

# Experiências de cultivo de *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces Serranidae)

Maria Teresa Dinis\*, Sofia Engrola, Elsa Cabrita, Marc Lacuisse, Florbela Soares, Luís Conceição

\*Centro de Ciências do Mar, Universidade do Algarve, Campus de Gambelas 8000-135, Faro, Portugal

---

## Introdução

O desenvolvimento de um projecto de aquacultura de uma nova espécie, passa por duas etapas principais: a reprodução e a cultura larvar, levando ambas à produção dos juvenis necessários para a engorda e consequente realização do ciclo produtivo.

No entanto a reprodução das espécies marinhas em cativeiro depende de numerosos factores: ambientais, genéticos, nutricionais e de manejo, pois apesar de existirem cerca de 20000 espécies de peixes apenas uma pequena percentagem (cerca de 1000) são actualmente cultivadas.

Isto deve-se sobretudo ao facto de algumas não se reproduzirem em cativeiro (ex. as enguias) e outras não conseguirem efectuar a sua maturação e emitir os seus gâmetas em cativeiro, pelo que neste ultimo caso torna-se necessário recorrer a técnicas de indução artificial. Estas metodologias passam pela manipulação de factores ambientais (temperatura, fotoperíodo) ou pela utilização de hormonas que têm sido utilizadas há mais de 60 anos, sobretudo através da hipofização. Em muitos países os extractos de pituitária e o HCG são ainda usados frequentemente, embora hajam alguns problemas relacionados com a purificação dos extractos e com a forma de administração (dosagem).

Por esse motivo a utilização de hormonas libertadoras sintéticas tem progressivamente vindo a aumentar com o objectivo de induzir a maturação final, a ovulação e a desova.

O mero *Epinephelus marginatus* é considerado uma espécie difícil de reproduzir em cativeiro devido ao seu comportamento reprodutivo ser influenciado pela estrutura social (um macho dominante e várias fêmeas) (Zabala et al., 1997a; Zabala et al., 1997b). Por outro lado devido a uma exploração excessiva por parte das pescarias, as populações decresceram mais de 80% nos últimos 10 anos, sendo por isso o único membro da família Serranidae considerado como espécie ameaçada, estando por isso incluída na Lista de Espécies Ameaçadas da IUCN (Cornish and Harmelin-Vivien, 2004). Na zona do Mediterrâneo já existem algumas zonas (Ilhas Medes – Espanha, (Zabala et al., 1997a) Estreito de Bonifácio – França e Ilha Ustica – Itália), onde a espécie está protegida.

Por esse motivo o cultivo desta espécie e a consequente a produção de juvenis constituem a base dos programas de repovoamento ligados à gestão e protecção dos stocks desta espécie.

Em Portugal o interesse no cultivo do mero iniciou-se com um projecto de investigação (Restock POCTI / 1999 / BSE / 35608) financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia, e ligado a um programa mais vasto de repovoamento

associado aos recifes artificiais instalados na costa sul do país. Este estudo tem-se prolongado nos últimos anos através de outros programas de financiamento (Interreg), no âmbito das novas espécies para aquacultura.

O trabalho sumariza, a investigação desenvolvida entre 2005 a 2008 na reprodução do mero *Epinephelus marginatus* no Centro de Ciências do Mar da Universidade do Algarve.

### **O mero *Epinephelus marginatus***

O mero (*Epinephelus marginatus*) tem sido apontado como uma espécie com potencialidades para aquacultura e repovoamento (Glamuzina et al., 1998; Marino et al., 2000) quer para a zona do Mediterrâneo quer para a costa Atlântica.

É uma espécie territorial, vive em fundos rochosos a profundidades de 8 – 300m. Podem atingir grandes dimensões (150cm e 60Kg) e viver até aos 50 anos. A primeira maturação como fêmeas regista-se em exemplares de 2- 3Kg, enquanto que a masculina, em exemplares de 10 anos, com peso maior ou superior a 8 kg (Chauvet, 1988).

Marino et al. (2000, 2002), registaram uma relação de sexos of 1:5 (macho:fêmea) em ambiente selvagem, sendo que a maioria dos peixes capturados correspondem a fêmeas jovens ou a juvenis imaturos.

A investigação da reprodução desta espécie começou há alguns anos (Spedicato et al., 1995; Glamuzina et al.,

1998; Marino et al., 1998), e é considerada uma espécie difícil de reproduzir (Cornish and Harmelin-Vivien, 2004), para além da dificuldade de obtenção de machos em cativeiro.

A manutenção em cativeiro por longos períodos, que permitam a reversão sexual é impensável, pelo que a reversão sexual induzida, que permite a produção de machos funcionais precoces de pequena dimensão, foi a opção tomada para a reprodução em cativeiro desta espécie. Esta técnicas tem sido usada em outras espécies próximas recorrendo-se à utilização de microesferas de libertação lenta (*Epinephelus tauvina*, Chao and Lim, 1991; *Epinephelus coioides*, Yeh et al., 2003) ou através da administração oral de 17 $\alpha$  metiltestosterona (*Epinephelus fario*, Kuo et al.,1988; *Epinephelus tauvina*, Chao and Chow,1990), e também em *E. marginatus* (Glamuzina et al., 1998; Marino et al., 2000; Sarter et al., 2006), pelo que foi a metodologia seguida no âmbito deste trabalho.

### **Constituição do lote de reprodutores**

Os reprodutores de mero encontram-se estabelecidos desde 2001, e tiveram como origem juvenis selvagens capturados quer da zona do Algarve quer dos Açores, excepto no caso de um único exemplar adulto proveninete do sul de Espanha (Tabela 1).

Tabela 1 – Peso e origem dos exemplares que constituíram o lote inicial.

Data	Captura	Min. WW	Max. WW	Origem
Jun. 2001	2	1 800 grs		Faro
Nov. 2001	14	55 grs	600 grs	Açores
Mar. 2002	6	40 grs.	110 grs	Açores
Dez. 2003	1	6 500 grs		Barbate

Inicialmente foram estabelecidos em 6 tanques circulares de 0.5m<sup>3</sup> de capacidade, incluídos num sistema fechado de recirculação com uma biomassa máxima por tanque de 2kg/m<sup>3</sup>. Os tanques foram cobertos com rede de ensombramento e foram colocados abrigos (Figura 1), visto, se tratar de uma espécie territorial. A temperatura e o fotoperíodo foram os naturais.



Figura 1 – Abrigos no tanque de estabelecimento.  
Foto Sofia Engrola.

Durante o período de adaptação ao cativeiro verificou-se uma melhor adaptação de peixes médios e grandes do que de peixes pequenos (Figura 2) e uma boa taxa de crescimento para peixes de tamanho médio, tendo-se no final deste período obtido 11 indivíduos que foram marcados com chips electrónicos (PIT-Tags, Trovan, NL) para posterior identificação (Figura 3).

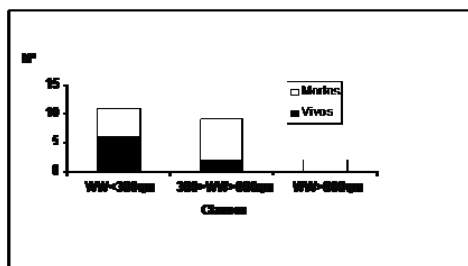


Figura 2 – Resultados da adaptação a cativeiro.



Figura 3 - Marcação individual de meros. Fotos Marc Lacuisse.

À medida que os peixes foram atingindo 1kg de peso foram transferidos para as instalações do INRB-IPIMAR, uma vez que nas instalações experimentais do CCMar as dimensões dos tanques já eram exiguas. No IPIMAR foram distribuídos por dois tanques de 12m<sup>3</sup> com fotoperíodo e temperatura naturais. A taxa de renovação da água variou de 15 a 20% e com aerificação. O alimento foi fornecido a cada dois dias (6% da biomassa) e era constituído por lula e sardinha congelada. Verificaram-se dificuldades na aceitação de alimentos granulados, pelo que se manteve a dieta natural.

Em 2005 início das experiências de reprodução o lote de reprodutores era assim constituído (Tabela 2):

Tabela 2 – Lote de reprodutores

Tanque	Peso (g)	Comprimento (mm)
R2	2018.0	470.0
R2	3722.0	630.0
R2	2353.0	500.0
R2	2361.0	480.0
R2	1786.0	470.0
R2	1600.0	425.0
R2	1854.0	435.0
R7	7592.0	750.0
R7	2733.0	580.0
R7	3788.0	650.0
R7	3662.0	630.0

Nesta altura a densidade de estabulação tinha aumentado para 4,8 kg/ m<sup>3</sup>. Os primeiros ensaios de reversão sexual foram iniciados em 2005 e repetidos anualmente.

### Reprodução

Nesta espécie a temperatura tem um papel importante na maturação das gonadas (Glamuzina et al., 1998; Marino et al., 1998; Spedicato et al., 1998). Temperaturas superiores a 22-23°C provocam uma segmentação anómalo dos ovos e por outro lado temperaturas de 17.5 – 18°C parecem contribuir para aumentar a fecundidade. (Marino et al., 1998). Por esse motivo de Março a Setembro a temperatura nos tanques foi mantida entre 21 e 23 °C, e fora desse período nos meses de Inverno, de 12 a 18.5°C.

Uma vez que posturas naturais em cativeiro são raras, estas foram induzidas através de GnRH $\alpha$  em microesferas ou derivados ([D-Ala<sup>6</sup>,Pro<sup>9</sup>,Net]-GnRH $\alpha$ ) e os oócitos e sémen extraídos por pressão abdominal (*stripping*) e realizada a fertilização

artificial. Procedeu-se igualmente a uma masculinização em peixes de 1 a 2,5kg através de 17 $\alpha$ -metiltestosterona, obtendo-se uma eficiência de 100% após 16 semanas de tratamento. Mas o sucesso deste procedimento, depende de uma avaliação criteriosa do estado de desenvolvimento das gonadas, duma identificação dos sexos e de uma escolha dos indivíduos a masculinizar. Assim os oócitos que estão no estado previtelogénico de Outubro a Maio (30-80 $\mu$ m), iniciam a vitelogenese em Junho realizando-se a postura em Julho.

Após 3 anos de ensaios experimentais, o plano actualmente utilizado é o seguinte, sendo que a biopsia que se realiza mensalmente, corresponde a uma canulação dos indivíduos para identificação dos sexos e do estado de desenvolvimento das gónadas. Esta observação é crucial para a escolha dos exemplares que irão ser submetidos a reversão sexual



### Masculinização

No mês de Maio (dois meses antes da época de postura) nas fêmeas e peixes imaturos escolhidos para a reversão e maturação sexual (masculinização) são colocados implantes preparados usando tubo silástico (Dow Corning, Silascon,  $\Phi$  interior 1.2 mm,  $\Phi$  exterior 2.0 mm, Barcelona, Spain) contendo 2.5 mg/kg

de peso húmido, de uma solução de 17 $\alpha$ -metiltestosterona previamente dissolvida numa solução de DMSO e óleo de castor (1:3) (adaptado de Yamaguchi and Kagawa 2004) (Cabrita et al., 2009).

A fim de reduzir os efeitos da captura dos peixes, procede-se a uma pré-anestesia directamente no tanque de estabulação (75 ppm de 2-fenoxietanol) sendo que os indivíduos são posteriormente sedados num tanque de 50 l tank (200 ppm 2-fenoxietanol) durante 10 min.

Os implantes são depois introduzidos na cavidade peritoneal através de uma pequena incisão (~8mm) com a ajuda de um bisturi (Figura 4) A zona de inserção é depois desinfectada com uma solução antiséptica (Betadine em gel +5% chlorophenicol), não se tendo verificado nunca qualquer necrose na zona.

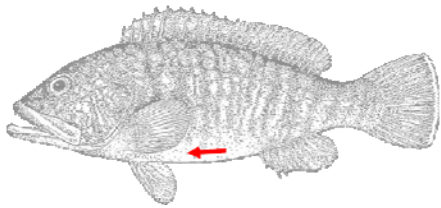


Figura 4 - Zona de inserção de implante para reversão sexual de fêmea ou imaturo para macho. Desenho Marc Lacuisse.

Um mês mais tarde introduz-se um segundo implante com a mesma dosagem.

### Indução da postura

Em Julho administrou-se aos machos (naturais e induzidos) um análogo da hormona libertadora de gonadotrofina, uma única dose de Lucrin Depot® (20  $\mu$ g/kg peso corporal, leuprolide acetate, GnRH $\alpha$ , ABBOTT, Portugal)) de modo estimular a produção do sêmen. Dois

dias depois, os indivíduos foram anestesiados de acordo com os procedimentos referidos anteriormente, o poro genital foi seco e o esperma foi colhido com o auxílio de uma seringa depois de se ter procedido a uma massagem abdominal.

No mesmo período foram administrados às fêmeas um análogo da hormona libertadora da gonadotrofina (GnRH $\alpha$ ) sob a forma de implantes (EVAc GnRH $\alpha$ ) preparados pelo Departamento de Aquacultura, Hellenic Centre for Marine Research, Creta, de modo a ser obtida uma dosagem final de 45 $\mu$ g/kg de peso corporal. (Conceição et al, 2008) Estes implantes colocados por injeção intramuscular na zona posterior da barbatana dorsal (Figura 5).

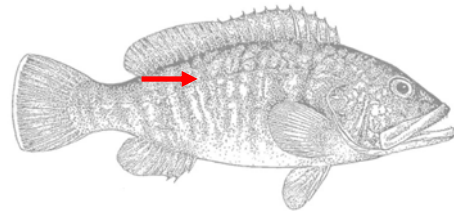


Figura 5 - Zona de administração de hormona nas fêmeas. Desenho Marc Lacuisse.

Apenas fêmeas com oócitos com diâmetro superior a 350  $\mu$ m foram induzidas.(Figura 6).



Figura 6 - Oócitos de *E marginatus* obtidos por canulação. Foto Marc Lacuisse

48 horas após a indução, foi possível após massagem abdominal recolher oócitos viáveis (Figura 7).



Figura 7 – Obtenção de oócitos após massagem abdominal. Foto Sofia Engrola.

A taxa de ovulação foi de 100%, pois todas as fêmeas induzidas responderam ao tratamento. Os oócitos foram fertilizados *in vitro*, e para isso adicionaram-se para isso 80µl de sémen ( $3.7 \times 10^3$  esp./ovo) a cada lote de ovos, agitando durante 1 minuto, seguindo-se a adição de 300 ml de água salgada a 22°C (Cabrita et al., 2009).

## Resultados

### Obtenção das posturas

Em 2007 registaram-se 11 emissões de ovos nas cinco fêmeas induzidas (Figura 8), tendo as emissões decorrido durante um período de 96 horas.

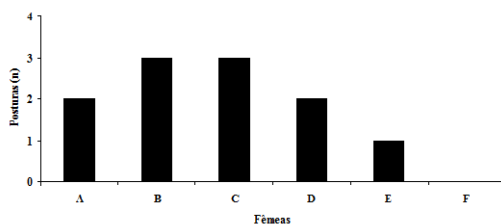


Figura 8 – Número de posturas por fêmea durante a época de 2007.

Em 2008 a média de ovulações por fêmea foi de 5.5 ovulações, sendo a

média de postura de 124.2g de ovos. No total foram obtidos 4271.2g de ovos durante o período de reprodução (Figura 9).

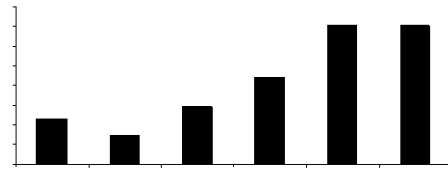


Figura 9 – Total de ovos obtidos por fêmea durante a época de reprodução de 2008.

A viabilidade dos oócitos em 2007 foi muito baixa pelo que a taxa de fertilização foi de apenas 31,2%. Em 2008, a qualidade dos oócitos foi superior tendo-se obtido uma taxa de fertilização de  $61.5 \pm 33.5\%$ .

### Ovos

Os ovos obtidos têm diâmetro de 840 µm e uma gota lipídica ~160 µm. Foram incubados em tanques cilindroconicos de 200L em água salgada a 37p.p.m. e a uma temperatura de 22°C, e com arejamento muito fraco. A densidade de incubação foi entre 0.5-1.0g de ovos/l<sup>-1</sup>. A taxa de eclosão foi muito variável entre as fêmeas de um mínimo de 0,2% a um máximo de 59,8%.

O desenvolvimento embrionário durante o período de incubação está representado na Figura 10

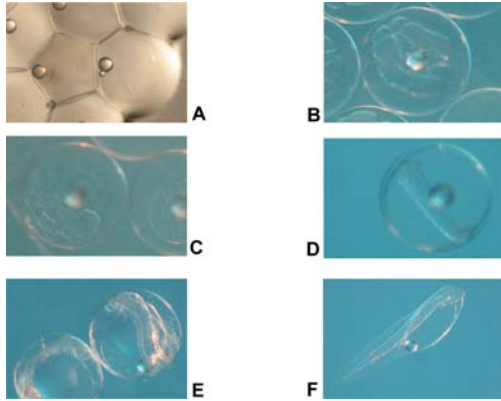


Figura 10 - Desenvolvimento embrionário: A - Oócitos antes da fecundação(0h.), B - ovo 16 células (+3h), C - estado morula (+5h), D - observação de batimento cardíaco (+28h), E - pré-eclosão (+47h), F - larva recém eclodida (+48h). Fotos Marc Lacuisse.

## Larvas

As larvas eclodem 48 horas após a incubação (temperatura de incubação 22°C) com um comprimento total de 1.5 mm. Têm uma boca muito pequena, consomem rapidamente as reservas vitelinas e são muito pouco activas, pelo que a primeira alimentação é constituída por Copepodes. Têm um período larvar longo de 50 dias.

Uma vez que as larvas muito sensíveis e frágeis, até aos 30 DAE (dias após eclosão), deve-se evitar uma movimentação da água dos tanques e o alimento deve ser fornecido com cuidado.

O cultivo larvar tem algumas especificidades que seguidamente se indicam:

### 1. Tanques

Maiores tanques promovem melhores sobrevivências. Devem ser de

preferência redondos de modo a reduzir a turbulência na água. Os mesocosmos são os mais adequados, isto é tanque de volume maior que 10m<sup>3</sup>, onde é promovida o aparecimento da cadeia trófica, através de fertilização.

Como o canibalismo é uma das causas de mortalidade nos estados mais avançados de desenvolvimento (30-35 DAE) devem-se colocar nos tanques abrigos constituídos por pequenos tubos de PVC.

### 2. Iluminação

As larvas são sensíveis à luz durante os estados mais precoces, pelo que os tanques devem ser mantidos na escuridão até 4DAE, aumentando-se progressivamente os períodos com luz. A intensidade luminosa deve ser cerca de 2000 lux e o fotoperíodo 11 h luz: 13 h escuridão (Rimmer, 1999).

### 3. Condições ambientais

Taxa de renovação de água: Inicialmente o cultivo deve-se realizar em condições estáticas, iniciando-se a renovação, ainda que muito ligeira aos 4DAE

Salinidade: Deve ser mantida a 25 ‰, aumentando perto do final do período larvar (40-50 DAE) para os valores normais de 35 ‰.

Temperatura: deve manter-se entre os 25 e os 28°C.

Aeração: Deve ser muito ligeira a fim de não provocar turbulência nos tanques.

Técnica da água verde: As espécies *Nannochloropsis occulata.*, *Tetraselmis sp.*, *Isochrysis sp.* são consideradas as mais adequadas.

#### 4. Densidade das larvas

Esta espécie não suporta grandes densidades, que não devem ultrapassar as 10-15 larvas por litro.

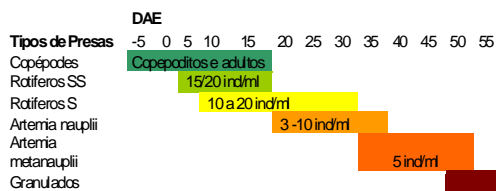
#### 5. Plano alimentar

Devido ao reduzido diâmetro da boca das larvas (100-120 µm), a reserva diminutas no saco vitelino e à sua fraca actividade, os copepodes constituem a primeira presa a fornecer, seguida de Rotíferos, *Brachionus plicatilis* estipes S e SS e por fim *Artemia* spp.

Como o cultivo de Copépodes ainda não está suficientemente normalizado, a utilização de mesocosmos revelou-se o modelo mais adequado para o cultivo desta espécie, uma vez que neste tipo de tecnologia os copépodes são suficientemente abundantes como primeira presa para as larvas.

As diferentes estirpes de rotíferos assim com a *Artemia* são depois adicionados aos tanques de acordo com o plano alimentar seguinte (Tabela 3)

Tabela 3: – Plano alimentar de larvas de *Epinephelus marginatus*



A densidade das presas indicada na Tabela 3, corresponde a valores médios. O número de presas a fornecer diariamente deverá ser calculado em

função da densidade disponível do tanque.

Por outro lado para manter a qualidade nutritiva das presas é necessário juntar aos tanques microalgas, que devem ser ricas em ácidos gordos poliinsaturados tais como o EPA (20:5n-3) e o DHA (22:6n-3) que se encontram nas espécies *Tetraselmis* spp. e *Isochrysis* spp. (Brown et al, 1997).

Alguns estados do desenvolvimento larvar estão representados na Fig. 8.







Figura 8 - Desenvolvimento larvar de *E marginatus*. A - 3 DAE, B - 5 DAE, C - 7 DAE, D - 11 DAE; E- 19 DAE; F - 21 DAE. Fotos Marc Lacuisse

## Conclusão

O trabalho desenvolvido permitiu demonstrar a viabilidade de masculinizar jovens fêmeas imaturas de mero, utilizando implantes de  $\alpha$ -methyltestosterone. A indução da postura em fêmeas é também possível, assim como a fertilização em vitro. Contudo as taxas de viabilidade dos ovos e de eclosão são ainda muito variáveis.

No cultivo larvar, verificou-se que os mesocosmos são o modelo adequado de tanques em detrimento dos normalmente usados em larvicultura. Quanto maiores forem os tanques melhores foram os resultados, visto as larvas serem muito frágeis, muito sensíveis a turbulência da água, a qual é diluída num tanque de maiores dimensões. Quanto ao alimento, os copépodes são essenciais como primeira presa das larvas de *Epinephelus marginatus*.

## Agradecimentos

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito dos projectos RESTOCKING (POCTI/1999/BSE/35608), DIVERAQUA/SP5.E36, REDAQUA/SP5.E27/02 e PROMAR//SP5.P117/03. Os autores agradecem igualmente ao LNRB-IPIMAR a colaboração na manutenção dos reprodutores

## Referencias Bibliográficas

- Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K., Dunstan G.A, 1997, Nutritional properties of microalgae for mariculture *Aquaculture* 151: 315-331
- Cabrita, E., Engrola, S., Conceição, L.E.C., Pousão-Ferreira, P., Dinis, M.T. 2009. Successful

- cryopreservation of sex-reversed sperm from *Epinephelus marginatus*. *Aquaculture* 287, 152-157.
- Chao, T.M., Lim, L.C., 1991. Recent developments in the breeding of grouper (*Epinephelus spp.*) in Singapore. *Singapore Journal of Primary Industries* 19, 78-93.
- Chao, T.M., Chow, M., 1990. Effect of methyltestosterone on gonadal development of *Epinephelus tauvina* (FORSKAL). *Singapore Journal of Primary Industries* 18, 1-14.
- Chauvet, C., 1988. Étude de la croissance du mérrou *Epinephelus guaza* (Linné, 1758) des côtes tunisiennes. *Aquat. Living. Resour.* 1, 277-288.
- Conceição, L., Cabrita, E., Engrola, S., Lacuisse, M., Pousão-Ferreira, P., Dinis, M.T., 2008. Hormonal induction of Atlantic dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) broodstock. *Cybium* 32 (2), 324-325.
- Cornish, A., Harmelin-Vivien, M., 2004. *Epinephelus marginatus*, IUCN 2007. 2007 IUCN Red List of Threatened Species, [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org).
- Glamuzina, B., B. Skaramuca, et al. (1998). "Preliminary studies on reproduction and early life stages in rearing trials with dusky grouper, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834)." *Aquaculture Research* 29: 769-771.
- Kuo, C.-M., Ting, Y.-Y., Yeh, S.-L., 1988. Induced sex reversal and spawning of bluespotted grouper, *Epinephelus fario*. *Aquaculture* 74, 113-126.
- Marino, G., Massari, A., Di Marco, P., Azzurro, E., Finoia, M.G., Mandich, A., 1998. "Supporto scientifica alla messa a punto di una tecnica di riproduzione per la cernia di scoglio (*Epinephelus marginatus*, Lowe 1834)." *Biologia marina Mediterranea* 5(3): 1042-1051.
- Marino, G., Azzurro, E., Finoia, M.G., Messina, M.T., Masari, A., Mandich, A., 2000. Recent advances in induced breeding of the dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Recent advances in Mediterranean aquaculture finfish species diversification, 24-28 May, Zaragoza, pp. 215-225.
- Marino, G., Di Marco, P., Massari, A., Bottero, S., Mandich, A., 2002. Effects of temperature and social control on sexual maturity and sex inversion in captive dusky grouper *Epinephelus marginatus*. In: Basurco, B., Saroglia, M. (Eds.), *Proceedings of the International Conference of Aquaculture Europe 2002*, 16-19 Oct., Trieste, Italy, pp. 331-332.
- Sarter, K., Papadaki, M., Zanuy, S., Mylonas, C.C., 2006. Permanent sex inversion in 1-year-old juveniles of the protogynous dusky grouper (*Epinephelus marginatus*) using controlled-release 17 $\alpha$ -methyltestosterone implants. *Aquaculture* 256, 443-456.

- Spedicato, M. T., G. Lembo, et al. (1995). Preliminary results in breeding of dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834). Marine aquaculture finfish species diversification, Nicosia (Cyprus), CIHEAM.
- Spedicato, M. T., M. Contegiacomo, et al. (1998). Ovarian maturation and spawning in *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) induced by hormone treatments. XXXIII International Symposium on New Species for Mediterranean Aquaculture, Alghero.
- Yeh, S.-L., Kuo, C.-M., Ting, Y.-Y., Chang, C.-F., 2003. Androgens stimulate sex change in protogynous grouper, *Epinephelus coioides*: spawning performance in sex-changed males. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 135, 375–382.
- Zabala, M., A. Garcia-Rubies, et al. (1997). Spawning behaviour of the Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces, Serranidae) in the Medes Islands Marine Reserve (NW Mediterranean, Spain). *Scientia Marina* **61**(1): 65-77.
- Zabala, M., P. Louisy, et al. (1997). Socio-behavioural context of reproduction in the Mediterranean dusky grouper *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Pisces, Serranidae) in the Medes Islands Marine Reserve (NW Mediterranean, Spain). *Scientia Marina* **61**(1): 78-98.