Lubbock, 1980). Esse comportamento de agregação contribui significativamente para um alto sucesso na colonização, permitindo que a espécie

consiga manter altos níveis da sua população, em localizações remotas (Price e John, 1980). Embora o cangulo-preto possa atingir cerca de 11 anos de idade, cerca de 40% do seu crescimento parece ocorrer ainda no primeiro ano de vida (Kavanagh e Olney, 2006).

3. Referência bibliográfica

ACERO, P. A.; POLANCO, A. F. Peces del orden Tetraodontiformes de Colombia. **Biota Colombia**, V.7, p. 155 – 164, 2006.

ALVES, R. J. V.; CASTRO, J. W. Ilhas oceânicas brasileiras: da pesquisa ao manejo. MMA Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Brasília, DF, Brasil. 298 p, 2006.

BERNARDES, R. A. E DIAS, J. F. Aspectos da reprodução do peixe-porco, *Balistes capriscus* (Gmelin) (Actinopterygii, Tetraodontiformes, Balistidae) coletado na costa sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Revta bras. Zool.** v. 3, p. 687 - 696, 2000.

CAMPOS, T. F. C.; VIRGENS NETO, J.; SRIVASTAVA, N. K.; PETTA, R. A.; HARTMANN, L. A.; MORAES, J. F. S.; MENDES, L. & SILVEIRA, S. R. M. (2005) Arquipélago de São Pedro e São Paulo. Soerguimento tectônico de rochas infracrustais no Oceano Atlântico. Sítios Geológicos do Brasil. Disponível em: <http://www.unb.br/ig/sigep/sitio002/sitio002.pdf>. acesso em: 05/09/2007.

CARVALHO-FILHO, A. Peixes da Costa Brasileira. São Paulo, Melro. 1999.

CERVIGÓN, F. R.; CIPRIANI, W.; FISCHER, L.; GARIBALDI, M.; HENDRICKX, A. J.; LEMUS, R.; MÁRQUES, J. M. POUTIERS, G.; ROBAIANA; RODRIGUEZ, B. Fichas FAO de indentificacion de especies para los fines de la pesca. Guia de campo de las especies comerciales marinas y aguas salobres de la costa septentrional de Sur América. 513 pp, 1992.

FARIÑA, A.; BELLORÍN, A.; SANT, S.; MÉNDEZ, E.; Estructura de la comunidad de peces en un arrecife del Arquipélago Los Monjes, Venezuela. **Ciencias Marinas**. v. 31, p. 585 – 591, 2005.

FEITOZA, B. M.; ROSA, R. S.; ROCHA, L. A. Ecology and zoogeography of deep reef fishes in Northeastern Brasil. **Bulletin of Marine Science**. v. 76, p. 725 – 742, 2005.

FISCHER, W.; WHITEHEAD, P.J.P.; FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Eastern Indian Ocean and Western Central Pacific. v. 1, 1974.

GASPARINI, J. L.; FLOETER, S. R. The shore fishes of Trindade Island, Western South Atlantic. **Journal of Natural History**. v. 35, p. 1639 – 1656, 2001.

GLADSTONE, W. Lek-like spawning, parental care and mating periodicity of the triggerfish *Pseudobalistes flavimarginatus* (Balistidae). **Environmental Biology of Fishes**. v. 39 p. 249 – 257, 1994.

GRACE, M.; BAHNICK, M.; JONES, L. A Preliminary Study of the Marine Biota at Navassa Island, caribbean **Sea. Marine Fisheries Review**. v. 62, p. 43 – 48, 2000.

KAVANAGH, D. K.; OLNEY, E. J. Ecological correlates of population density and behavior in circumtropical black triggerfish *Melichthys niger* (Balistidae). **Environ Biol Fish**. v. 76, p. 387-398, 2006.

KAWASE, H. E. A. NAKAZONO. Reproductive behaviour of the flagtail triggerfish *Sufflamen chrysopterus*. In: Proceedings of the Seventh International Coral Reef **Symposium**, Guam, v. 2, p. 905-907, 1992.

KAWASE, H. Spawning behavior and biparental egg care of the crosshatch triggerfish, *Xanthichthys mento* (Balistidae). **Environmental Biology of Fishes**. v. 66, p. 211 – 219, 2003.

KUWAMURA, T. Evolution of Female Egg Care in Haremic Triggerfish, *Rhinecanthus aculeatus*. **Ethology**. v. 103, p. 1015-1023, 1997.

LOBEL, P. S.; JOHANNES, R. E. Nesting, eggs and larvae triggerfishes (Balistidae). **Environmental Biology of Fishes**. v. 5, p. 251 – 252, 1980.

LUBBOCK, R. The shorefishes of Ascension Island. **Jornal Fische Biology**. v. 17, p. 282 – 303, 1980.

MATSUURA, K. A Revision of Japanese Balistoid Fishes. **Bull. Natn. Sci.** v. 6, p. 27 – 69, 1980.

MATSUURA, K. Phylogeny of the superfamily Balistoidea (Pices: Tetradontiformes). **Men. Fac. Fish. Hokkaido Univ.** v. 28, p. 49 – 169, 1979.

MOHR, L. V.; CASTRO, J. W. A.; COSTA, P. M. S.; ALVES, R. J. V. Ilhas oceânicas brasileiras: da pesquisa ao manejo. MMA Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Brasília, DF, Brasil. v. II, p. 496, 2009.

MRTINS, A. S.; OLAVO, G.; COSTA, P. A. S. Padrões de Distribuição e Estrutura de Comunidades de Grandes Peixes Recifais na Costa Central do Brasil. Biodiversidade da fauna marinha profunda na costa central brasileira. Museu Nacional. v. 24, p. 45 – 61, 2007.

NELSON, J. S. Fishes of the World. 3rd edn. John Wiley & Sons, new York. 1994, PP.600.

NETO, J. S.M.. O Arquipélago de São Pedro e São Paulo. O Arquipélago de São Pedro e São Paulo: 10 anos de Estação Científica/orgs. Brasília, DF:SECIRM, 2009.

PRICE, J. H. JOHN, D. M. Ascension island, South Atlantic: a survey of inshore benthic macro-organisms, communities, and interactions. **Aquat Bot.** v. 9, p. 251 – 278, 1980.

SAZIMA, I.; SAZIMA, C.; SILVA-JR, J. M. Fishes associated with spinner dolphins at Fernando de Noronha Archipelago, tropical Western Atlantic: an update and overview. **Neotropical Ichthyology**. v. 4, p. 451 – 455, 2006.

SERAFINI, T. Z.; FRANÇA, G. B.; ANDRIGUETTO-FILHO, J. M. Ilhas oceânicas brasileiras: biodiversidade conhecida e sua relação com o histórico de uso e ocupação humana. **Journal of Integrated Coastal Zone Management**. v. 10, p. 281-301, 2010.

THRESHER, R. E. Reef Fish – Behavior and Ecology on the Reef and in the Aquarium. Palmetto Publishing Company. 124-127. 1980.

4. Artigo científico

4. 1. Artigo científico I

**DESENVOLVIMENTO OVOCITÁRIO E MATURAÇÃO OVARIANA
DO CANGULO-PRETO, *Melichthys niger*, (BLOCH, 1789)
CAPTURADO NO ARQUIPÉLAGO DE SÃO PEDRO E SÃO PAULO, BRASIL**

Artigo científico a se encaminhado para a revista Journal of Fish Biology

1 **Desenvolvimento ovocitário e maturação ovariana do cangulo-preto,**
2 ***Melichthys niger*, (Bloch, 1789) capturado no Arquipélago de São Pedro e**
3 **São Paulo, Brasil**

4 I. S. L. BRANCO*, F. H. V. HAZIN*, D. L. VIANA‡, D. P. VERAS ‡,

5 R. T. S. FELIX *

6 **Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Oceanografia, Cidade*

7 *Universitária, 50670- 901 Recife, PE, Brasil e ‡Universidade Federal Rural de Pernambuco,*

8 *Departamento de Pesca e Aquicultura, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-*

9 *900, Recife, PE, Brasil*

10
11 O cangulo-preto, *Melichthys niger*, é uma espécie da família Balistidae, a qual é constituída por 11
12 gêneros e 40 espécies. Possuindo uma coloração que vai do azul marinho ao preto, com reflexos verde-
13 metálicos, pode chegar a até 50 cm de comprimento total, apresentando uma distribuição circumtropical.
14 No presente trabalho foram examinados exemplares de cangulo-preto, obtidos a partir da pesca comercial
15 no Arquipélago de São Pedro e São Paulo- ASPSP, no período de janeiro de 2006 a maio de 2008. A
16 morfologia externa das gônadas dos espécimes analisados mostrou uma evidente diferença entre os
17 ovários e os testículos, independentemente do grau de desenvolvimento gonadal. A partir de análises
18 histológicas de 294 ovários de *M. niger* foi possível verificar que os mesmos são formados por lamelas
19 ovíferas contendo ovócitos em diferentes graus de desenvolvimento. Foram identificados cinco diferentes
20 estágios da ovogênese: células jovens, ovócitos pré-vitelogênicos (perinucleolares), ovócitos alvéolo-
21 corticais, ovócitos vitelogênicos, e ovócitos maduros. Além das células germinativas foram também
22 identificadas algumas estruturas somáticas compondo os ovários, como: parede ovariana, células
23 foliculares e os vasos sanguíneos. Com base no tipo e na quantidade de ovócitos observados no interior
24 dos ovários foi possível a identificação de 4 estágios de maturação ovariana: início de maturação,
25 maturação final, madura e em repouso. De todos os estágios identificados o mais freqüente foi o maduro,
26 representando 44,2% to total da amostra analisada.

27
28 **Palavra-chave:** Balistidae, ovogênese, peixe recifal.

INTRODUÇÃO

29
30
31 A ordem Tetradontiformes, representada por cerca de 9 famílias, 5 gêneros e mais de
32 400 espécies descritas mundialmente (Acero, 2006), possui, como uma das suas mais
33 importantes famílias, a Balistidae (Nelson, 1994). Os peixes dessa família, constituída
34 por 11 gêneros e 40 espécies, se caracterizam, em geral, por possuírem hábitos
35 bentônicos, habitando próximos a recifes de corais, na linha de costa, em profundidades
36 de até 100 m, embora algumas espécies sejam pelágicas, ocorrendo no oceano aberto.

37 Uma das espécies menos conhecidas da família Balistidae, em razão do seu
38 hábito estritamente oceânico e insular, é o *Melichthys niger*, conhecido como cangulo-
39 preto. Podendo chegar a até 50 cm de comprimento (Cervigón *et al.*, 1992) e
40 apresentando uma distribuição circumtropical (Carvalho-Filho, 1999), o cangulo-preto
41 possui registros de ocorrência na Ilha de Navassa, no Mar do Caribe (Grace *et al.*,
42 2000); no Arquipélago dos Monjes, na Venezuela (Farina *et al.*, 2005); na Ilha de
43 Ascensión (Lubbock, 1980); e no Brasil, onde ocorre na costa central (Martins *et al.*,
44 2007) e nordeste (Feitosa *et al.*, 2005), incluindo os Arquipélagos de Trindade
45 (Gasparini, 2001), Fernando de Noronha (Sazima *et al.*, 2006) e São Pedro e São Paulo.

46 Apesar de ser uma espécie de peixe recifal, o cangulo-preto vive normalmente
47 bem acima do fundo marinho, próximo à superfície e na circum-vizinhança de recifes e
48 ilhas, em águas claras e afastadas da costa, formando grandes cardumes (Price e John,
49 1980), ao contrário dos demais membros da família balistidae, que costumam viver
50 solitários. Apesar da sua grande importância ecológica para os ecossistemas insulares,
51 muito pouca informação existe ainda a respeito da biologia do cangulo-preto.

52 Embora a maturação sexual e o processo de desova sejam componentes
53 importantes da história de vida dos peixes recifais, a maior parte das pesquisas
54 relacionadas à sua biologia reprodutiva aborda parâmetros genéricos como o índice

55 gonadossomático ou a classificação macroscópica das gônadas (Tricas e Hiramoto,
56 1989). Para um adequado entendimento da sua dinâmica reprodutiva, porém, é
57 fundamental a realização de pesquisas capazes de descrever o desenvolvimento
58 ovariano, no que diz respeito, em especial, ao processo de ovogênese e maturação
59 gonadal.

60 O presente trabalho, portanto, teve como objetivo caracterizar e identificar as
61 fases do desenvolvimento ovocitário do cangulo-preto e sua organização dentro dos
62 diferentes estágios de maturação ovariana, com base em espécimes oriundos do
63 Arquipélago de São Pedro e São Paulo, área na qual a espécie costuma desovar
64 sazonalmente, principalmente no primeiro semestre do ano (Branco *et al.*, 2009).

65

66

67

MATERIAL E MÉTODOS

68 No período de janeiro de 2006 a maio de 2008, foram analisados histologicamente os
69 ovários de 294 fêmeas de cangulo-preto, capturadas no Arquipélago de São Pedro e São
70 Paulo - ASPSP (Fig. 1), utilizando-se como aparelho de pesca, o puçá. Logo após o
71 embarque, os espécimes foram identificados e mensurados, aferindo-se os seus
72 comprimentos total (CT) e padrão (CP). Em seguida, todos os exemplares foram
73 dissecados para a coleta do aparelho reprodutor, os quais foram fixados em solução de
74 formol a 10% e, em seguida, acondicionados em bombonas plásticas, até a sua chegada
75 ao laboratório. Uma vez em laboratório, as gônadas foram retiradas da solução de
76 formol, tendo sido, então, transferidas para uma solução de álcool etílico a 70%. Em
77 seguida, as gônadas foram pesadas, medidas (comprimento e largura) e analisadas
78 macroscopicamente para identificação do sexo.

79 Para a determinação do Índice Gonadal (IG) foi utilizada a equação de Schaeffer
80 & Orange (1956), como segue: $IG = PG / CT^3 \times 10^5$ onde: IG= Índice Gonadal; PG=
81 Peso da Gônada (g) e CP= Comprimento Padrão (cm).

82 Para a determinação precisa dos estádios de desenvolvimento das células
83 germinativas e maturação dos ovários, foram realizados cortes transversais na sua
84 porção mediana, para obtenção de uma pequena secção, com cerca de 1 mm^3 , as quais
85 foram posteriormente desidratadas e incluídas em parafina a 60°C (Behmer *et al.*, 1976).
86 Os blocos de parafina foram cortados, por sua vez, em lâminas com $6 \mu\text{m}$ de espessura,
87 as quais foram, em seguida, coradas com Hematoxilina- Eosina (HE) e examinadas por
88 meio de microscópio óptico.

89 A classificação dos estádios maturacionais dos ovários foi efetuada segundo a
90 escala de Hunter *et al.* (1986), tendo sido considerados os seguintes estágios: imatura,
91 início de maturação, média maturação, madura, desovada e em repouso. Imagens dos
92 diferentes estágios maturacionais dos ovários foram digitalizadas a fim de se permitir
93 uma análise, através do software Image Tool 3.0 ara Windows, do tamanho dos
94 ovócitos e dos seus respectivos núcleos de cada fase do desenvolvimento ovocitário. As
95 células germinativas foram classificadas em cinco estágios: células jovens, ovócitos pré-
96 vitelogênicos (perinucleolares), ovócitos alvéolo-corticais, ovócitos vtelogênicos, e
97 ovócitos maduros. (vazzoler, 1996; Cárdenas *et al.*, 2008; Tricas e Hiramoto, 1989,
98 modificados), de acordo com a forma dos ovócitos, a relação núcleo-citoplasma e o grau
99 de atividade vitelogênica em que cada uma se encontrava.

100 No intuito de avaliar se os diâmetros das células e seus respectivos núcleos, nos
101 diversos estágios do desenvolvimento ovocitário, apresentaram diferenças
102 estatisticamente significativas ($p < 0,05$), foi aplicando primeiramente um teste de

103 normalidade (*Shapiro-Wilk*), seguido de um teste de homogeneidade das variâncias
104 (teste de “*Bartlett*”), e, por ultimo, de um teste para comparação de médias (*Wilcox*).

105

106

RESULTADOS

107 **Descrição macroscópicas dos ovários**

108 O cangulo-preto possui um sistema reprodutor feminino constituído por ovários
109 pares e dois ovidutos. A morfologia externa das gônadas dos espécimes analisados
110 mostrou uma evidente diferença entre os ovários e os testículos, independentemente do
111 grau de desenvolvimento gonadal. Os ovários apresentaram-se mais alongados (média
112 de 3,6 cm), com coloração sempre alaranjada, em diferentes tons, de acordo com o
113 estágio de desenvolvimento, diferentemente dos testículos que apresentavam
114 comprimentos menores (média de 2.6 cm) e coloração esbranquiçada.

115 Baseado nas características morfológicas, peso, comprimento e coloração das
116 gônadas, o grau de desenvolvimento ovariano foi classificado em 4 fases: Fase I
117 (desenvolvimento inicial); Fase II (desenvolvimento final); Fase III (desenvolvido) e
118 Fase IV (em recuperação).

119

120 **Fase I (desenvolvimento inicial):** Os ovários nesta fase caracterizaram-se por
121 apresentar coloração amarelada, com poucos ovócitos diminutos aparentes e pouca
122 vascularização. Apresentaram comprimento da gônada variando de 1,8 a 3,2 cm (com
123 média de 2,7 cm); peso da gônada entre 4,7 e 7,5 g (com média de 6,3 g); e IG médio
124 igual a 41 (d.p.= 69). Os espécimes que possuíam ovários na fase I apresentaram
125 comprimento total variando de 19,0 a 30,0 cm, com média de 26,8 cm.

126

127 **Fase II (desenvolvimento final):** As dimensões ovarianas apresentaram-se
128 relativamente maiores em relação à fase anterior, com comprimento da gônada variando
129 de 2,9 a 4,5 cm (com média de 3,7 cm); peso da gônada entre 6,4 e 55,6 g (com média
130 de 14,9 g) e IG médio igual a 83 (d.p.= 72). Os espécimes que possuíam ovários
131 classificados na fase II apresentaram comprimento total variando de 20,5 a 30,0 cm
132 (com média de 26,6 cm). Esta fase caracterizou-se também por apresentar coloração em
133 tons de rosa claro, com ovócitos e vasos sanguíneos bem mais aparentes quando
134 comparados com a fase anterior.

135

136 **Fase III (desenvolvido):** Os ovários nessa fase apresentaram-se bastante volumosos,
137 com coloração em tons de laranja, intensamente vascularizados, e com ovócitos grandes
138 e abundantes. Apresentaram comprimento variando de 1,5 a 7,1 cm (com média de 4,8
139 cm); peso entre 9,1 e 82,8 g (com média de 32,4 g) e IG médio de 178 (d.p.= 75) Os
140 espécimes que possuíam ovários classificados na fase III apresentaram comprimento
141 total variando de 23,0 a 30,5 cm (com média de 26,1 cm).

142

143 **Fase IV (em recuperação):** Os ovários nessa fase apresentavam-se consideravelmente
144 flácidos com a parede ovariana relativamente espessa, quando comparados com as fases
145 anteriores. Nesta última fase observou-se, também, uma significativa redução das
146 dimensões ovarianas, com o comprimento da gônada variando de 1,4 a 3,2 cm (com
147 média de 2,4 cm); peso entre 1,4 e 18,7 g (com média de 3,9 g) e IG médio de 21 (d.p.=
148 65). Os espécimes que possuíam ovários classificados na fase IV apresentaram
149 comprimento total variando de 23,4 a 32,0 cm (com média de 26,5 cm).

150

151

152 **Descrição microscópica dos ovários**153 ***Desenvolvimento ovocitário***

154 A partir da análise histológica foi possível verificar que os ovários de cangulo-
155 preto são formados por lamelas ovíferas contendo ovócitos em diferentes graus de
156 desenvolvimento. Além das células germinativas, foram observados também alguns
157 componentes somáticos os quais se caracterizam por proteger os ovócitos em seus
158 diversos estágios de desenvolvimento.

159 Considerando-se a forma e diâmetro dos ovócitos, a relação núcleo-citoplasma e
160 o grau de vitelogênese observado, foi possível a identificação de células germinativas
161 em cinco diferentes estágios da ovogênese, sendo elas: células jovens, ovócitos pré-
162 vitelogênicos (perinucleolares), ovócitos alvéolo-corticais, ovócitos vitelogênicos, e
163 ovócitos maduros.

164

165 ***Células Jovens (CJ)***: foram consideradas como células jovens (Fig. 2A) as ovogônias e
166 os ovócitos nas primeiras fases de desenvolvimento, as quais se caracterizaram por se
167 encontrarem agrupadas nas lamelas ovíferas. O citoplasma dessas células se encontrava
168 bastante escasso, com o núcleo se apresentando arredondado, central e fortemente
169 basófilo. Este estágio do desenvolvimento ovocitário não foi abundantemente
170 observado, tendo sido o mesmo encontrado, porém, em todos os estágios de
171 desenvolvimento ovariano. O diâmetro das células jovens variou de 6,09 a 23,42 μm .

172

173 ***Ovócitos pré-vitelogênicos (OPV)***: Também chamados de ovócitos do estoque de
174 reserva ou perinucleolares (Fig. 2 B), este estágio do desenvolvimento ovocitário
175 caracterizou-se por apresentar um considerável aumento no seu volume (mais que o
176 triplo) em relação ao estágio anterior, com diâmetros variando de 24,22 a 83,73 μm .

177 Nesta fase, o citoplasma já é bem mais definido e facilmente identificado, apresentando
178 ainda caráter basófilo. Foi observado, ainda, um núcleo sempre com mais de dois
179 nucléolos, os quais se encontravam inicialmente no centro do núcleo, migrando para a
180 sua periferia, na medida em que progredia o desenvolvimento ovocitário. Da mesma
181 forma como foi observado na fase anterior, os ovócitos pré-vitelogênicos também
182 ocorreram em todos os estágios do desenvolvimento ovariano.

183

184 ***Ovócitos Alvéolo-corticais (OAC):*** As células nesse estágio se encontravam claramente
185 diferenciadas pela aparição de alvéolos, preenchidos provavelmente por lipídios, no
186 interior do citoplasma celular, próximo ao núcleo (Fig. 2C). Com o crescimento
187 ovocitário, os alvéolos corticais aumentam em número e seus tamanhos tornam-se
188 variados. Inicialmente os alvéolos são observados próximos a região nuclear, tendendo,
189 porém, a migrar para a periferia, conforme ocorre o desenvolvimento dos alvéolos. Foi
190 observada, ainda, nesse estágio, a presença de uma discreta membrana vitelínica e de
191 uma fina camada de células foliculares no entorno do ovócito, caracterizando, desta
192 forma, o folículo. Este estágio apresentou um discreto aumento médio no seu volume
193 em relação ao estágio anterior (menos que o dobro), com diâmetros variando de 47,23 a
194 125,14 μm .

195

196 ***Ovócitos vitelogênicos (OV):*** As células nesse estágio se caracterizam por apresentar
197 um grande acúmulo de substâncias de reserva, como proteínas e lipídios, as quais serão
198 utilizadas posteriormente na alimentação do embrião (Fig. 2D). Esse acúmulo de
199 substâncias no citoplasma acarreta um grande aumento do volume celular, quando
200 comparado com outras fases do desenvolvimento ovocitário, com as células nesse
201 estágio apresentando diâmetros entre 101,82 a 218,86 μm (mais do que o dobro da fase

202 anterior). Neste estágio já é possível observar, também, uma membrana vitelínica bem
203 mais definida.

204

205 **Ovócitos maduros (OM):** Os ovócitos desse estágio já se encontram com a vitelogênese
206 completa. Há um grande acúmulo de grânulos de vitelo no citoplasma destas células, o
207 que provoca um significativo aumento do seu volume, com os diâmetros celulares
208 variando de 217,64 a 354,73 μm . O citoplasma deixa de ser basófilo, quase que
209 totalmente, além de apresentar-se parcialmente hidratado. O núcleo se torna reduzido e
210 sem nucléolos perceptíveis, iniciando a sua migração para a periferia celular (Fig. 2E).
211 A membrana vitelínica (Fig. 1F) torna-se relativamente mais espessa e passa a
212 apresentar estrias. Esta foi a última fase do desenvolvimento ovocitário observada.

213 Foram observados, ainda, nos ovários do cangulo-preto, folículos atrésicos (FA),
214 os quais se caracterizam por terem completado todo o processo vitelogênico, embora,
215 por algum motivo, não tenham sido liberados no momento da desova. Estes ovócitos
216 são “destruídos” e absorvidos (Fig. 3A), sendo observados, de forma mais freqüente,
217 nos ovários em estágio de maturação final e maduro.

218 Além das células germinativas e suas diferentes fases identificadas e
219 caracterizadas acima, foram também identificadas algumas estruturas somáticas que
220 compõem os ovários, como: a parede ovariana (Fig. 3B), que recobre os ovários,
221 protegendo as células da linhagem germinativas do meio externo, sendo menos espessa
222 nos estágios ovarianos iniciais; células foliculares (Fig. 2F), visualizadas em todos os
223 estágios maturacionais do ovário, podendo ocorrer livremente entre as lamelas ovíferas
224 ou circundando os ovócitos; e os vasos sanguíneos (Fig. 3B), comumente observados
225 próximos a parede ovariana, oxigenando e nutrindo as células presentes nos ovários.

226

227 Diâmetro dos ovócitos (núcleo-citoplasma)

228 De uma maneira geral, os ovócitos apresentaram um crescimento nos valores
229 dos seus diâmetros ao longo do desenvolvimento ovocitário, com os ovócitos pré-
230 vitelogênicos apresentando diâmetros com valores em média mais do que o triplo
231 daqueles observados nas células jovens. Os menores incrementos foram observados nos
232 ovócitos alvéolo-corticais em relação aos pré-vitelogênicos (Fig. 4; Tabela 1). Os
233 valores de diâmetro dos núcleos dos ovócitos também aumentaram durante o
234 desenvolvimento ovocitário, com os menores incrementos ocorrendo, da mesma forma
235 que para o diâmetro celular, nos núcleos dos ovócitos alvéolo-corticais em relação aos
236 pré-vitelogênicos (Fig. 5; Tabela 1). Tanto os diâmetros dos ovócitos como dos núcleos
237 diferiram de forma estatisticamente significativa em todas as fases (Wilcox; $p < 0,05$).

238 A relação do diâmetro do núcleo e da célula (DN/ DC) apontou seus maiores
239 valores nos estágios iniciais do desenvolvimento ovocitário, enquanto que os menores
240 valores na proporção foram observados nas fases finais, nos ovócitos vitelogênicos e
241 maduros (Tabela 1).

242

243 *Descrição dos estágios maturacionais dos ovários*

244 Os estágios maturacionais dos ovários do cangulo-preto foram caracterizados e
245 identificados a partir do tipo e da quantidade de células observadas em todas as fases da
246 ovogênese. A partir dos 294 ovários examinados histologicamente, as fêmeas foram
247 classificadas em 4 estágios de maturação: início de maturação, maturação final, madura
248 e em repouso.

249

250 ***Início de maturação*** (Fig. 5 A): Este estágio, representado por apenas 2,2% (6) da
251 amostra analisada, se caracterizou pela presença de células jovens em grande

252 quantidade, formando pequenos “ninhos”, de ovócitos pré-viteogênicos e de alguns
253 poucos ovócitos vitelogênicos. Células foliculares foram também eventualmente
254 observadas. O tamanho médio das células encontradas neste estágio foi de 71 μ m. Os
255 ovócitos encontravam-se organizados em lamelas ovíferas.

256

257 **Maturação final** (Fig. 5 B): Representado por 9,9% (29) da amostra, este estágio se
258 caracterizou pela presença de ovócitos em todas as etapas da vitelogênese, desde células
259 jovens, em pequena quantidade, ovócitos pré-viteogênicos e ovócitos vitelogênicos em
260 grande número. Na fase final deste estágio foi possível observar ovócitos totalmente
261 maduros em pequenas concentrações, além de células foliculares. O tamanho médio dos
262 ovócitos foi de 85 μ m. Vasos sanguíneos foram freqüentemente observados nos cortes
263 histológicos, próximos à parede ovariana.

264

265 **Maduro** (Fig. 5 C): Este estágio foi o de maior ocorrência de toda a amostra analisada,
266 com 44,2% (130), tendo se caracterizado pela forte presença de ovócitos maduros, os
267 quais já ocorriam no estágio anterior, porém em baixas concentrações. Células jovens e
268 ovócitos pré-vitelogênicos foram ainda observados, mas em menores quantidades.
269 Células foliculares foram também encontradas com elevada frequência, circundando a
270 membrana vitelínica dos ovócitos maduros. O tamanho médio das células encontradas
271 neste estágio foi de 169 μ m, dobrando seu diâmetro em relação ao estágio anterior. Os
272 ovócitos não se encontravam mais organizados em lamelas ovíferas.

273

274 **Em Repouso** (Fig. 5 D): Este estágio, o segundo mais observado, representando 43,9%
275 (129) da amostra, caracterizou-se pela presença quase que exclusiva de células jovens e
276 ovócitos pré-viteogênicos. As células foliculares, embora presentes, já não ocorreram na

277 mesma frequência que no estágio anterior. O tamanho médio dos ovócitos encontrados
278 neste estágio, igual a 39 μm , foi o menor entre todos e a parede ovariana encontrava-se
279 bem mais espessa quando comparada com os demais.

280

281 **DISCUSSÃO**

282 Os Osteichthyes caracterizam-se por apresentarem uma elevada diversidade de modelos
283 reprodutivos (Jalabert, 2005), em razão certamente do grande número de espécies que
284 compõem o grupo (mais de 22.000; Moyle e Cech JR, 2004). Apesar dos diferentes
285 modelos reprodutivos, contudo, existem características fisiológicas e morfológicas
286 relacionadas aos mesmos semelhantes para a maior parte do grupo. Na maioria dos
287 casos, as gônadas das fêmeas (ovários), órgãos responsáveis pela formação e
288 desenvolvimento das células germinativas, apresentam-se pareadas, alongadas e
289 orientadas longitudinalmente dentro da cavidade abdominal (Jalabert, 2005). Os ovários
290 de cangulo-preto, *Melichthys niger*, examinados na presente pesquisa se apresentaram
291 morfológica- e estruturalmente semelhantes ao observado na grande maioria dos
292 teleósteos.

293 Com base em características macroscópicas, como morfologia, peso, tamanho,
294 vascularização e coloração das gônadas, o desenvolvimento ovariano dos teleósteos é
295 comumente classificado em cinco fases: imaturo, em maturação, maduro, desovado e
296 em repouso (Vazzoler, 1996). Alguns autores, entretanto, identificam um menor ou
297 maior número de estágios de maturação, para algumas espécies. Sahayak (2005), por
298 exemplo, em um estudo realizado na costa sudeste da Índia, com base nas características
299 externas dos ovários e na frequência do diâmetro dos ovócitos de *Sufflamen fraenatus*,
300 espécie de peixe recifal também pertencente à família balistidae, relatou apenas três
301 estágios de maturação ovariana: imaturo, em maturação e maduro.

302 No presente caso, foram identificados 4 estágios reprodutivos para o cangulo-
303 preto, no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, incluindo: início de maturação,
304 maturação final, maduro e em repouso. As fases de ovários imaturos e desovados,
305 normalmente observada em outros teleósteos, não foram registradas. A inexistência de
306 indivíduos imaturos está certamente relacionada ao tamanho dos exemplares capturados
307 (>19,0 cm de CT), estados estes indivíduos provavelmente em regiões mais profundas e
308 protegidas do ASPSP, regiões estas em que o apetrecho de pesca utilizado não teve
309 acesso.

310 A utilização exclusiva de características macroscópicas para a classificação do
311 desenvolvimento ovariano de peixes teleósteos vem sendo crescentemente criticada.
312 Honji *et al* (2006), por exemplo, alertaram que o uso de uma escala macroscópica para a
313 classificação da maturação ovariana de *Merluccius hubbsi* não era adequada em função
314 da desova múltipla adotada pela espécie, a qual poderia dificultar a identificação dos
315 estágios sem uma análise histológica. No presente caso, contudo, a escala macroscópica
316 proposta foi considerada adequada para a caracterização do desenvolvimento
317 reprodutivo da espécie, apesar da mesma apresentar um tipo de desova total, sincrônica
318 em dois grupos (Branco *et al.*, 2011).

319 As análises histológicas realizadas nas gônadas examinadas, contudo,
320 permitiram identificar claramente cinco estágios do desenvolvimento ovocitário (células
321 jovens, ovócitos pré-vitelogênicos perinucleolares, ovócitos alvéolo-corticalis, ovócitos
322 vitelogênicos, e ovócitos maduros), seguindo um padrão semelhante ao descrito para
323 outras espécies de peixes marinhos (Wallace e Selman, 1981), embora não tenham sido
324 observadas algumas das subdivisões relatadas por McMillan (2007). O estágio Células
325 Jovens identificado para o cangulo-preto, por exemplo, incluiu as ovogônias e os

326 ovócitos nas primeiras etapas do desenvolvimento, de forma semelhante ao *Estágio de*
327 *Crescimento Primário* e à fase cromatina-nucleolar descritas pelo referido autor.

328 No cangulo-preto, porém, embora as ovogônias, que são as menores células
329 analisadas, também tenham se caracterizado por aparecerem em “ninhos”, não foram
330 observadas grandes aglomerações, ocorrendo de maneira eventual, em pequenos grupos
331 e de forma isolada (Fig. 1A). Essa diferença pode ser explicada pela ausência de ovários
332 imaturos, os quais apresentam as maiores concentrações de ovogônias, em formatos de
333 ninhos (Vazzoler, 1996).

334 O segundo estágio de desenvolvimento ovocitário encontrado para o cangulo-
335 preto, denominado de Ovócitos pré-vitelogênicos, equivaleria à segunda fase do *Estágio*
336 *de crescimento primário*, denominada por McMillan (2007) de fase perinucleolar.
337 Apesar de este estágio ser considerado como uma fase do estágio de crescimento
338 primário pelo referido autor, na presente pesquisa o mesmo foi considerado como um
339 estágio independente em razão da facilidade de diferenciação do mesmo em relação aos
340 demais. A grande concentração de nucléolos no entorno da membrana interna do
341 núcleo, ou seja, na sua periferia, observada neste estágio, já foi registrada para diversos
342 teleósteos, tanto para espécies que habitam ambientes marinhos quanto para as que
343 habitam ambientes dulcícolas (Wallace e Selman, 1981; Tricas e Hiramoto, 1989;
344 Honji, 2006; Cárdenas *et al.*, 2008; Ganeco *et al.*, 2001; Abdalla e Cruz-Landim, 2003).

345 Os estágios *Alvéolo-corticais* e *Vitelogênicos* foram semelhantes aos descritos
346 por McMillan (2007). O estágio *alvéolo-cortical* observado nos ovários do cangulo-
347 preto caracterizou-se principalmente pela agregação de pequenas gotículas de lipídios
348 no citoplasma celular, característica comum em diversas espécies de teleósteos (Wallace
349 e Selman, 1981). Existem relatos, contudo, de que em algumas espécies a presença de
350 eventuais grânulos corticais ocorra no final do estágio pré-vitelogênico, como por

351 exemplo, para *Piaractus mesopotamicus* (Abdalla e Cruz-Landim, 2003). Os ovócitos
352 do estágio alvéolo-cortical foram marcados ainda por apresentarem uma fina e discreta
353 membrana vitelínica, de forma semelhante a outras espécies de teleósteos, como por
354 exemplo, *Bathdraco marri* (Mesa et al., 2007), embora em outras espécies a membrana
355 vitelínica possa aparecer somente no final do estágio pré-vitelogênico (Cárdenas et al.,
356 2008) ou apenas em estágios mais avançados do desenvolvimento ovocitário (Chaves,
357 1992; Tricas e Hiramoto, 1989).

358 O estágio Vitelogênico do cangulo-preto, da mesma forma que em grande parte
359 dos teleósteos, foi marcado por um aumento significativo do diâmetro dos ovócitos e,
360 principalmente, pela inclusão de gotículas de lipídios no citoplasma celular, processo
361 que já havia se iniciado no estágio anterior, pelo acúmulo exógeno de proteínas
362 (Wallace e Selman, 1981). No cangulo-preto as gotículas de lipídio parecem se formar
363 primeiro no entorno do núcleo, ao contrário do que foi relatado para *Chaetodon*
364 *multicinctus* (Tricas e Hiramoto, 1989), espécie que apresentou gotículas de vitelo
365 inicialmente na periferia do citoplasma, com as mesmas migrando posteriormente para o
366 interior da célula.

367 O último estágio de desenvolvimento ovocitário identificado para o cangulo-
368 preto foi o de ovócitos maduros, o qual não foi subdividido em fases, como descrito por
369 McMillan (2007). Na maioria dos teleósteos, o estágio maduro de desenvolvimento
370 ovocitário é caracterizado por um rápido aumento no volume folicular, em função da
371 hidratação e do acúmulo de macromoléculas. No cangulo-preto esse estágio foi
372 caracterizado por uma hidratação parcial dos ovócitos (Fig. 2E), ao contrário do
373 normalmente observado em diversos peixes marinhos (Robillard *et al.*, 2008; Honji,
374 2006). De uma maneira geral, porém, a hidratação dos ovócitos durante a maturação é
375 especialmente pronunciada em peixes que possuem ovos pelágicos ou flutuantes,

376 ocorrendo de forma menos acentuada em espécies que apresentam ovos demersais ou
377 que não flutuam, como acontece em muitas espécies da família balistidae, que
378 depositam seus ovos no substrato, entre as quais se incluem: *Balistes capriscus*
379 (Bernardes e Dias, 2000), *Sufflamen chrysopterus* (Kawase e Nakazono, 1992; Ishihara
380 e Kuwamura, 1996), *Xanthichthys mento* (Kawase, 2003), *Rhinecanthus aculeatus*
381 (Kuwamura, 1997), *Pseudobalistes flavimarginatus* (Gladstone, 1994) entre outras.
382 Outra razão para a baixa frequência de ovócitos hidratados reside também na rapidez
383 com que a hidratação ocorre na iminência da desova, conforme descrito por Tricas e
384 Hiramoto (1989), para *Chaetodon multicinctus*.

385 O diâmetro dos ovócitos do cangulo-preto apresentou uma ampla variação (6,09
386 a 354,73 μm) ao longo do desenvolvimento ovocitário. Sahayak (2005) relatou para
387 *Sufflamen fraenatus*, espécie da mesma família, uma variação um pouco maior, de
388 22,00 a 462,00 μm . Ofori-Danson (1990) relatou que os ovócitos de fêmeas de *Balistes*
389 *capriscus*, capturadas no período de desova, ou seja, fêmeas com ovários maduros,
390 apresentavam ovócitos com valores médios de 450,00 μm . Bernardes e Dias (2000),
391 também trabalhando com *Balistes capriscus*, observaram valores que variavam de 75,00
392 a 399,00 μm . Em todas as pesquisas citadas, os valores máximos do diâmetro dos
393 ovócitos apresentaram-se um pouco maiores que os encontrados no presente trabalho.
394 Contudo, o diâmetro dos ovócitos parece ser característico para cada espécie, haja vista
395 que a sua variação está estritamente ligada ao processo vitelogênico, ou seja, ao
396 acúmulo de vitelo no interior do citoplasma celular (Shinozaki, 2008).

397 Folículos atrésicos foram observados durante o desenvolvimento ovocitário do
398 cangulo-preto, de forma mais freqüente nos ovários em maturação final e maduros. A
399 observação de folículos atrésicos foi registrada eventualmente, também, no início de
400 maturação ovariana e raramente em ovários em repouso. Em alguns teleósteos, porém,

401 os folículos atrésicos são exclusivos do estágio em repouso, como no caso do *Brycon*
402 *orbignyanus* (Ganeco *et al.*, 2001). Ovócitos atrésicos, contudo, podem ocorrer em
403 qualquer estágio do desenvolvimento gonadal (Honji, 2006), uma vez que a
404 degeneração dos ovócitos ou atresia folicular é um processo por meio do qual, por
405 algum motivo (ambiental ou fisiológico), o ovócito começa a ser reabsorvido pelo
406 organismo, podendo tal fenômeno ocorrer tanto antes, nos ovócitos que não alcançaram
407 a maturidade, como após a desova, nos ovócitos que, por alguma razão, deixaram de ser
408 eliminados (Ganeco *et al.*, 2001).

409 Folículos pós-ovulatórios não foram encontrados nos ovários do cangulo-preto
410 examinados. Folículos nessa fase são normalmente observados em peixes com ovários
411 recém-desovados ou já em recuperação, após uma desova recente, embora possam ser
412 também eventualmente encontrados em ovários maduros (Mesa *et al.*, 2007). A ausência
413 de folículos pós-ovulatórios no presente caso, portanto, pode ser explicada pela ausência
414 de ovários desovados entre os espécimes examinados.

415

416

REFERÊNCIAS

417

418 ABDALLA, F. C., E AND CRUZ-LANDIM, C. Some histological and ultrastructural
419 aspects of oogenesis in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Teleostei). *Braz. J.*
420 *morphol. Sci.* 20(1), 3-10. 2003.

421

422 ACERO, P. A.; POLANCO, A. F. Peces del orden Tetraodontiformes de Colombia.
423 *Biota Colombia.* 7 (1): 155 – 164. 2006.

424

425 BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A.G. Manual de Técnicas
426 para Histologia Normal e Patológica. São Paulo, Edart, 256p. 1976.

427

- 428 BERNARDES, R. A. E DIAS, J. F. Aspectos da reprodução do peixe-porco, *Balistes*
429 *capriscus* (Gmelin) (Actinopterygii, Tetraodontiformes, Balistidae) coletado na costa
430 sul do Estado de São Paulo, Brasil. Revta bras. Zool. (3): 687 - 696. 2000.
431
- 432 CÁRDENAS, R. CHÁVEZ, M., GONZÁLEZ, J. L., ALEY, P., ESPINOSA, J.,
433 JIMÉNEZ-GARCÍA, L. F. Oocyte structure and ultrastructure in the Mexican silverside
434 fish *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). Rev. Biol. Trop.
435 (56): 1825-1835. 2008.
436
- 437 CARVALHO-FILHO, A. Peixes da Costa Brasileira. São Paulo, Melro. 1999.
438
- 439 CERVIGÓN, F. R.; CIPRIANI, W.; FISCHER, L.; GARIBALDI, M.; HENDRICKX,
440 A. J.; LEMUS, R.; MÁRQUES, J. M. POUTIERS, G.; ROBAIANA; RODRIGUEZ, B.
441 Fichas FAO de indentificacion de especies para los fines de la pesca. Guia de campo de
442 las especies comerciales marinas y aguas salobres de la costa septentrional de Sur
443 América. 513pp. 1992.
- 444 CHAVES, P. T. C. Aspectos do desenvolvimento ovocitário no peixe-pulmonado Sul-
445 americano, *Lepidosiren paradoxa* Fitzinger (Dipnoi). Rev. Bras. Zool. (9): 93-98.1992.
446
- 447 FARIÑA, A.; BELLORÍN, A.; SANT, S.; MÉNDEZ, E.; Estructura de la comunidad de
448 peces en un arrecife del Arquipélago Los Monjes, venezuela. Ciencias Marinas. 31 (3):
449 585 – 591. 2005.
450
- 451 FEITOZA, B. M.; ROSA, R. S.; ROCHA, L. A. Ecology and zoogeography of deep
452 reef fishes in Northeastern Brasil. Bulletin of Marine Science. 76 (3): 725 – 742, 2005.
453
- 454 GANECO, L. N., NAKAGHI, L.S.O., URBINATI, E. C., DUMONT NETO, R.,
455 VASQUES, L. H. Análise morfológica do desenvolvimento ovocitário de piracanjuba,
456 *Brycon orbignyanus*, durante o ciclo reprodutivo. Boletim do Instituto de Pesca, São
457 Paulo, 27(2): 131 - 138, 2001.
458
- 459 GASPARINI, J. L. FLOETER, S. R. The shore fishes of Trindade Island, Western
460 South Atlantic. Journal of Natural History. 35: 1639 – 1656. 2001.

461

462 GLADSTONE, W. Lek-like spawning, parental care and mating periodicity of the
463 triggerfish *Pseudobalistes flavimarginatus* (Balistidae). Environ. Biol. Of fishes 39:
464 249-257, 1994.

465

466 GRACE, M.; BAHNICK, M.; JONES, L. A Preliminary Study of the Marine Biota at
467 Navassa Island, caribbean Sea. Marine Fisheries Marine Fisheries Review. 62 (2): 43 –
468 48. 2000.

469

470 HONJI, R. M., VAZ-DOS-SANTOS, A. M. E ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D.
471 B.. Identification of the stages of ovarian maturation of the Argentine hake *Merluccius*
472 *hubbsi* Marini, 1933 (Teleostei: Merlucciidae): advantages and disadvantages of the use
473 of the macroscopic and microscopic scales. Neotropical Ichthyology, 4(3):329-337,
474 2006.

475

476 HUNTER, J. R.; MACEWICZ, B. & SIBERT, J. R. The spawning frequency of skipjack
477 tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the South Pacific. *Fisheries Bulletin*. v. 84, pp. 895-
478 903. 1986.

479 ISHIHARA, M E KUWAMURA, T. Bigamy or monogamy with maternal egg care in
480 the triggerfish, *Sufflamen chrysopterus*. Ichthyological research (43) 307-313, 1996.

481

482 JALABERT , B. Review Particularities of reproduction and oogenesis in teleost fish
483 compared to mammals. *Reprod. Nutr. . Dev.* 45: 261–279. 2005.

484

485 KAVANAGH, D. K., OLNEY, E. J. Ecological correlates of population density and
486 behavior in circumtropical black triggerfish *Melichthys niger* (Balistidae). *Environ Biol*
487 *Fish.* 76: 387-398. 2006.

488

489 KAWASE, H. E A. NAKAZONO. Reproductive behaviour of the flagtail triggerfish
490 *Sufflamen chrysopterus*. Proceedings of the Seventh International Coral Reef
491 Symposium, Guam, 2: 905-907.1992.

492

- 493 KAWASE, H. Spawning Behavior and Biparental Egg Care of the Crosshatch
494 Triggerfish, *Xanthichthys mento* (Balistidae). Environmental biology of fishes (66): 211-
495 219, 2003.
- 496
- 497 LUBBOCK, R. The shorefishes of Ascension Island. J Fish Biol. 17: 282 – 303. 1980.
- 498
- 499 MARTINS, A. S.; OLAVO, G.; COSTA, P. A. S. Padrões de Distribuição e Estrutura
500 de Comunidades de Grandes Peixes Recifais na Costa Central do Brasil. Biodiversidade
501 da fauna marinha profunda na costa central brasileira. Museu Nacional. 24: 45 – 61.
502 2007.
- 503
- 504 MCMILLAN, D. B.. Fish Histology: Female Reproductive Systems. Department of
505 Biology the University of Western Ontario London, Ontario Canada. Springer. 2007.
- 506
- 507 MESA, M., CAPUTO, V., EASTMAN, J. T. Gametogenesis in the dragonfishes
508 *Akarotaxis nudiceps* and *Bathyraco marri* (Pisces, Notothenioidei: Bathyracoideae)
509 from the Ross Sea. Antarctic Science 19 (1), 64–70. 2007.
- 510 MOYLE, P.B., CECH J.J. Fishes: An Introduction to Ichthyology. Ed: 5. Department
511 of Wildlife, Fish, and Conservation Biology. University of California, Davis. Pearson.
512 2004.
- 513
- 514 NELSON, J. S. Fishes of the World. 3rd edn. John Wiley & Sons, new York. 600 pp.
515 1994.
- 516
- 517 OFORI-DANSON, PK. Reproductive ecology of the triggerfish, *Balistes caprisus* from
518 the Ghanaian coastal waters. . Tropical Ecology. (31) 1-11. 1990.
- 519
- 520 ROBILLARD, E., REISS, C. S., E JONES, C. M. Reproductive biology of bluefish
521 (*Pomatomus saltatrix*) along the East Coast of the United States. Fisheries Research
522 (90): 198-208. 2008.
- 523
- 524 WALLACE, R.; SELMAN, K. Cellular and Dynamic Aspects of Oocyte Growth in
525 Teleosts. Amer. Zool., 21:325-343.1981.
- 526

- 527 SAHAYAK, S. Reproductive biology of the masked triggerfish *Sufflamen fraenatus*. J.
528 mar. biol. Ass. India, (1) : 70 - 76, 2005.
529
- 530 SAZIMA, I.; SAZIMA, C.; SILVA-JR, J. M. Fishes associated with spinner dolphins at
531 Fernando de Noronha Archipelago, tropical Western Atlantic: na update and overview.
532 Neotropical Ichthyology. 4 (4): 451 – 455. 2006.
533
- 534 SCHAEFFER, M. B. & ORANGE, C. J. Studies of the sexual development and
535 spawning of yellowfin tuna (*Neothunnus macropterus*) and skipjack (*Katsuwonus*
536 *pelamis*) in the three areas of the Eastern Pacific Ocean, by examination of gonads.
537 *Inter-American Tropical Tuna Commission Bulletin*. v. 1, no. 6, pp. 281-302. 1956.
538
- 539 SHINOZAKI, M. R. A. Biologia reprodutiva do guaimum, *Cardisoma Guanhumi*
540 Latreille, 1828 (Decapoda : Gecarcinidae) na Região de Aracati, CE / .2008.90f.
541
- 542 TETSUO KUWAMURA. Evolution of Female Egg Care in Harem
543 Triggerfish, *Rhinecanthus aculeatus*. *Ethology* (103) 1015–1023. 1997.
544
- 545 TRICAS, T.C. E . HIRAMOTO, J. T. .Sexual differentiation, gonad development, and
546 spawning seasonality of the Hawaiian butterflyfish, *Chaetodon multicinctus*.
547 *Environmental biology of fishes* (25): 111-124, 1989.
548
- 549 VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e
550 Prática. EDUEM (Editora da Universidade Estadual de Maringá), 169 p. 1996.
551

TABELAS

TABELA I. Diâmetro (média \pm desvio padrão) dos ovócitos e dos seus núcleos, e a relação entre as duas medidas (%) para cada estágio do desenvolvimento ovocitário dos ovários das fêmeas de *M. niger* capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

	CJ	OPV	OAC	OV	OM
DC (μm)	12,94 \pm 4,44*	53,56 \pm 15,01*	83,11 \pm 13,46*	160,48 \pm 26,85*	289,80 \pm 30,79*
DN (μm)	5,77 \pm 2,75*	24,81 \pm 7,74*	37,30 \pm 7,69*	64,31 \pm 14,00*	83,10 \pm 18,03*
DN/DC (%)	44,09 \pm 9,71	46,45 \pm 7,66	44,82 \pm 5,43	40,19 \pm 5,88	28,83 \pm 6,32

Asteriscos indicam diferenças significativas (Wilcox; $p < 0,05$).

FIGURAS

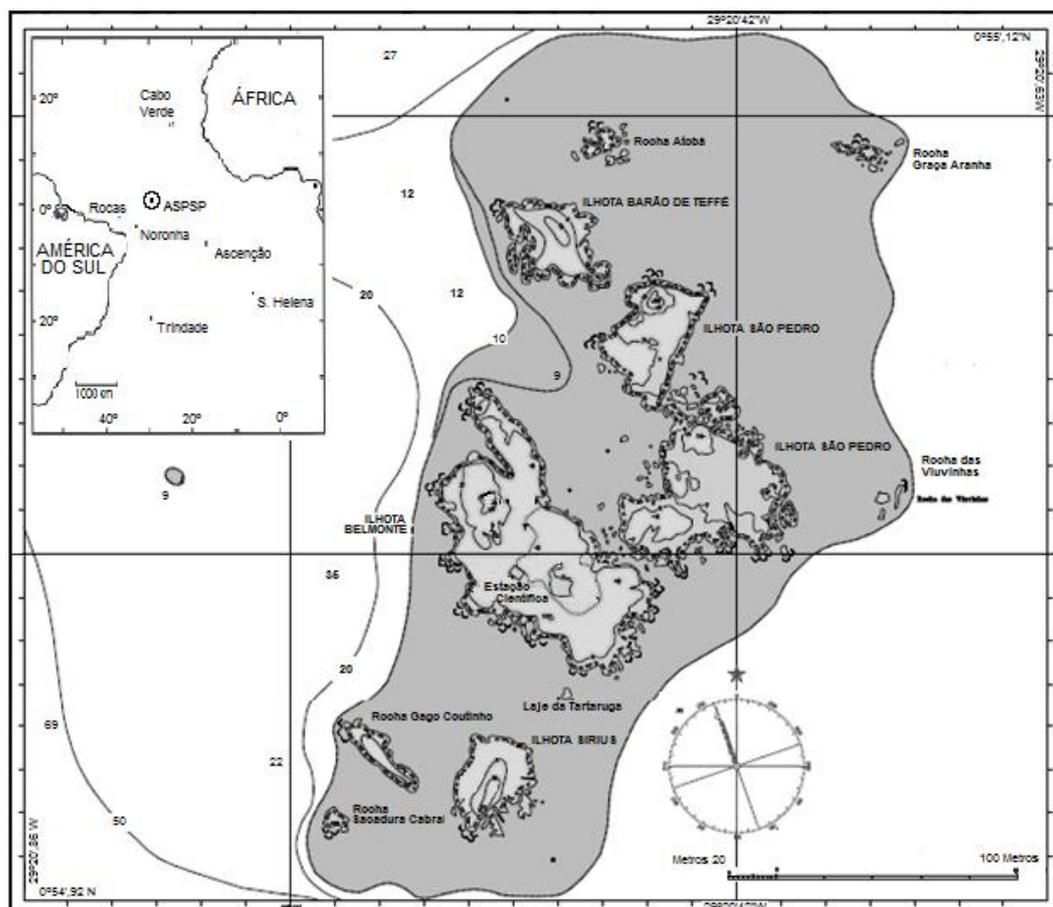


FIG. 1. Localização geográfica e mapa do Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

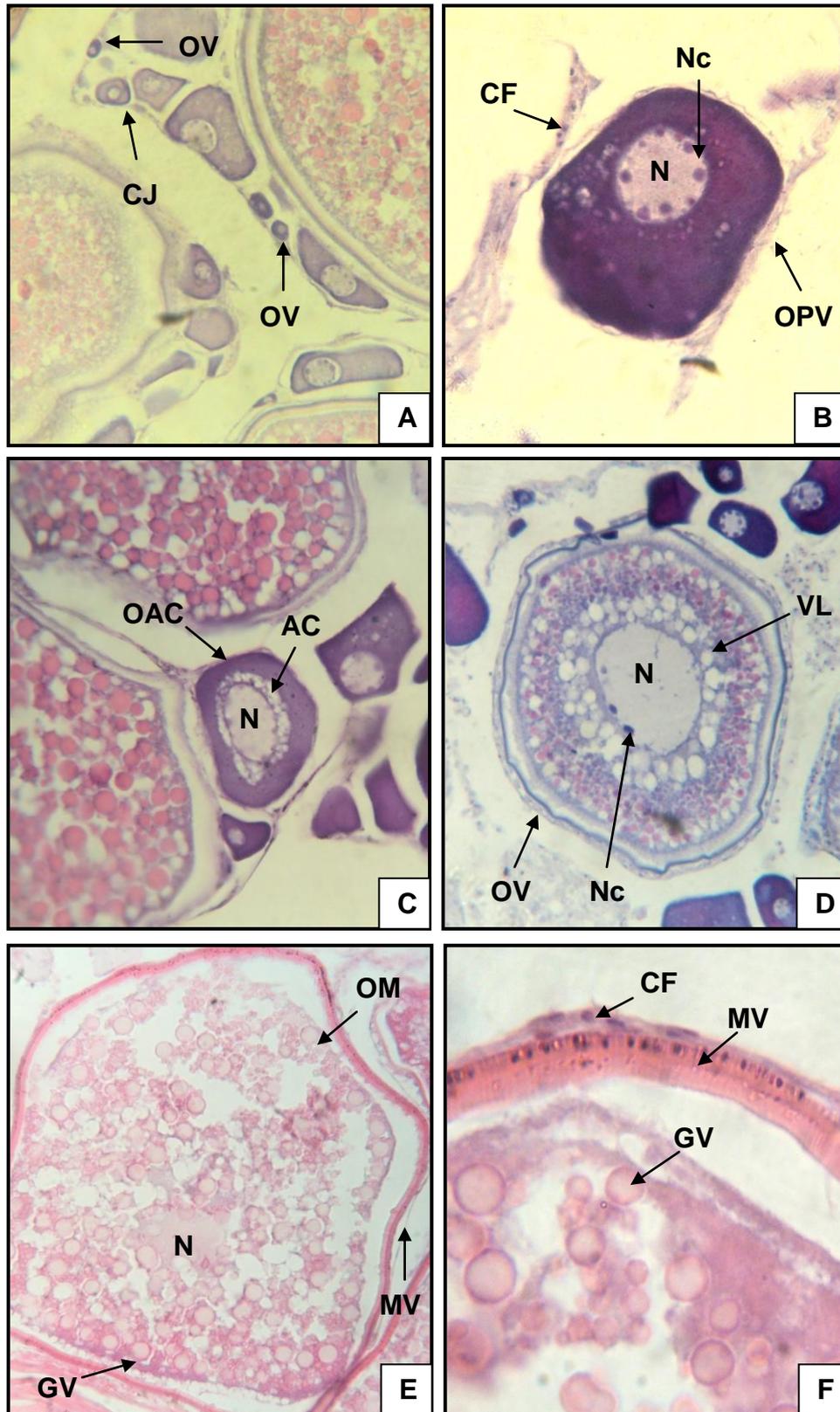


FIG. 2. Fotomicrografias dos estágios da ovogênese dos ovários de fêmeas de cangulo-preto, *M. Níger*, capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008. (A) células jovens- **CJ** (ovogônias- **OV**); (B) ovócitos pré-vitelogênicos- **OPV**; (C) ovócito alvéolo-cortical- **OAC**; (D) ovócito vitelogênico- **OV**; (E) ovócito maduro- **OM**; (F) ovócito maduro- **OM**; (F) ovócito maduro- **OM**; (F) ovócito maduro- **OM**.

(F) membrana vitelínica (radiada)- MV. (N: núcleo; Nc: nucléolo; CF: célula folicular; VL: vacúolo lipídico; GV: gotícula de vitelo; AC: alvéolo cortical. (Aum. 40x).

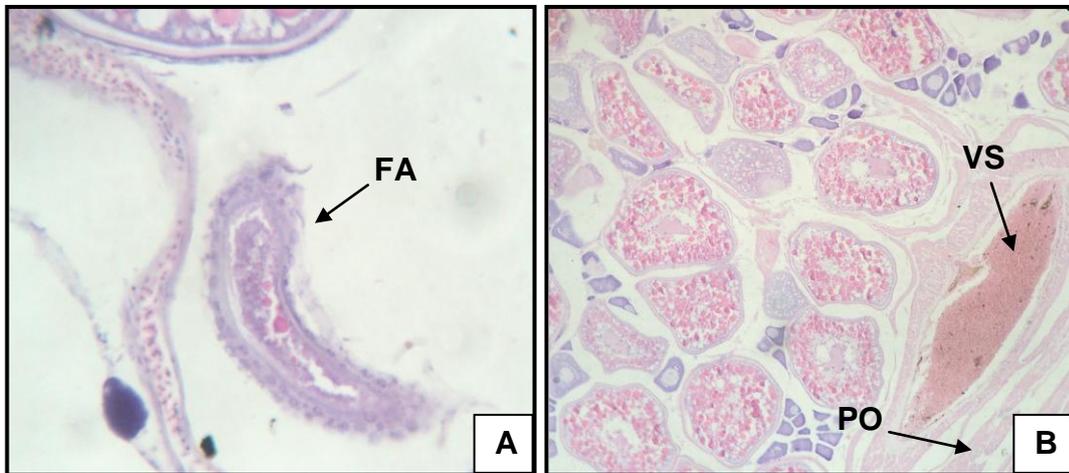


FIG.3. Fotomicrografias das células germinativas e de estruturas somáticas dos ovários de fêmeas do cangulo-preto, *M. niger*, capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008. (A) folículo atrésico- FA; (B) vaso sanguíneo- VS; e parede ovariana- PO. (Aum. 40x).

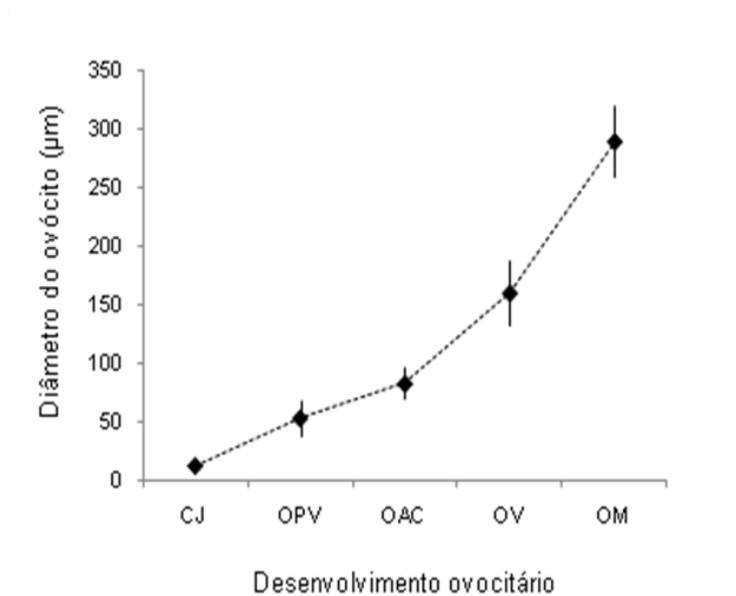


FIG. 4. Diâmetro médio (µm) dos ovócitos, para cada estágio do desenvolvimento ovocitário dos ovários de fêmeas de cangulo-preto, *M. niger* capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

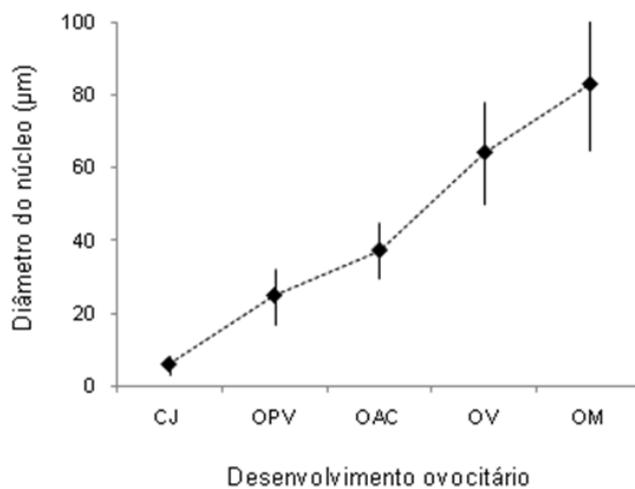


FIG. 5. Diâmetro médio (μm) dos núcleos dos ovócitos, para cada estágio do desenvolvimento ovocitário dos ovários de fêmeas de cangulo-preto, *M. niger* capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

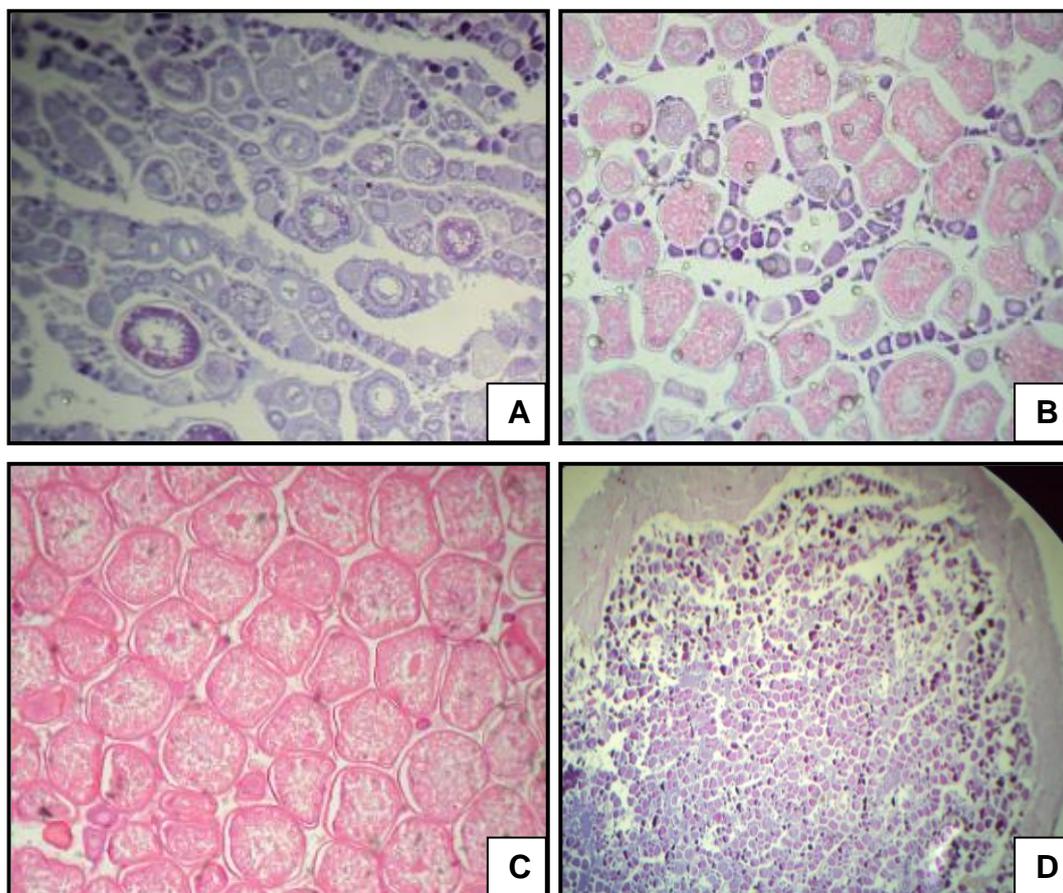


FIG. 5. Fotomicrografia de seções dos ovários de *Melichthys niger* nos diferentes estágios de maturação, sendo (A) início de maturação; (B) maturação final; (C) madura e (D) repouso.

4. Artigo científico

4. 2. Artigo científico II

CICLO REPRODUTIVO DO CANGULO-PRETO (*Melichthys niger*, BLOCH, 1789) CAPTURADO NO ARQUIPÉLAGO DE SÃO PEDRO E SÃO PAULO- BRASIL

Artigo científico a se encaminhado para a revista Journal of Fish Biology

1 **Ciclo reprodutivo do Cangulo-preto (*Melichthys niger*, Bloch, 1789) capturado** 2 **no Arquipélago de São Pedro e São Paulo- Brasil**

3 I. S. L. BRANCO*, F. H. V. HAZIN*, D. L. VIANA‡, D. P. VERAS ‡,

4 P. G. V. OLIVEIRA *

5 **Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Oceanografia, Cidade*

6 *Universitária, 50670- 901 Recife, PE, Brasil e ‡Universidade Federal Rural de*

7 *Pernambuco, Departamento de Pesca e Aquicultura, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n,*

8 *Dois Irmãos, 52171- 900, Recife, PE, Brasil*

9
10 O cangulo-preto, *Melichthys niger*, é uma espécie da família Balistidae, a qual é constituída por 11
11 gêneros e 40 espécies. Possuindo uma coloração que vai do azul marinho ao preto, com reflexos verde-
12 metálicos, pode chegar a até 50 cm de comprimento total, apresentando uma distribuição circumtropical.
13 No presente trabalho foram examinados exemplares de cangulo-preto, obtidos a partir da pesca comercial
14 no Arquipélago de São Pedro e São Paulo- ASPSP (00°55'02" N e 29°20'42"W), no período de janeiro de
15 2006 a maio de 2008. Logo após a captura, os espécimes foram identificados e mensurados, aferindo-se
16 os seus comprimentos total (CT) e padrão (CP). Em seguida, todos os exemplares foram dissecados para
17 permitir a coleta do aparelho reprodutor, os quais foram fixados em solução de formol a 10%, tendo sido,
18 então, acondicionados em bombonas plásticas, até a sua chegada ao laboratório. No período do estudo,
19 foram analisados 777 indivíduos, dos quais 367 eram fêmeas e 410 eram machos. As fêmeas variaram de
20 19,0 a 32,0 cm de comprimento total, e os machos de 21,0 a 37,4 cm. Das 294 fêmeas cujos ovários
21 foram analisados histologicamente, foi possível a identificação de 4 estágios maturacionais: início de
22 maturação, maturação final, maduro e em repouso. Não foi encontrada nenhuma fêmea no estágio imaturo
23 ou desovado.

24
25 **Palavra-chave:** Balistidae, maturação sexual, IG, tipo de desova.

26
27

28
29

INTRODUÇÃO

30 Os peixes da família balistidae, se caracterizam, em geral, por possuírem hábitos
31 bentônicos, habitando próximos a recifes de corais, na linha de costa, em profundidades
32 de até 100 m, embora algumas espécies sejam pelágicas, ocorrendo no oceano aberto
33 (Thresher, 1980).

34 Atualmente existem ainda poucas informações a respeito do comportamento e
35 do hábito reprodutivo das espécies que constituem a família Balistidae. De uma forma
36 geral, possuem uma desova demersal, produzindo um grande número de pequenos ovos,
37 adesivos, os quais, em algumas espécies, possuem uma coloração em tons de verde.
38 Presumivelmente esses ovos permanecem camuflados, aderidos ao fundo, em corais e
39 algas (Thresher, 1980). O cuidado parental durante o desenvolvimento dos ovos é uma
40 característica marcante do grupo (Gladstone, 1994), já tendo sido registrada para
41 *Balistes capriscus* (Bernardes e Dias 2000), *Xanthichthys mento* (Kawase 2003),
42 *Sufflamen chrysopterus* (Kawase e Nakazono, 1992) dentre várias outras.

43 Uma das espécies menos conhecidas da família Balistidae, em razão do seu
44 hábito estritamente oceânico e insular, é o *Melichthys niger*, conhecido popularmente
45 como cangulo-preto. Podendo chegar a até 50 cm de comprimento (Cervigón *et al.*,
46 1992) e apresentando uma distribuição circumtropical (Carvalho-Filho, 1999), o
47 cangulo-preto possui registros de ocorrência na Ilha de Navassa, no Mar do Caribe
48 (Grace *et al.*, 2000); no Arquipélago dos Monjes, na Venezuela (Farina *et al.*, 2005); na
49 Ilha de Ascensión (Lubbock, 1980); e no Brasil, onde ocorre na costa central (Martins *et*
50 *al.*, 2007) e nordeste (Feitosa *et al.*, 2005), incluindo a Ilha de Trindade (Gasparini,
51 2001), o Arquipélago de Fernando de Noronha (Sazima *et al.*, 2006) e o Arquipélago de
52 São Pedro e São Paulo.

53 Apesar da sua grande importância ecológica para os ecossistemas insulares,
54 poucas informações existem a respeito da biologia do *Melichthys niger*, em especial a
55 respeito do seu ciclo reprodutivo, perdurando uma carência aguda de informações,
56 desde época, tipo e local de desova até detalhes mais específicos, como o
57 desenvolvimento ovariano e ovocitário. No intuito, portanto, de preencher essa lacuna, o
58 presente trabalho teve como objetivo estudar a biologia reprodutiva da espécie,
59 incluindo informações sobre seu ciclo reprodutivo, fecundidade e tipo de desova, no
60 Arquipélago de São Pedro e São Paulo.

61

62

MATERIAL E MÉTODOS

63 No período de janeiro de 2006 a maio de 2008, foram analisados 777 cangulos-preto,
64 capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo (ASPSP), utilizando-se como
65 aparelho de pesca, o puçá. Logo após o embarque, os espécimes foram identificados e
66 mensurados, aferindo-se os seus comprimentos total (CT) e padrão (CP). Em seguida,
67 todos os exemplares foram dissecados para permitir a coleta do aparelho reprodutor, os
68 quais foram fixados em solução de formol a 10%, sendo, então, acondicionados em
69 bombonas plásticas, até a sua chegada ao laboratório.

70 Uma vez em laboratório, as gônadas foram retiradas da solução de formol e
71 transferidas para uma solução de álcool etílico a 70%. Em seguida, as gônadas foram
72 pesadas, medidas (comprimento e largura) e analisadas macroscopicamente para
73 identificação do sexo.

74 Para a determinação precisa dos estádios de maturação das gônadas, foram
75 realizados cortes transversais na sua porção mediana, para obtenção de uma pequena
76 secção, com cerca de 1 mm³, as quais foram posteriormente desidratadas e incluídas em
77 parafina a 60°C (Behmer *et al.*, 1976). Os blocos de parafina foram cortados, por sua

78 vez, em lâminas com 6 μm de espessura, as quais foram, em seguida, coradas com
79 Hematoxilina- Eosina (HE) e examinadas por meio de microscópio óptico. A
80 classificação dos estádios maturacionais das gônadas das fêmeas foi efetuada segundo a
81 escala de Hunter *et al.* (1986), tendo sido considerados os seguintes estágios: imatura,
82 início de maturação, média maturação, madura, desovada e em repouso. Das 367 fêmeas
83 capturadas, 294 (80,1%) tiveram os seus ovários examinados histologicamente. Para a
84 determinação dos estádios de maturação dos machos foi usada a classificação de
85 Brown-Peterson (2002), a qual considera cinco estágios: imaturo, em maturação,
86 maduro, esvaziado e em repouso. Dos 410 machos capturados só foi possível a análise
87 histológica de 214 testículos (52,2%).

88 A proporção sexual foi estimada por meio da relação entre machos e fêmeas
89 para todos os meses amostrados, aplicando-se um teste não paramétrico de χ^2 , ao nível
90 de 5% de significância (Snedecor e Cochran, 1989; Mendes, 1999), no intuito de se
91 identificar a existência de diferenças estatisticamente significantes. As diferenças entre
92 o comprimento total (cm) de machos e fêmeas foi analisada aplicando-se primeiramente
93 um teste de normalidade (*Shapiro-Wilk*), seguido de um teste de homogeneidade das
94 variâncias (teste de “*Bartlett*”), e, por ultimo, de um teste para comparação de médias
95 (*Wilcox*).

96 Para a determinação do Índice Gonadal (IG) foi utilizada a equação proposta por
97 Schaeffer & Orange (1956), como segue: $IG = PG / CT^3 \times 10^5$ onde: IG= Índice Gonadal;
98 PG= Peso da Gônada (g) e CP= Comprimento Padrão (cm).

99 Para a análise do tipo de desova, imagens dos diferentes estágios maturacionais
100 dos ovários foram digitalizadas a fim de se permitir uma análise, através do software
101 Image Tool 3.0 para Windows, do diâmetro dos ovócitos nos diferentes estágios do
102 desenvolvimento ovariano. Foram mensurados o diâmetro máximo dos ovócitos

103 presentes nos cortes histológicos dos ovários de 19 fêmeas, nos 4 estágios de
104 maturidade observados. Após a obtenção da distribuição relativa dos ovócitos por classe
105 de diâmetro para cada estágio, utilizou-se a classificação proposta por Marza (1938)
106 para caracterizar o tipo de desova: sincrônico em um grupo, sincrônico em dois grupos,
107 sincrônico em mais de dois grupos ou assincrônico.

108 A fecundidade relativa foi estimada a partir da contagem do número total de
109 ovócitos hidratados em amostras de 0,5g da porção mediana de 8 ovários no estágio
110 maduro, extrapolando-se o resultado para o peso total dos ovários (Vazzoler, 1996).

111 A obtenção dos dados de temperatura da superfície do mar (TSM) foi adquirida
112 pelo Projeto PIRATA - Pilot Research Moored Array in the Tropical Atlantic
113 (<http://www.pmel.noaa.gov/pirata/>). Foram utilizadas médias diárias, durante o período
114 do trabalho, de uma das bóias próximas ao ASPSP, sobre o equador a 35°W.

115

116

RESULTADOS

117 Dos 777 indivíduos analisados, 367 (47,2%) eram fêmeas e 410 (52,8%) eram machos,
118 resultando em uma proporção sexual próxima de 1 macho: 1 fêmea, não tendo sido
119 observada diferença estatisticamente significativa entre os sexos. Contudo, quando
120 analisados separadamente, a cada mês, machos apresentaram-se significativamente mais
121 freqüentes que as fêmeas nos meses de fevereiro, agosto e setembro, enquanto as
122 fêmeas mostraram-se mais numerosas que os machos apenas no mês de abril ($P < 0,05$)
123 (Tabela 1).

124 O comprimento total (CT) das fêmeas variou de 19,0 a 32,0 cm e o dos machos
125 entre 21,0 e 37,4 cm de CT. Os machos capturados apresentaram-se estatisticamente
126 maiores que as fêmeas (Wilcox= 26781.5; $p = < 2.2e-16$). A classe de maior freqüência

127 para as fêmeas se situou entre 25,0 e 28,0 cm de CT, enquanto que para os machos esse
128 intervalo ficou entre 28,0 e 31,0 cm de CT (Fig. 1).

129 Das 294 fêmeas cujos ovários foram analisados histologicamente, foi possível a
130 identificação de 4 estágios maturacionais, dos quais 44,2% (130) encontravam-se
131 maduras, com comprimento total variando entre 23,0 e 30,5 cm; 43,9% (129) estavam
132 em repouso (CT entre 23,4 e 32,0 cm); 9,9% (29), em maturação final (CT entre 20,5 e
133 30,0 cm), e 2,2% (6), em início de maturação (CT entre 19,0 e 30,0 cm) (Fig. 2). Não
134 foi encontrada nenhuma fêmea no estágio imaturo ou desovado.

135 A distribuição mensal dos estágios maturacionais (Fig. 3) indica uma maior
136 frequência de fêmeas maduras durante o primeiro semestre do ano, entre fevereiro e
137 junho, e uma concentração de fêmeas em repouso durante o segundo semestre.
138 Tendência semelhante foi observada na variação da média mensal do Índice Gonadal
139 (IG) (Fig. 4) que apresentou os maiores valores no primeiro semestre, observando-se
140 um maior pico no mês de março. A frequência dos meses de fêmeas maduras coincidiu
141 com os meses mais quentes do ano, como pode ser observado na figura 5.

142 Dos 214 machos cujos testículos puderam ser examinados histologicamente,
143 44,4% (95) se encontravam em maturação, com comprimento total variando entre 24,0 e
144 33,0 cm; 40,7% (87) estavam maduros (CT entre 25,0 e 32,0 cm); 11,2% (24), em
145 repouso (CT entre 26,0 e 31,3 cm), e 3,7% (8), esvaziados (CT entre 24,0 e 30,5 cm)
146 (Fig. 6). Não foram observados machos imaturos.

147 Foram observados machos no estágio maduro ao longo de quase todo o ano, com
148 exceção dos meses de agosto e setembro. A distribuição mensal dos estágios
149 maturacionais (Fig. 7), contudo, aponta uma maior frequência de machos maduros
150 durante o primeiro semestre do ano, particularmente nos meses de fevereiro e março.

151 Os valores médios mensais de IG mais altos para os machos, da mesma forma
152 que para as fêmeas, também foram observados no primeiro semestre do ano, com um
153 pico no mês de fevereiro (Fig. 4).

154 A média da fecundidade absoluta foi igual a 166.422 ovócitos, para cada ovário
155 em estágio maduro, variando de 155.799, em um indivíduo com CT de 28,5cm e gônada
156 pesando 26,88g, a 213.866, em um indivíduo com 27,5 cm de CT e peso da gônada
157 igual a 37,86g. A distribuição da frequência dos diâmetros dos ovócitos dos ovários
158 examinados apresentou uma moda em todos os estágios, entre a classe de 0 e 100 μm , o
159 que indica a presença constante de ovócitos de estoque de reserva (Fig. 8). O
160 desenvolvimento ovocitário se deu em forma de lotes, indicando que a espécie possui
161 uma desova sincrônica em dois grupos. O diâmetro dos ovócitos variou entre 6 e 371 μm .

162

163

DISCUSSÃO

164 A amplitude de comprimento total dos indivíduos de *Melichthys niger* capturados no
165 Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre 19,0 a 37,4 cm, se aproxima da observada
166 por Kavanagh e Olney (2006) em estudo realizado na barreira de recifes de Belize
167 (América Central) e na plataforma de Porto Rico, locais onde indivíduos acima de 21,0
168 cm de comprimento padrão prevaleceram em toda a amostra. A mesma tendência,
169 contudo, não foi registrada para exemplares analisados no Atol de Johnston, onde os
170 mesmos raramente excediam 19,0 cm de comprimento padrão.

171 A tendência dos machos capturados se apresentarem estatisticamente maiores
172 que as fêmeas, observada no Arquipélago São Pedro e São Paulo, não foi registrada por
173 Kavanagh e Olney (2006) para a mesma espécie, na América Central, local onde a
174 distribuição do comprimento padrão não foi significativamente diferente entre os sexos.

175 A proporção sexual registrada no presente trabalho para o *Melichthys niger*,
176 próxima de 1 macho para 1 fêmea, foi semelhante aos dados obtidos em pesquisa
177 realizada na costa Sudeste da Índia, com *Sufflamen fraenatus* (Sahayak 2005), e em
178 trabalho realizado na ilha de Lizard (Austrália) com *Canthigaster valentini*. Contudo
179 tais resultados diferem dos relatados por Ofori-Danson (1990) em pesquisa realizada na
180 costa da África (Gana), com *Balistes capriscus*. O autor relatou uma proporção sexual
181 de machos maiores que as de fêmeas (1:0,87).

182 As fêmeas de *Melichthys niger* examinadas no presente trabalho se encontravam
183 em 4 estágios de maturação sexual (início de maturação, em maturação final, maduras e
184 em repouso), não tendo sido registrada a presença de nenhum ovário em estágio imaturo
185 ou desovado. Corroborando com o que foi registrado por Sahayak (2005) em pesquisa
186 realizada na costa Sudeste da Índia, com *Sufflamen fraenatus*, o autor identificou três
187 estágios de maturação ovariana (imaturo, em maturação e maduro), não sendo registrada
188 a presença de indivíduos desovados em toda a amostra analisada.

189 A ausência de indivíduos imaturos e desovados de *Melichthys niger* pode ser
190 explicada por uma possível migração dos espécimes nesses estágios para locais
191 inacessíveis ao aparelho de pesca utilizado (puçá superficial), uma vez que vários
192 balistídeos possuem desova demersal, com ovos adesivos, e cuidado parental (Kawase e
193 Nakazono, 1992; Kawase, 2003; Gladstone, 1994; Kuwamura, 1997).

194 Bernardes e Dias (2000), estudando a biologia reprodutiva do *Balistes capriscus*,
195 observaram uma tendência semelhante à encontrada no presente trabalho, concluindo
196 que a baixa frequência de indivíduos no estágio D (ovócitos hidratados) e E (desovados)
197 nas amostras, provavelmente se deviam ao comportamento reprodutivo da espécie, ou
198 seja, em função do deslocamento dos reprodutores para áreas mais profundas para a

199 construção e permanência nos ninhos de desova, tornando-se conseqüentemente menos
200 acessíveis à pesca.

201 A maior frequência de fêmeas maduras durante o primeiro semestre do ano,
202 principalmente nos meses de março a junho, associada à forte predominância de fêmeas
203 em repouso no segundo semestre, indicam uma maior atividade reprodutiva da espécie
204 no Arquipélago de São Pedro e São Paulo na primeira metade do ano, em especial nos
205 meses de março a junho. Essa tendência é confirmada ainda a partir da variação da
206 média mensal do Índice Gonadal, que apresentou os maiores valores no primeiro
207 semestre, com um pico no mês de março. Uma variação sazonal no ciclo reprodutivo
208 semelhante foi encontrada para diversas outras espécies de peixes estudados no ASPSP,
209 a exemplo da *Acanthocybium solandri* (Viana, 2007) do *Elagatis bipinnulata* (Pinheiro,
210 2005) e do *Cypselurus cyanopterus* (Lessa *et al.*, 1999) apresentando a última espécie
211 uma maior atividade reprodutiva particularmente entre dezembro e março.

212 Essa elevada atividade reprodutiva no ASPSP no primeiro semestre do ano
213 provavelmente esta associada a uma série de fatores abióticos e bióticos incidentes
214 nesse ecossistema. A temperatura da superfície do mar (TSM), por exemplo, que
215 costuma atuar como um gatilho para a maturação gonadal de muitos peixes, apresentou
216 seus maiores valores no ASPSP, no período do trabalho, nos meses de fevereiro a junho,
217 com um pico nos meses de abril e maio, coincidindo, portanto com o período de maior
218 atividade reprodutiva da maior parte das espécies que se reproduzem no entorno do
219 ASPSP. Esta tendência também foi registrada para *Balistes capriscus* na costa da
220 África, onde o período de desova coincidiu com os meses mais quentes do ano da região
221 (Ofori-Danson 1990).

222 Outro aspecto relevante é a maior abundância de peixes pelágicos filtradores no
223 ASPSP, durante o primeiro semestre do ano, como no caso do tubarão-baleia,

224 *Rhincodon typus* (Hazin, 2008) e da raia manta, *Mobula tarapacana*, espécies que
225 costumam se concentrar em áreas com elevada abundância de organismos forrageiros,
226 como no caso de ovos e larvas das espécies que se reproduzem no entorno do
227 arquipélago, nesse período.

228 Estimativas de fecundidade não foram encontradas para a espécie *M. niger* na
229 literatura. A fecundidade ovariana encontrada no presente trabalho, entre 155.799 e
230 166.422, com média de 166.422 ovócitos hidratados, aproxima-se dos valores
231 encontrados para outras espécies da família balistidae (Lobel e Johannes, 1980), com
232 tamanho corporal próximo ao *M. niger*, como no caso do *Sufflamen chrysopterus*
233 (132.800 ovócitos; Kawase e Nakazono, 1992). Em um contexto geral segundo Sahayak
234 (2005) os peixes da família balistidae possuem uma elevada fecundidade.

235 O desenvolvimento ovocitário em forma de lotes, sendo o primeiro lote formado
236 pelos ovócitos de estoque de reserva e o segundo pelos ovócitos que vão maturar
237 sincronicamente e serão eliminados no período da desova, caracteriza um
238 desenvolvimento sincrônico em dois grupos e uma desova do tipo total, os quais foram
239 registrados para o *M. niger* no presente caso. Tais resultados são semelhantes aos que
240 foram registrados por Bernardes e Dias (2000) para *Balistes capriscus*, apresentando a
241 espécie também um desenvolvimento ovocitário sincrônico, com uma desova total.
242 Sahayak (2005), entretanto, relatou a presença de múltiplas modas nos ovários maduros
243 de *Sufflamen fraenatus*, sugerindo que a espécie desova em lotes.

244 As informações apresentadas no presente trabalho são importantíssimas para um
245 melhor entendimento da biologia e ecologia da espécie, haja vista que são poucas as
246 informações na literatura a respeito, em especial, das fases iniciais de vida do *M. niger*
247 (Kavanagh e Olney, 2006), contudo a extrema abundancia da espécie em ilhas isoladas
248 e remotas como é o caso do Atol de Johnston, sugere que a mesma apresente realmente

249 um grande sucesso na colonização desses ambientes. Deste modo são necessários
250 maiores esforços no intuito de se obter informações a respeito de indivíduos de tamanho
251 reduzido, que ainda não atingiram sua maturidade sexual. Tais resultados podem ser
252 obtidos através da elaboração de estudos relacionados à densidade populacional e ao
253 comportamento reprodutivo da espécie em questão, no ASPSP.

254

255

256

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

257

258 BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS NETO, A.G. Manual de Técnicas
259 para Histologia Normal e Patológica. São Paulo, Edart, 256p. 1976.

260

261 BERNARDES, R. A. E DIAS, J. F. Aspectos da reprodução do peixe-porco, *Balistes*
262 *capriscus* (Gmelin) (Actinopterygii, Tetraodontiformes, Balistidae) coletado na costa
263 sul do Estado de São Paulo, Brasil. **Revta bras. Zool.** (3): 687 - 696. 2000.

264

265 BROWN-PETERSON, N. J., FRANKS, J. S. and BURKE, A. M., 2000. Preliminary
266 observations on the reproductive biology of wahoo, *Acanthocybium solandri*, from the
267 northern Gulf of Mexico and Bimini, Bahamas. Proceedings of the Gulf and Caribbean
268 Fisheries Institute 51. 414 – 427p.

269

270 CARVALHO-FILHO, A. Peixes da Costa Brasileira. São Paulo, Melro. 1999.

271

272 CERVIGÓN, F. R.; CIPRIANI, W.; FISCHER, L.; GARIBALDI, M.; HENDRICKX,
273 A. J.; LEMUS, R.; MÁRQUES, J. M. POUTIERS, G.; ROBAIANA; RODRIGUEZ, B.
274 Fichas FAO de indentificacion de especies para los fines de la pesca. Guia de campo de
275 las especies comerciales marinas y aguas salobres de la costa septentrional de Sur
276 América. 513pp. 1992.

277

278 FARIÑA, A.; BELLORÍN, A.; SANT, S.; MÉNDEZ, E.; Estructura de la comunidad de
279 peces en un arrecife del Arquipélago Los Monjes, venezuela. **Ciencias Marinas.** 31 (3):
280 585 – 591. 2005.

281

282 FEITOZA, B. M.; ROSA, R. S.; ROCHA, L. A. Ecology and zoogeography of deep
283 reef fishes in Northeastern Brasil. **Bulletin of Marine Science**. 76 (3): 725 – 742, 2005.

284

285 GASPARINI, J. L. FLOETER, S. R. The shore fishes of Trindade Island, Western
286 South Atlantic. **Journal of Natural History**. 35: 1639 – 1656. 2001.

287

288 GLADSTONE, W. Lek-like spawning, parental care and mating periodicity of the
289 triggerfish *Pseudobalistes flavimarginatus* (Balistidae). **Environ. Biol. Of fishes** 39:
290 249-257, 1994.

291 GRACE, M.; BAHNICK, M.; JONES, L. A Preliminary Study of the Marine Biota at
292 Navassa Island, caribbean Sea. **Marine Fisheries Review**. 62 (2): 43 – 48. 2000.

293

294 HAZIN, FHV., VASKE JÚNIOR, T., OLIVEIRA, PG., MACENA, BCL.,
295 CARVALHO, F. Occurrences of whale shark (*Rhincodon typus* Smith, 1828) in the
296 Saint Peter and Saint Paul Archipelago, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 68, p. 385-389, 2008.

297

298 HUNTER, J. R.; MACEWICZ, B. & SIBERT, J. R. The spawning frequency of skipjack
299 tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the South Pacific. **Fisheries Bulletin**. v. 84, pp. 895-
300 903. 1986.

301

302 KAVANAGH, D. K., OLNEY, E. J. Ecological correlates of population density and
303 behavior in circumtropical black triggerfish *Melichthys niger* (Balistidae). **Environ**
304 **Biol Fish**. 76: 387-398. 2006.

305

306 KAWASE, H. E A. NAKAZONO. Reproductive behaviour of the flagtail triggerfish
307 *Sufflamen chrysopterus*. Proceedings of the Seventh International Coral Reef
308 **Symposium**, Guam, 2: 905-907.1992.

309

310 KAWASE, H. Spawning Behavior and Biparental Egg Care of the Crosshatch
311 Triggerfish, *Xanthichthys mento* (Balistidae). **Environmental biology of fishes**
312 (66): 211-219, 2003.

313

- 314 LESSA, R., MAFALDA-JR., P., ADVÍNCULA, R., LUCCHESI, R., BEZERRA-JR.,
315 JL., VASKE-JR., T., HELLEBRANDT, D. Distribution and abundance of
316 ichthyoneuston at seamounts and islands off north-eastern Brazil. **Arch. Fish. Res.**, v.
317 47, p. 133-146, 1999.
- 318
- 319 LOBEL, P. S.; JOHANNES, R. E. Nesting, eggs and larvae triggerfishes (Balistidae).
320 **Environmental Biology of Fishes**. v. 5, p. 251 – 252, 1980.
- 321
- 322 LUBBOCK, R. The shorefishes of Ascension Island. **Jornal Fishe Biology**. v. 17, p.
323 282 – 303, 1980.
- 324
- 325 MARTINS, A. S.; OLAVO, G.; COSTA, P. A. S. Padrões de Distribuição e Estrutura
326 de Comunidades de Grandes Peixes Recifais na Costa Central do Brasil. Biodiversidade
327 da fauna marinha profunda na costa central brasileira. *Museu Nacional*. 24: 45 – 61.
328 2007.
- 329
- 330 MENDES, P.P., 1999. Estatística aplicada à Aquicultura. Bargaço. Recife. 265p.
- 331
- 332 OFORI-DANSON, PK. Reproductive ecology of the triggerfish, *Balistes capriscus* from
333 the Ghanaian coastal waters. . **Tropical Ecology**. (31) 1-11. 1990.
- 334
- 335 SAHAYAK, S. Reproductive biology of the masked triggerfish *Sufflamen fraenatus*. **J.**
336 **mar. biol.** Ass. India, (1) : 70 - 76, 2005.
- 337
- 338 SAZIMA, I.; SAZIMA, C.; SILVA-JR, J. M. Fishes associated with spinner dolphins at
339 Fernando de Noronha Archipelago, tropical Western Atlantic: na update and overview.
340 **Neotropical Ichthyology**. 4 (4): 451 – 455. 2006.
- 341
- 342 SCHAEFFER, M. B. & ORANGE, C. J. Studies of the sexual development and
343 spawning of yellowfin tuna (*Neothunnus macropterus*) and skipjack (*katsuwonus*
344 *pelamis*) in the three areas of the Eastern Pacific Ocean, by examination of gonads.
345 *Inter-American Tropical Tuna Comissioon Buletin*. v. 1, no. 6, pp. 281-302. 1956.
- 346

347 TETSUO KUWAMURA. Evolution of Female Egg Care in Harem
348 Triggerfish, *Rhinecanthus aculeatus*. **Ethology** (103) 1015–1023. 1997.

349

350 THRESHER, R. E. Reef Fish – Behavior and Ecology on the Reef and in the Aquarium.
351 Palmetto Publishing Company. 124-127. 1980.

352

353 VAZZOLER, A. E. A. M. Biologia da Reprodução de Peixes Teleósteos: Teoria e
354 Prática. EDUEM (Editora da Universidade Estadual de Maringá), 169 p. 1996.

355

356 VIANA, D.L. Pesca e biologia reprodutiva da cavala impigem (*Acanthocybium*
357 *solandri*, cuvier, 1831) no Arquipélago de São Pedro e São Paulo. **Dissertação**
358 apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aqüicultura da
359 Universidade Federal Rural de Pernambuco. 63pp, 2007.

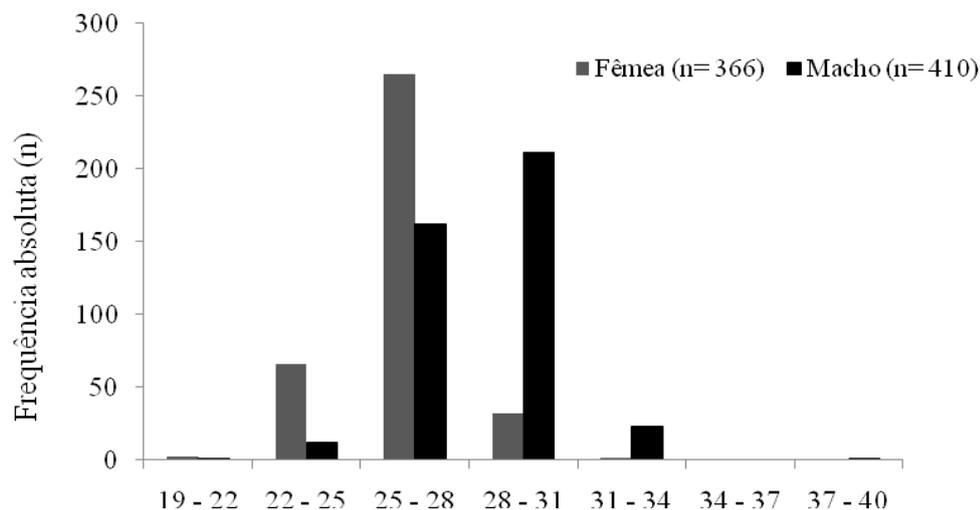
TABELAS

TABELA I. Distribuição mensal de machos e fêmeas do cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

Meses	2006		2007		2008		Total		Proporção Sexual	X ²	Pr(chi)
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂			
Jan	15	13			29	32	44	45	1:0.9	0,0112	0,9156
Fev	8	23			30	36	38	59	1:0.6	4,5464	0.03299*
Mar	6	4			34	26	40	30	1:0.7	1,4286	0,232
Abr			20	9	31	12	51	21	1:0.4	12,5	0.000407*
Mai	17	8	3	15	30	17	50	40	1:0.8	1,1111	0,2918
Jun	8	8	6	18			14	26	1:0.5	3,6	0,05778
Jul			23	32			23	32	1:0.7	1,4727	0,2249
Ago			19	37			19	37	1:0.5	5,7857	0.01616*
Set			8	34			8	34	1:0.2	16,0952	0.00006024*
Out			25	34			25	34	1:0.7	1,3729	0,2413
Nov			36	34			36	34	1:0.9	0,0571	0,811
Dez			19	18			19	18	1:0.9	0,027	0,8694
Total	54	56	159	231	154	123	367	410	1:0.9	2,3797	0,1229

*Valores estatisticamente significantes com 95% de confiança.

FIGURAS

FIG. 1. Distribuição de frequência de comprimento total para machos e fêmeas de cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

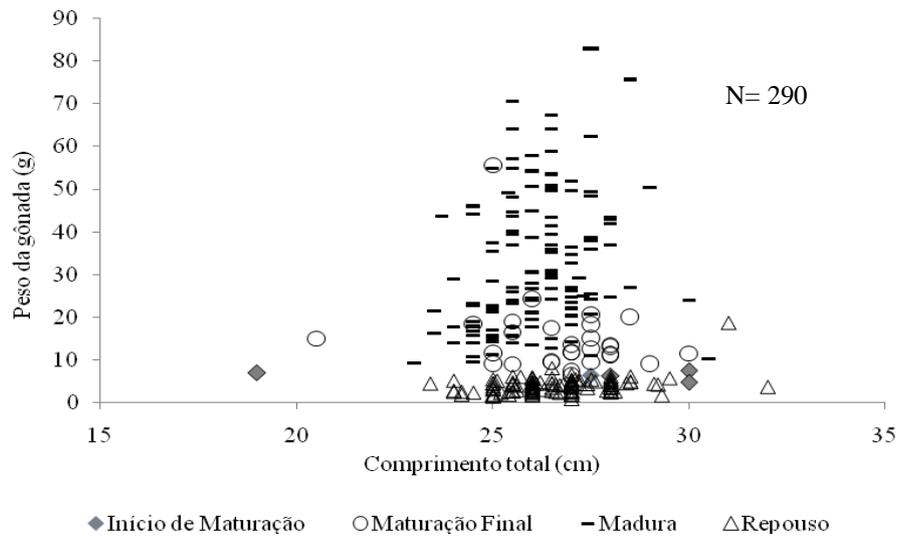


FIG. 2. Relação entre o comprimento total e o peso do ovário de fêmeas de cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

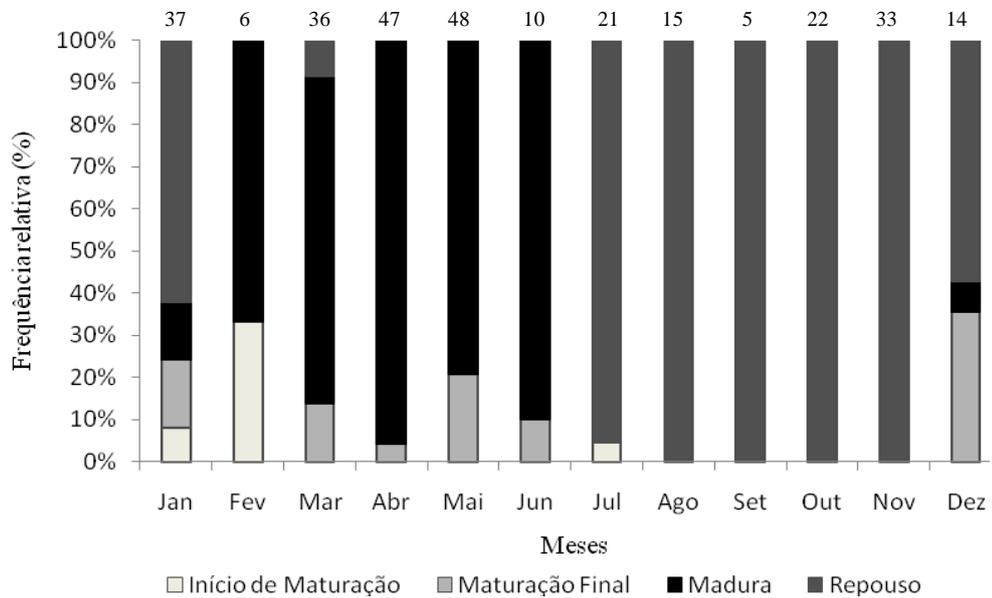


FIG. 3. Distribuição mensal dos estágios maturacionais de fêmeas de cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

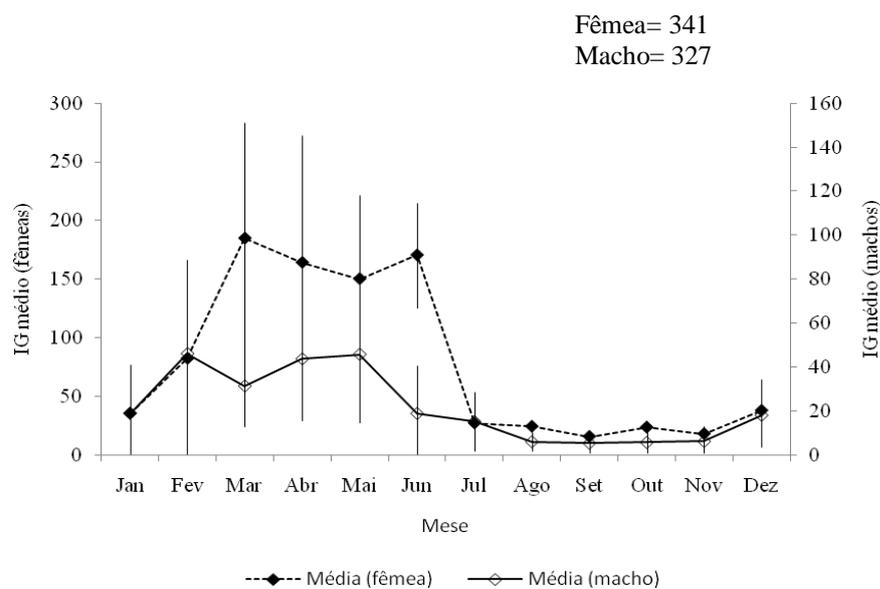


FIG. 4. Média mensal do índice gonadal (IG) de exemplares de *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

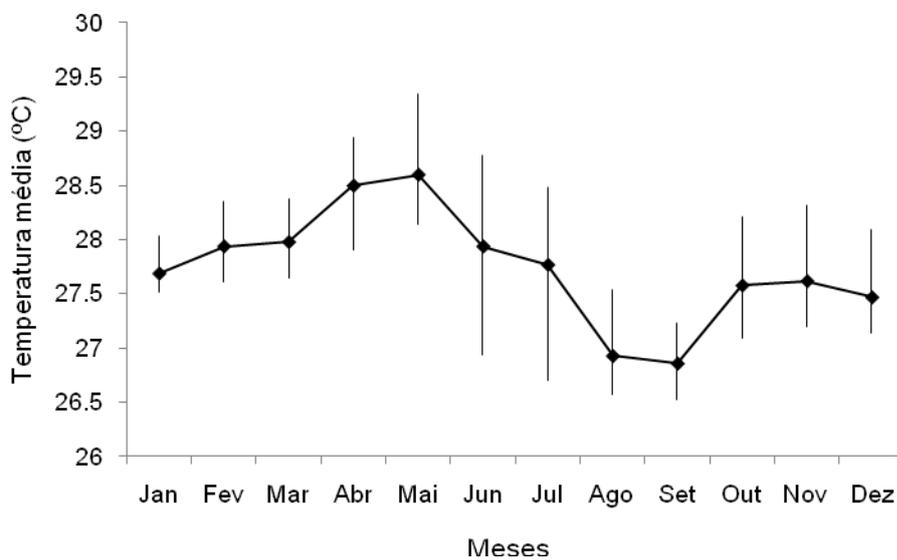


FIG. 5. Média mensal da variação de temperatura da superfície do mar no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

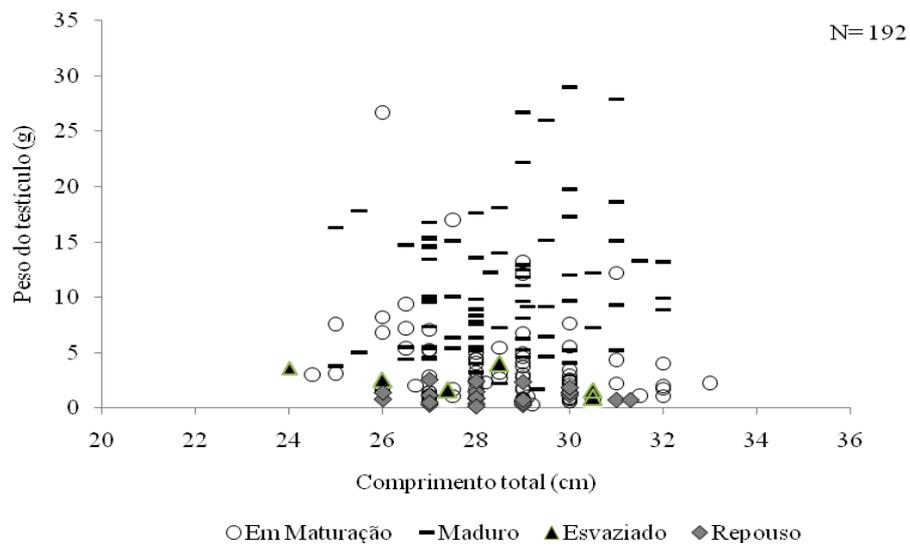


FIG. 6. Relação entre o comprimento total e o peso do testículo de machos de cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

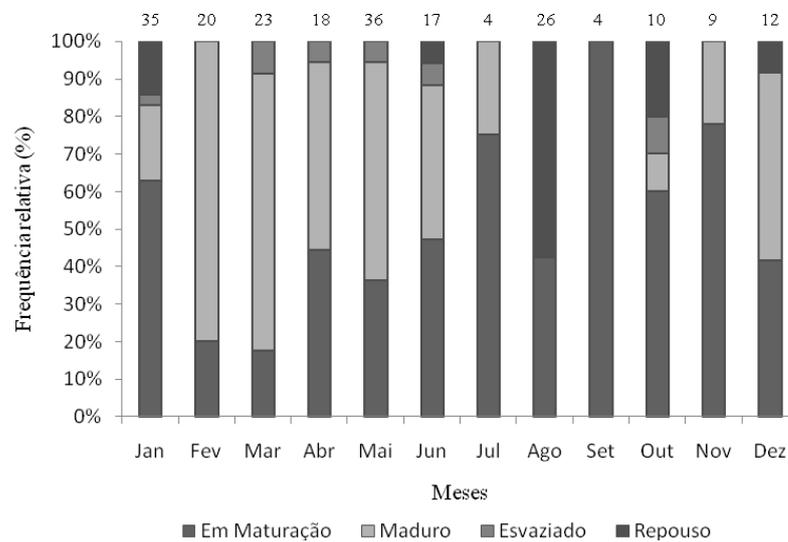


FIG. 7. Distribuição mensal dos estágios maturacionais de machos de cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturados no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008.

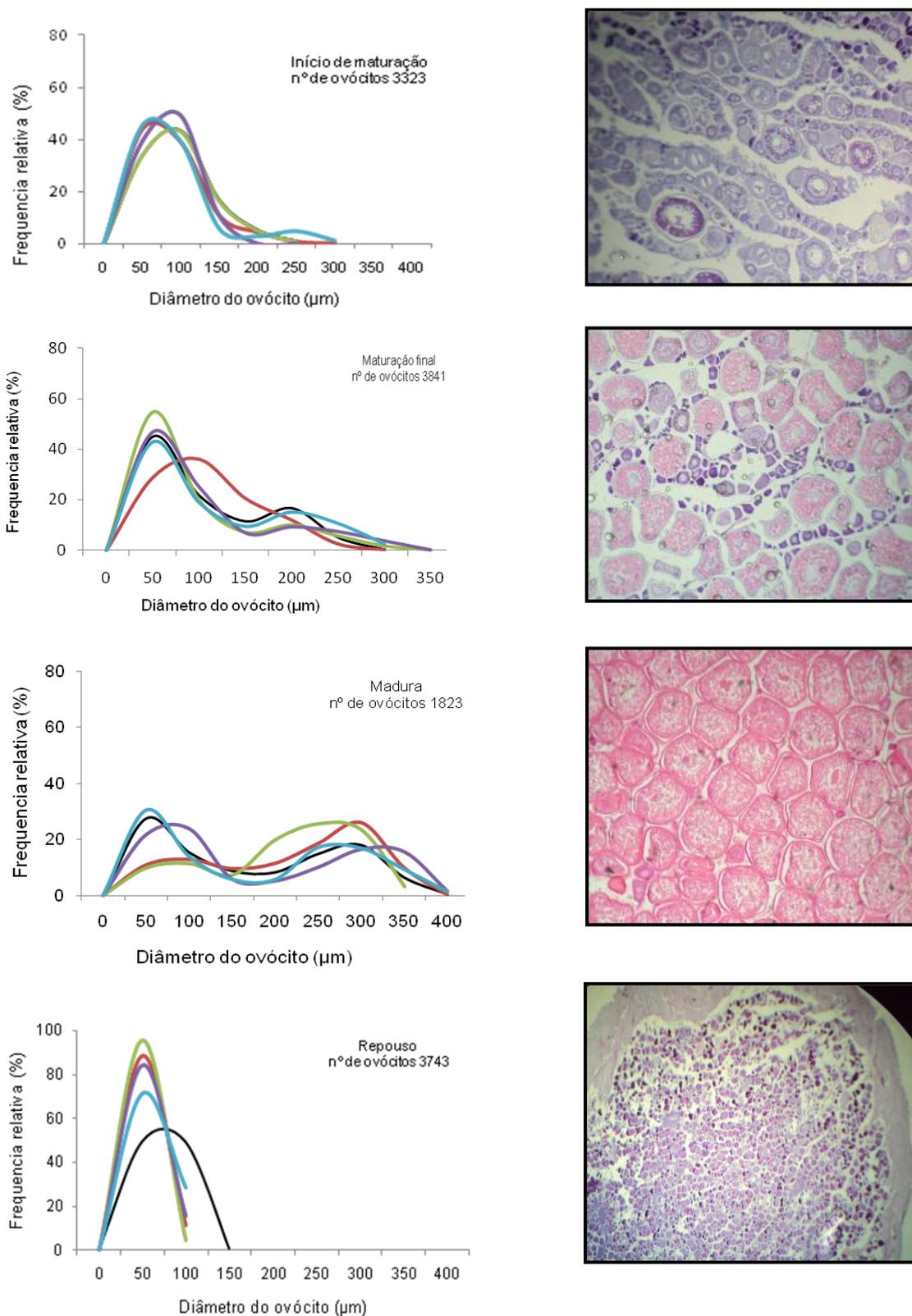


FIG. 8. Distribuição da frequência do diâmetro (μm) dos ovócitos de fêmeas de cangulo-preto, *Melichthys niger*, capturadas no Arquipélago de São Pedro e São Paulo, entre janeiro de 2006 e maio de 2008 (início de maturação 4 fêmeas, os outros estágios 5 fêmeas).

5. Considerações Finais

A escala macroscópica proposta foi considerada adequada para a caracterização do desenvolvimento reprodutivo da espécie, apesar da mesma apresentar um tipo de desova total, sincrônica em dois grupos.

As análises histológicas realizadas nas gônadas examinadas permitiram identificar claramente cinco estágios do desenvolvimento ovocitário seguindo um padrão semelhante ao descrito para outras espécies de peixes marinhos

Folículos pós-ovulatórios não foram encontrados nos ovários do cangulo-preto examinados em função provavelmente da ausência de ovários desovados entre os espécimes examinados.

Os resultados obtidos no presente trabalho contribuíram intensamente para um melhor entendimento de aspectos biológicos do *M. niger*, haja vista a quase inexistência de informações a respeito da espécie, em especial no Arquipélago de São Pedro e São Paulo. É importante destacar a necessidade de novos estudos no intuito de complementar as informações descritas na presente pesquisa. Estudos relacionados à densidade populacional e ecologia comportamental, migração reprodutiva, entre outros, são essenciais para um apropriado entendimento da dinâmica reprodutiva da espécie em uma ambiente de alta produtividade biológica, como se caracteriza o Arquipélago São Pedro e São Paulo.

6. Normas da Revista Journal of Fish Biology

[The official journal of the Fisheries Society of the British Isles](#)

Edited				by:
J.F. Craig				
Print	ISSN:			0022-1112
Online	ISSN:			1095-8649
Frequency:				Monthly
Current	Volume:	72	/	2008
ISI Journal Citation Reports®	Ranking:	2006:	15/41	(Fisheries)
Impact Factor:	1.393			

Top Author Guidelines

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

1. The *Journal of Fish Biology* welcomes research manuscripts containing new biological insight into any aspect of fish biology. The *Journal* serves an international readership, and so seeks papers which report material and ideas of value to fish biology in general. Hence the novelty of the content of manuscripts should have relevance to more than the particular species or locality in which the work was carried out. All material submitted must be original, unpublished work and not under consideration for publication elsewhere. If in doubt about overlap, please give details of any related work under consideration or in press with the submission during login in Comments to Editor. Review papers will either be invited or agreed with the Reviews Editor (see 18). Brief Communications (see 19) and occasional Comments (see 21) will be considered.

The Society considers that scientists should avoid research which kills or damages any species of fish which, using IUCN criteria, is regarded as threatened or is listed as such in a Red Data Book appropriate to the geographic area concerned. In accordance with this view, papers based on such research will not be accepted by the *Journal*, unless the work had clear conservation objectives.

2. *Submission of manuscripts.* Manuscripts should be submitted online at <http://jfb.edmgr.com>. Full instructions and support are available on the site and a user ID and password can be obtained on the first visit. Authors are encouraged to suggest potential referees for their manuscripts. This can be done during login in Comments to Editor.

3. *Preparation of manuscripts.* Typing should be **double-spaced** throughout the text, including tables, figure legends and reference lists. **All lines should be numbered. Files should not be saved as PDF (portable document format) files.**

The first page (see recent past issues) should bear the title of the paper, name(s) (forenames initials only) and academic address(es) of author(s); if the present address of any author is different it should be added as a footnote. Telephone and facsimile numbers and email address for the corresponding author should also be provided as a footnote. A concise running headline of not more than 45 characters inclusive of spaces should also be given on this page.

Full papers should generally be arranged in the following sequence: Abstract, Key Words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion (a combined Results and Discussion is not normally acceptable), Acknowledgements, References, Tables and Figures. Within sections, subdivisions should not normally exceed two grades; decimal number classification of headings and subheadings should not be used. **All pages should be numbered.** Footnotes should not be used except in Tables. Names of fishes should be given in full, *i.e.* common name and Latin name with authority. Italics are required for species names which are written in full the first time they appear in the text, *e.g.* *Cyprinus carpio* L. and *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), but abbreviated at subsequent mention (*e.g.* *C. carpio* and *O. mykiss*). The plural 'fish' should be used for the same species, 'fishes' for more than one species. Spellings should be in English, *e.g.* *Concise Oxford English Dictionary* (as distinct from American) throughout, except in quotations and references. All Latin words should be in italics. **Text should not be written in the first person.**

Information in tables should not be duplicated in figures, and *vice versa*. Repetition of table headings and figure legends in the text should be avoided.

Authors will find it helpful to consult recent issues of *Journal of Fish Biology* for details of style and presentation. **They should note that if their manuscript does not follow the format of the *Journal*, it will be returned to them.**

Two carriage returns should be used to end headings and paragraphs. Text should be typed without end of line hyphenation, except for compound words. Lower case 'l' for '1' or 'o' for '0' should not be used. Tables and figure captions should be saved in a separate file from the main text of the manuscript. **Tables should not be embedded in the text file in picture format.** Punctuation should be consistent and only a single space inserted between words and after punctuation. A separate file should be supplied for illustrations; Encapsulated PostScript (EPS) files are preferred.

4. *Abstracts.* An abstract, which should be concise and summarize **only** the significant findings of the paper (*i.e.* not the background or methods), should accompany each manuscript. It should be followed by a list of **not more than six key words.**

5. *Illustrations.* Photographs should be selected only to illustrate something that cannot adequately be displayed in any other manner. Magnification should be given in actual terms and all stains used should be described in full. Colour photographs can be included; the first two figures will be produced free of charge, additional figures will be at the author's expense (see 6). Figures should be numbered consecutively using Arabic numerals (Fig. 1, 2, *etc.*), in order of their mention in the text. A fully descriptive caption should be provided for every figure and the complete list of captions typed together on a separate page. All relevant information, *e.g.* keys to the symbols and formulae, should be included in the caption. The minimum reduction for the figures may be indicated. Artwork should be received in digital format. Line artwork (vector graphics) should be saved as Encapsulated PostScript (EPS) and bitmap files (half-tones or photographic images) as Tagged Image Format (TIFF). Native file formats should not be submitted. More detailed information on the submission of electronic artwork can be found at <http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp>

6. *Colour.* Authors must complete a Colour Work Agreement Form for any colour figures requiring payment. This will be indicated on acceptance. The form can be downloaded as a PDF* (portable document format) file from the home page at <http://ifb.edmgr.com>
Completed forms should be sent to the Production Editor, Journal of Fish Biology,

101 George Street, Edinburgh EH2 3ES, U.K. (or by email: jfb@oxon.blackwellpublishing.com).

*To read PDF files, you must have Acrobat Reader installed.

7. *Tables*. These should be numbered in Roman numerals (Table I, II, etc.), in the order of their mention in the text. A brief title should be **typed directly above each table**, not on a separate page. Footnotes to tables should be indicated by superscripts and typed at the bottom of the tables.

8. *Units and symbols*. Metric units should be used. Physical measurements should be in accordance with the Système International d'Unités (SI), e.g. mm, mm³, s, g, µg, m s⁻¹(superscript), g l⁻¹(superscript). Use joules not calories. Authors will find the following two publications helpful: *British Standard 1991: Part 1: 1967 Recommendations for Letter Symbols, Signs and Abbreviations*, and *Units, Symbols and Abbreviations. A Guide for Biological and Medical Editors and Authors* (Baron, D.N., ed.) published by the Royal Society of Medicine, London. In mathematical expressions, single letters should be used for variables, qualifying them with subscripts if required, e.g. length *L*, fork length *LF*(subscript F), standard length *LS*(subscript S), index *I*, gonado-somatic index *IG*(subscript G), hepato-somatic index *IH*(subscript H), etc. The 24 hour clock should be used for time of day, e.g. 1435 hours, not 2.35 p.m. Calendar dates should be as, e.g. 15 June 1998. In the text, one-digit numbers should be spelt out unless they are used with units of measure (in which case they should not be hyphenated), e.g. five boxes, 5 cm. Numerals should be used for all numbers of two or more digits, e.g. 34 boxes. Use mass(es) rather than weight(s). Means and error (S.D., S.E., 95% CL, etc.), should be to the same number of decimal places. Salinity is dimensionless with no units; psu, ‰ or similar should not be used.

9. *Statistics*. Statistics should be presented as follows: name of test, number of observations or degree of freedom, and probability level ($P > 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$). Values of test statistics **are not required**.

10. Name-bearing type specimens of taxa that are described in the *Journal of Fish Biology* as new to science should be deposited in recognized national or international institutions that can meet Recommendations 72F.1-5 of the International Code of Zoological Nomenclature (ICZN, 1999; available from <http://www.iczn.org/iczn/index.jsp>) for Institutional responsibility. The chosen institute for deposition of name-bearing type specimens should be able to meet these responsibilities into the foreseeable future. A paratype series may be distributed among more than one recognized national or international institution at the discretion of the authors. This is encouraged for paratype series that include numerous specimens, where the paratype series can be split into two or more representative samples, comprising several specimens that are deposited at different institutions. For examples of recognized national or international institutions see earlier taxonomic publications in the *Journal of Fish Biology*, or check institutions listed in *Eschmeyer's Catalog of Fishes Online* (available at <http://www.calacademy.org/RESEARCH/ichthyology/catalog/abtabr.html>), and see Poss & Collette, *Copeia* **1995**, 48-70, for U.S. and Canadian institutions. Institutional abbreviations used in manuscripts should follow standard code designations as given in *Eschmeyer's Catalog of Fishes Online* (see URL above).

11. *Genetic nomenclature*. Gene nomenclature for protein-coding loci for fishes should follow the standard recommended by Shaklee *et al.* in the *Transactions of the American Fisheries Society* **119**, 2-15 (1990).

12. *Sequence data*. Manuscripts containing novel amino acid sequences of proteins or novel nucleotide sequences (e.g. primer sequences) will only be accepted if

they carry a statement that all the data have been deposited with an appropriate data bank, e.g. the European Molecular Biology Laboratory (EMBL) or GenBank Data Libraries. The data base accession number must be given in the Materials and Methods section of the manuscript. Lengthy nucleotide sequences will only be published if, in the judgement of the Editor, these results are of general interest and importance. **Where sequences are already published, reference to the original source will suffice.**

13. *RAPD*. In the opinion of the Editors, data derived by RAPDs (randomly amplified polymorphic DNAs) technology are frequently not satisfactory and conclusions derived from them unreliable. Papers submitted to the *Journal* should not include data generated by this technique.

14. *Acknowledgement of copyright*. Authors should obtain permission from the copyright owner (usually this is the publisher) to use any figure, table or extended quotation from material that has previously been published. Acknowledgement, however, should cite the author: 'Reproduced with permission from Einstein (1975)'.

15. *Digital object identifier*. Blackwell Publishing assigns a unique digital object identifier (DOI) to every article it publishes. The DOI appears on the title page of the article. It is assigned after the article has been accepted for publication and persists throughout the lifetime of the article. Due to its persistence, it can be used to find the article on the Internet through various web sites, including Blackwell Synergy, and to cite the article in academic references. When using a Blackwell Publishing article in the reference section, it is important to include the article's DOI in the reference as volume and page information is not always available for articles published online. Section 16 shows samples of DOI included in references. All articles on Blackwell Synergy (www.blackwell-synergy.com) include full details on how to cite the article.

16. *References*. The use of a tool such as [EndNote](#) or [Reference Manager](#) for reference management and formatting is recommended. EndNote reference styles can be searched for here: <http://www.endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

The list of references should be arranged alphabetically according to the surname of the first author and set out as follows:

Pickford, G. E. (1959). The nature and physiology of the pituitary hormones of fishes. In *Comparative Endocrinology* (Gorbman, A., ed.), pp. 404-420. New York: Wiley.

Wilson, D. P. (1978). Territorial behaviour of male dragonets (*Callionymus lyra*). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **58**, 731-734.

When citing a Blackwell Publishing journal, include the digital object identifier (DOI), if noted, from the article's title page. Please note the following examples:

Slotte, A. & Fiksen, Ø. (2000). State-dependent spawning migration in Norwegian spring-spawning herring. *Journal of Fish Biology* **56**, 138-162. doi: 10.1006/jfbi.1999.1145

Mukuda, T. & Ando, M. (2003). Medullary motor neurones associated with drinking behaviour of Japanese eels. *Journal of Fish Biology* **62**, 1-12. doi: 10.1046/j.0022-1112.2003.00002.x

The order in the list should be:

(i). Single authors. Where more than one reference is given for a single author the publications should be listed chronologically.

(ii). Two authors. These should be arranged first alphabetically, then chronologically. For text citations, use the names of both authors and the year. Do not use *et al.* for two-author references.

(iii). Three or more authors. These should be arranged chronologically. For all text citations use the surname of the first author only, followed by *et al.* and the date.

If more than one reference by the same author(s) published in the same year is cited, use *a, b, etc.* after the year in both text and list, e.g. (1963a). Text citations can be given in either of two ways: (a) with date in parentheses, 'as demonstrated by Jones (1956)'; (b) with names and date in parentheses, 'according to recent findings (Jones, 1956)'. **Where more than one reference is cited in the text these should be in chronological order**, e.g. Smith, 1975; Arnold, 1981; Jones, 1988. **Journal titles should be given in full**. The full title of the paper, the volume number and the page numbers should be given. **Authors should check that all citations in the text are in the list of references and vice versa**, and that their dates match. Journal titles, book titles and any other material within the reference list which will be italicized in print should be italicized or underlined in the manuscript.

References must be available in the public domain, e.g. 'grey' literature should not be included.

17. *Ethics*. Contributors to the *Journal of Fish Biology* must read the Editorial in *Journal of Fish Biology* **68**, 1-2 (2006), available [here](#). They will be required to complete a questionnaire on submission of their paper, available for download [here](#).

18. *Reviews*. The *Journal of Fish Biology* plans to include one review paper with each issue. These reviews should be concise (up to 30 printed pages of the *Journal*), critical and creative. They should seek to stimulate topical debate and new research initiatives. Prospective authors are asked to submit a synopsis (two pages maximum) of their paper to the Reviews Editor, Dr M. J. Kaiser, University of Wales - Bangor, School of Ocean Sciences, Menai Bridge, Gwynedd LL59 5EY, U.K. (or by email: michel.kaiser@bangor.ac.uk). The synopsis should outline why the review is topical, its main points and objectives, and how it will stimulate debate and research. When the proposal has been accepted by the Reviews Editor, he will invite the author to submit a manuscript within an agreed time limit and following the general guidelines for submission of standard papers. A modest honorarium will be paid on publication of reviews.

19. *Brief Communications*. A Brief Communication may be concerned with any subject within the scope of the *Journal of Fish Biology* but should be **confined to a single point or issue of progress**, such as an unusual occurrence, an interesting observation, or a topical and timely finding. The manuscript must, however, have some relevance beyond the species or locality under consideration. To qualify for inclusion as a Brief Communication a paper **must be short**. An abstract of not more than three lines is required. No subheadings or subdivisions should be

included, in other respects submitted manuscripts should comply with the instructions given above.

20. *Acceptance of papers.* Papers will normally be critically reviewed by two or more outside experts in the relevant discipline and evaluated for publication by the Editor; however, the Editor may return to authors without review any manuscripts deemed to be of inadequate quality or inappropriate for the *Journal of Fish Biology*.

21. *Occasional Comments.* Occasionally, comments concerning recent published papers in the *Journal* will be considered by the Editor. The comments will be sent to the original author(s) to provide an opportunity to reply. Publication of the Comment and Reply will end the debate.

22. *Copyright.* Authors submitting a manuscript do so on the understanding that, if it is accepted for publication, the licence to publish the article, including the right to reproduce the article in all forms and media, shall be assigned exclusively to the Society. The submission of an exclusive licence to publish is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production until this has been received. The Exclusive Licence Form can be downloaded from the home page at <http://jfb.edmgr.com> or, alternatively, please [click here](#). This should be signed by the appropriate person(s) and must be sent, by post offline, after login, to the Editorial Office. Authors are themselves responsible for obtaining permission to reproduce copyright material from other sources.

23. **NEW: Online Open.** OnlineOpen is a pay-to-publish service from Blackwell that offers authors once their papers have been accepted for publication the opportunity to pay up-front for their manuscript to become open access (i.e. free for all to view and download) via the Blackwell Synergy website. Each OnlineOpen article will be subject to a one-off fee of \$3,000 to be met by or on behalf of the Author in advance of publication. Upon online publication, the article (both full-text and PDF versions) will be available to all for viewing and download free of charge. The print version of the article will also be branded as OnlineOpen and will draw attention to the fact that the paper can be downloaded for free via the Blackwell Synergy service.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the combined payment and copyright licence form available by clicking [here](#): (Please note this form is for use with OnlineOpen material ONLY). Once complete this form should be sent to the Editorial Office along with the rest of the manuscript materials at the time of acceptance or as soon as possible after that (preferably within 24 hours to avoid any delays in processing).

Prior to acceptance you should not inform the Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen.

The copyright statement for OnlineOpen authors will read:

© [date] The Author(s)

Journal compilation © [date] The Fisheries Society of the British Isles

24. *Proofs and offprints.* Proofs should be downloaded as a PDF file from a designated web site. Full details will be sent to the corresponding author by email. Therefore, a working email address must be provided. Hard copy proofs will be posted if no email address is available. Proofs should be returned to the Editor within 3 days of receipt. Authors will be provided with electronic offprints of their paper. Additional paper offprints may be ordered online. Full instructions for

ordering paper offprints are available on the journal home page at www.blackwellpublishing.com/jfb in For Authors. Any queries regarding offprints should be emailed to: offprint@cosprinters.com. Offprints are normally dispatched within 3 weeks of publication of the issue in which the paper appears. Please contact the publishers if offprints do not arrive: however, please note that offprints are sent by surface mail, so overseas orders may take up to 6 weeks to arrive. Electronic offprints are sent to the first author at his or her first email address on the title page of the paper, unless advised otherwise; therefore please ensure that the name, address and email of the receiving author are clearly indicated on the manuscript title page if he or she is not the first author of the paper.

25. NEW: Online production tracking is now available through Blackwell's Author Services.

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated emails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete email address is provided when submitting the manuscript. Visit www.blackwellpublishing.com/bauthor for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

26. *Author material archive policy.* Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hard copy or electronic material 2 months after publication. If the return of any submitted material is required, the editorial office or production editor must be informed as soon as possible.

Ten of the most common faults in papers submitted to the *Journal of Fish Biology*:

1. Title page layout. Authors should consult past published papers.
2. Abstract contains information other than main findings.
3. Headings. Authors should consult past published papers.
4. Naming of fishes, *e.g.* no authority given on first mention.
5. Use of active voice (usually the first person). The passive voice should be used.
6. References, *e.g.* lack of match between text and list and wrong format.
7. Figure and caption, *e.g.* keys should be on the caption, not on the figure.
8. Variables not defined correctly. Normally these should be single letters qualified with subscripts if required, *e.g.* LT for total length.
9. Mismatch of decimal places, *e.g.* between mean and S.D., S.E., *etc.*
10. Files submitted as PDFs.