

Títol del treball: La sardina (*Sardina pilchardus*): estudi de la condició fisiològica, parasitologia i durabilitat comercial.

Estudiant: Irene Solés Tarrés

Grau en Biologia

Correu electrònic: u1923204@campus.udg.edu

Tutor: Margarida Casadevall Masó

Cotutor*:

Empresa / institució: Universitat de Girona

Vistiplau tutor (i cotutor*):

Nom del tutor: Margarida Casadevall Masó

Nom del cotutor*:

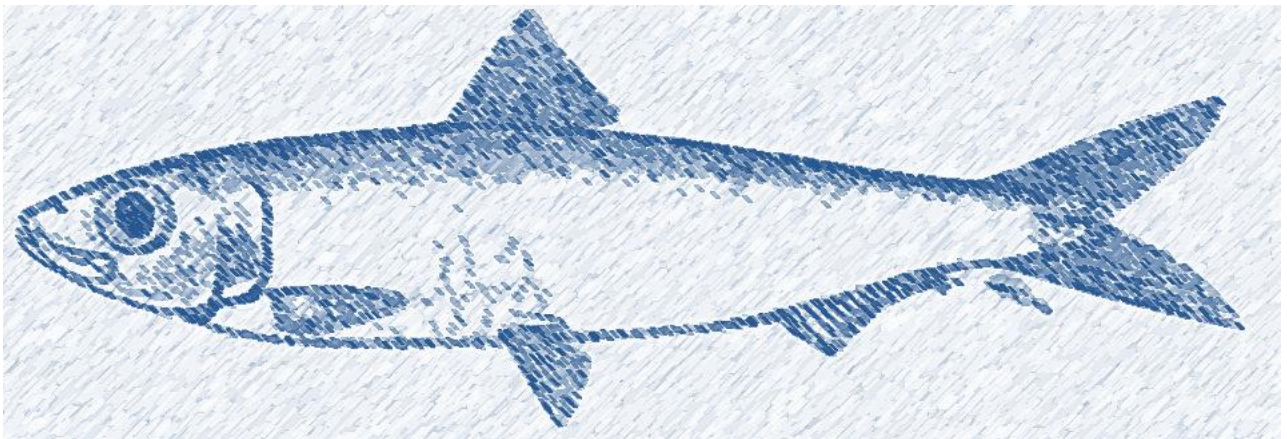
Empresa / institució: Universitat de Girona

Correu(s) electrònic(s): margarida.casadevall@udg.edu

*si hi ha un cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 21/07/2016

LA SARDINA (*Sardina pilchardus*): estudi de la condició fisiològica, parasitologia i durabilitat comercial.



Irene Solés Tarrés

21 de juliol de 2016

AGRAÏMENTS

En primer lloc, un agraïment a la meva tutora, Margarida Casadevall, per donar-me la oportunitat de realitzar el projecte i per la seva gran implicació en aquest. També a Alfons Garrido i als pescadors de la confraria de Palamós, per proporcionar-me gratuïtament bona part dels exemplars utilitzats en el treball. Finalment, el més profund agraïment al meu bon amic Pere, a la meva família i a l'Aleix, per escoltar totes les aventures que sorgeixen fent un treball de fi de grau i per ajudar-me sempre amb tot i més.

Moltes gràcies a tots.

ÍNDEX

Resum/Resumen/Abstract	i-iv
1. Introducció	1-4
2. Objectius	5
3. Material i mètodes	6-13
4. Resultats	14-20
5. Discussió	21-26
6. Conclusions	27
7. Bibliografia	28-32

RESUM

La sardina (*Sardina pilchardus*) és una espècie de peix blau amb un gran potencial de captura en les costes mediterrànies i que degut al seu alt contingut en omega-3 es considera molt beneficiosa per la salut. A més, no sol estar parasitada per *Anisakis*, els quals són molt presents actualment en espècies comercials alhora que provoquen nombroses al·lèrgies en humans. Durant els darrers anys, s'ha començat a notar un esgotament d'aquesta espècie: n'han disminuït les captures i també la qualitat. Per això, i per la gran importància de la sardina des del punt de vista gastronòmic, econòmic i de la salut, se n'ha realitzat un estudi de diferents aspectes que tenen repercussions tant a nivell de la pròpia espècie com a nivell del consum humà. Per fer-ho, aquest projecte s'ha dividit en 3 blocs: l'estudi de la condició fisiològica del peix, l'estudi parasitològic i finalment l'anàlisi de la durabilitat comercial.

Els resultats han mostrat que la sardina es troba per sota el que es considera una bona condició, fet que s'ha atribuït tant a factors externs (canvi climàtic i sobreexplotació pesquera), com a factors interns relacionats amb la pròpia biologia de l'espècie, ja que el moment en què es va realitzar l'anàlisi les sardines es trobaven en la fase activa del seu cicle reproductiu.

En relació a l'anàlisi parasitològic, s'ha demostrat l'absència de paràsits pertanyents al gènere *Anisakis* en aquesta espècie, ja que només s'han identificat nematodes *Hysterothylacium aduncum* i trematodes digenis. Tot i així, s'ha detectat una prevalença i intensitat d'*H.aduncum* en estadi larvari 3 (L3) i en estadi larvari 3 avançat (L3-4), mai reportades en la sardina. Aquest fet pot tenir efectes negatius tant a nivell de la salut humana, ja que s'han detectat alguns casos d'al·lèrgies en humans causades pel gènere *Hysterothylacium*, com a nivell de la pròpia espècie, a la qual li pot provocar esgotament i més susceptibilitat a patir infeccions. Cal destacar, però, que en aquest projecte no s'han trobat diferències significatives en la condició fisiològica de sardines infectades per aquest paràsit i sardines que no ho estan.

Finalment, per l'estudi de conservació i durabilitat s'ha utilitzat el mètode sensorial QIM per tal d'avaluar la qualitat de la sardina emmagatzemada, imitant les condicions de peixateria, en funció del transcurs dels dies. El model utilitzat ha resultat efectiu i s'ha demostrat que l'olor de les brànquies, l'aspecte dels ulls i l'estat de l'abdomen del peix són els atributs més indicatius per avaluar la seva qualitat. A més s'ha determinat que la vida útil d'aquesta espècie es troba entre 3 i 4 dies, i que les condicions en què s'emmagatzema el peix al llarg de tota la cadena pesquera són de gran importància per conservar la qualitat. Finalment es proposa avaluar si el rentat de la sardina just després de ser pescada allarga la vida útil d'aquesta, ja que és un mètode efectiu en d'altres espècies.

RESUMEN

La sardina (*Sardina pilchardus*) es una especie de pescado azul con gran potencial de captura en las costas mediterráneas y que, debido a su alto contenido en omega-3 es considerada muy beneficiosa para la salud. Además, habitualmente no se encuentra parasitada por *Anisakis*, los cuales son muy comunes actualmente en especies comerciales a la vez que provocan numerosas alergias en humanos. Durante los últimos años, se ha empezado a notar un agotamiento de esta especie: han disminuido las capturas y también la calidad. Por eso, y por la gran importancia de la sardina desde el punto de vista gastronómico, económico y de la salud, se ha realizado un estudio de los diferentes aspectos que tienen repercusiones a nivel de la misma especie y también a nivel del consumo humano. Para realizarlo, este proyecto se ha dividido en tres bloques: el estudio de la condición fisiológica del pez, el estudio parasitológico y finalmente el análisis de durabilidad comercial.

Los resultados han demostrado que la sardina se encuentra por debajo de lo que se considera una buena condición, la cual cosa se atribuye tanto a factores externos (cambio climático y sobreexplotación pesquera), cómo a factores internos relacionados con la propia biología de la especie, ya que en el momento de realización del estudio las sardinas se encontraban en la fase activa de su ciclo reproductivo.

En relación al análisis parasitológico, se ha demostrado la ausencia de parásitos pertenecientes al género *Anisakis* ya que sólo se han identificado nematodos *Hysterothylacium aduncum* i trematodos digeneos. Aun así, se ha detectado una prevalencia e intensidad d'*H. aduncum* en estadio larvario 3 (L3) y estadio larvario 3 avanzado (L3-4), nunca antes reportadas en la sardina. Estos resultados pueden tener efectos negativos a nivel de salud humana, ya que se han detectado algunos casos de alergias en humanos causadas por el género *Hysterothylacium*, pero también a nivel de la propia especie, a la que le puede provocar un agotamiento y más sensibilidad a sufrir infecciones. Es importante destacar, pero, que en este proyecto no se han encontrado diferencias significativas entre la condición fisiológica de sardinas infectadas por este parásito y sardinas que no lo están.

Finalmente, para el estudio de conservación y durabilidad se ha utilizado el método sensorial QIM con el fin de evaluar la calidad de la sardina, guardada imitando las condiciones de pescadería, en función del transcurso del tiempo. El modelo utilizado ha resultado ser efectivo y ha demostrado que el olor de las branquias, el aspecto de los ojos y el estado del abdomen del pescado son los atributos más indicativos para evaluar su calidad. Además, se ha determinado que la vida útil de esta especie se encuentra entre 3 y 4 días, y que las condiciones en que el pescado es guardado

desde su pesca son de gran importancia para preservar su calidad. Finalmente se propone evaluar si el lavado de la sardina justo después de ser pescada alarga la vida útil de ésta, ya que es un método efectivo en otras especies.

ABSTRACT

The sardine (*Sardina pilchardus*) is a pelagic cold-water fatty fish species usually caught in the Mediterranean and it is a very healthy species because of its high content of omega-3 fatty acids. It is well known that the sardine is not usually infected by *Anisakis* nematodes, which are the origin of some human allergies and whose presence is very common in commercial species. During the last few years, an exhaustion of the sardine has been observed: its capture and quality have decreased. For this reason, and because of its importance in gastronomy, economy and health, we have focused the project on this species. In order to do so, the study has been divided in three sections: the physiological condition of the fish, the parasitological study and finally the analysis of the commercial durability.

In relation to the physiological condition of the sardine, it has been found out that it is now under what is considered a good condition; the cause should be attributed to external factors (climate change and overfishing), and internal factors related to the biology of the species, since when the study was carried out, the sardines were in the active phase of their reproductive cycle.

Related to the parasitological analysis, the absence of the *Anisakis* parasites has been demonstrated. In fact, only the nematode *Hysterothylacium aduncum* and some Digenea trematodes have been identified. However, it has been detected a prevalence and intensity of *H. aduncum* in the third larvae stage (L3) and in the advanced third stage larvae (L3-4), which has never been reported in the sardine. This fact may produce negative effects on human health, bearing in mind that some allergy cases in humans have been related to this parasite. On the other hand, the infection of *H. aduncum* can cause the sardine's exhaustion and an increase in its susceptibility to infections. Nevertheless, in this study we didn't find significant differences between the physiological condition of infected sardines and not infected sardines.

Finally, for the study of the conservation and durability of the fish, we have applied the qualitative sensory method, called QIM. Results showed that the most indicative attributes, in order to value the quality of the sardine, are the odour of the gills, the eyes' appearance and the state of the abdomen. Moreover, it has been determined that

the shelf-life of the sardine is about 3-4 days, and the importance of the way the fish is kept since the capture has also been demonstrated. Finally, in order to prolong the shelf-life of the sardine it has been proposed to improve quality by washing the fish just after it has been caught, which has been demonstrated effective in other species.

1. INTRODUCCIÓ

Pertanyent a l'ordre dels clupeïformes i dins la família dels clupeids, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) és un peix allargat de coloració blau-verd a la part dorsal i amb el ventre platejat. La seva longitud màxima habitual és de 16 cm tot i que pot arribar als 25 cm a l'Atlàntic i al voltant dels 20 al Mediterrani (Fig. 1). És un peix pelàgic que sol habitar àrees costaneres d'entre 15 i 50 m de profunditat, tot i que a l'hivern es localitza en àrees més profundes (Corbera, Sabatés i Garcia-Rubies, 1996) .



Fig. 1 Exemplar de *Sardina pilchardus sardina*. Extreta de <http://salutipeix.udg.edu/ca/inici.html>

En relació a la distribució geogràfica, *Sardina pilchardus* es localitza a les costes de l'Atlàntic Nord oriental, des de Islàndia (rarament) fins al sud de Senegal. També és present al Mediterrani, al Mar de Màrmara i al Mar Negre (Fig. 2) (Whitehead, 1985). Alguns autors (p. ex. Svetovidov, 1952, 1963) distingeixen dues sub-espècies o races geogràfiques de sardina basades principalment en el nombre de branquio-espines i la llargada del cap: *Sardina pilchardus pilchardus* (Walb.), pròpia de l'oceà Atlàntic i *Sardina pilchardus sardina* [Asso], característica del Mediterrani, i mars subsidiaris com el Mar Menor de Murcia i el Mar Negre (Lozano, 1979). En aquest treball sempre es fa referència a la *Sardina pilchardus sardina* [Asso], ja que s'ha estudiat la Mediterrània.

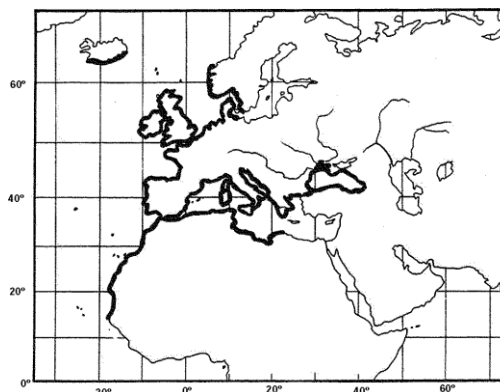


Fig. 2 Distribució geogràfica de *Sardina pilchardus*. Extreta de Whitehead, P.J.P (1985).

En la sardina, com en el cas de molts altres peixos pelàgics i principalment en els clupeïformes, existeixen dos mètodes d'alimentació: selectiu i no selectiu (James, 1988). El primer tipus és voluntari i consisteix en la persecució i captura del plàncton.

Pel que fa al segon mètode, és involuntari i es fa a mitjançant la filtració de l'aigua que va entrant a la boca a mesura que el peix neda. En ambdós casos, el plàncton és l'element fonamental, per la qual cosa, el nombre d'espècies que constitueixen l'alimentació de la sardina és enorme, depenent sempre de la composició del plàncton local (Lozano, 1979). Concretament en la sardina mediterrània, la font principal de carboni durant tot l'any són els copèpodes de mida més petita, tant en exemplars juvenils com en adults. Això va ser evidenciat per Nikolioudakis, Isari, Pitta i Somarakis (2012) en un estudi fet amb sardines originàries del Mediterrani oriental (Mar Egeu) i per Costalgo i Palomera (2014) en mostres provinents del Mediterrani Nord-occidental (Golf de Lleó). Aquest últim estudi també va mostrar que hi ha una variació en la dieta de les sardines segons l'estació de l'any, essent els cladòcers preses més habituals a l'estiu i en canvi les diatomees a l'hivern.

Tot i que es pot trobar durant tot l'any, la sardina és més abundant i de més qualitat durant els mesos de juliol a octubre, quan aquestes s'han alimentat intensament del plàncton marí i contenen més lípids i omega-3. La seva pesca es fa amb l'art d'encerclament, envoltant el banc de sardines, i la talla mínima legal de captura segons la Direcció General de Pesca i Afers Marítims de la Generalitat de Catalunya és de 11 cm. Segons les dades del Ministeri d'Agricultura, Alimentació i Medi Ambient d'Espanya, *Sardina pilchardus* té una gran importància comercial per ser molt habitual en la dieta mediterrània, de manera que és una de les espècies més rellevants del Mediterrani pel que fa a la gastronomia i a l'economia. A més, és un peix blau molt ric en omega-3 (2,5 g d'omega-3 per 100 g de muscle), els quals són molt beneficiosos per la salut: redueixen la mortalitat per malalties cardiovasculars i protegeixen als consumidors contra el desenvolupament de determinats càncers com el de mama i de pròstata, entre d'altres.

A aquestes qualitats s'hi afegeix que la sardina no sol estar parasitada per nematodes del gènere *Anisakis* (Valero, Díaz i Adroher, 2004; Rello, Adroher i Valero, 2008; Gutiérrez-Galindo, Osanz-Mur i Mora-Ventura, 2010). Aquest fet és positiu per la comercialització de la sardina, ja que des d'un punt de vista sanitari, el gènere *Anisakis* és el que té una major implicació en les infeccions parasitàries a l'home, essent en canvi present, en estadi de larva, en nombroses altres espècies d'interès comercial com el seitó (*Engraulis encrasicolus*), el sorell (*Trachurus trachurus*), el moll de roca (*Mullus surmuletus*), la maire (*Micromesistius poutassou*) i la bròtola de roca (*Phycis phycis*) (Valero et al., 2004). De tota manera s'ha vist que la sardina acostuma a estar

infectada per *Hysterothylacium aduncum* (Valero et al., 2004; Rello et al., 2008), un nematode que pertany, igual que el gènere *Anisakis*, a la família *Anisakidae*.

En el cicle de vida de l'*Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802), l'estadi de larva 4 (L4) i la forma adulta d'aquest paràsit es troben en l'interior de l'intestí dels peixos que actuen com a hoste definitiu. Pel que fa a l'estadi de larva 3 (L3), es troba en el mesenteri dels peixos i en l'hemocel de gran varietat d'invertebrats, els quals actuen d'hostes intermediaris fins que el paràsit arriba a la mida mínima de 3mm, infectiva per l'hoste definitiu (Koie, 1993; Navone, Sardella i Timi, 1998). Estudis com el de Rello et al. (2008) exposen que *Sardina pilchardus* actua com a hoste intermediari d'*H.aduncum*, presentant la L3 amb una prevalença mitjana de l'11,85%. A més, aquest mateix estudi va demostrar que hi ha diferències significatives en la prevalença del paràsit segons la zona del Mediterrani, evidenciant que les sardines de les costes del nord-est d'Espanya presenten una prevalença major d'aquest paràsit (25,21%) que les del sud de la península (9,09%).

La sardina ha estat notícia recentment a la premsa en relació amb l'estat dels seus estocs, de manera que es poden trobar diferents articles parlen sobre l'esgotament d'aquesta espècie i la disminució del seu creixement durant els últims anys. El diari "El País" exposava, el 10 d'abril d'aquest any, que la sardina no sols ha disminuït en nombre – hi ha 5 vegades menys quantitat de sardina que els anys 90- sinó que també en qualitat, ja que conté menys greix. També "La Vanguardia" (06/04/2016) informava de la gran amenaça que pateix la sardina, avisant que la situació és alarmant a tot al Mediterrani.

Amb aquest estudi es pretén primerament, avaluar l'estat de salubritat de les sardines pescades al nostre litoral a través de l'índex de condició i un anàlisi parasitològic, comparant els resultats amb estudis anteriors. Per altra banda, es vol avaluar el procés de degradació d'aquesta espècie per tal de fer recomanacions sanitàries per a una millor conservació del peix i major durabilitat i aprofitament. En el sector pesquer, els mètodes que es basen en l'avaluació sensorial són els més utilitzats per tal de determinar la frescor i la qualitat del peix i així assignar-ne un preu. Això és degut a que aquests són ràpids, fiables, no destructius i econòmics. (Bernardi, Teixeira i Quieroz de Freitas, 2013). Un dels mètodes sensorials més coneguts és l'anomenat QIM (Quality Index Method), mitjançant el qual es pot calcular la vida útil del peix (Martinsdóttir, Seveinsdóttir, Luten, Schelvis-Smit i Hyldig, 2001). En aquest estudi es pretén determinar la vida útil de la *Sardina pilchardus* a través de l'anàlisi del QIM, per tal de saber quina és la durabilitat d'aquesta espècie en condicions equivalents a les

de la peixateria i contribuir d'alguna manera en trobar maneres d'allargar la seva vida comercial.

2. OBJECTIUS PRINCIPALS

Aquest treball de recerca té com a finalitat realitzar un anàlisi de la condició fisiològica de la *Sardina pilchardus*, a més d'avaluar la seva qualitat i determinar-ne la vida útil. Així doncs, es defineixen dos objectius principals:

1. Determinar la condició i salubritat de l'espècie a les nostres costes. Estudi de la condició fisiològica i també de la parasitologia, aquest últim amb l'objectiu de verificar per una banda que en aquesta espècie no hi ha presència d'*Anisakis* i per altra, determinar la prevalença, abundància i intensitat d'altres paràsits que puguin afectar a la salut del peix.
2. Avaluar el procés de degradació de *Sardina pilchardus* i determinar la seva vida útil en condicions de conservació habituals (peixateria). També contribuir en trobar maneres d'allargar la seva vida comercial.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. MATERIAL RECOL·LECTAT:

Un total de 95 exemplars obtinguts de Blanes, Palamós i Roses durant els mesos compresos entre octubre i abril van ser utilitzats per l'anàlisi de paràsits i condició fisiològica. Cal destacar que 15 d'aquests, van ser pescats a Palamós durant el mateix matí que es va realitzar l'anàlisi. La resta, en canvi, van ser obtinguts de peixateries de la província de Girona, de manera que cal tenir en compte que havien estat pescats el dia abans de l'estudi.

Pel que fa a l'anàlisi de qualitat (QIM), es van avaluar un total de 49 exemplars, tots ells del mes de gener provinents de Palamós i pescats al mateix dia que es va iniciar l'estudi. Cal destacar que aquests es van aprofitar per avaluar la migració dels paràsits durant el deteriorament del peix.

3.2. MÈTODES:

3.2.1 Estudi de la fisiologia i parasitologia:

Tots els exemplars van ser identificats amb un codi que inclou les inicials del nom de l'espècie (SP), l'any, el mes i el número d'identificació de l'individu. Per cada anàlisi que es va realitzar, les sardines van ser mesurades i pesades abans de procedir a la dissecció (Fig. 3A). Per la dissecció es realitzava una incisió a l'orifici anal en direcció a l'aleta pectoral, i després es feien dos talls: un al costat de l'opercle i un altre prop de la cua per separar la musculatura i poder observar la cavitat abdominal, determinar el sexe i extreure les vísceres. Posteriorment s'anotava el pes dels peixos eviscerats. Així doncs, els caràcters morfomètrics i gravimètrics mesurats van ser els següents (entre parèntesi s'especifica l'eina utilitzada en cada cas):

- Longitud total (ictiòmetre): distància mínima en línia recta horitzontal, entre l'extrem més anterior del morro i l'extrem posterior de l'aleta caudal. La precisió va ser en mm.
- Pes total (balança KERN PCB): pes total de l'exemplar abans de l'evisceració, amb una precisió de 0,1g.
- Pes eviscerat (balança KERN PCB): pes de l'exemplar després de l'evisceració amb una precisió de 0,1g.

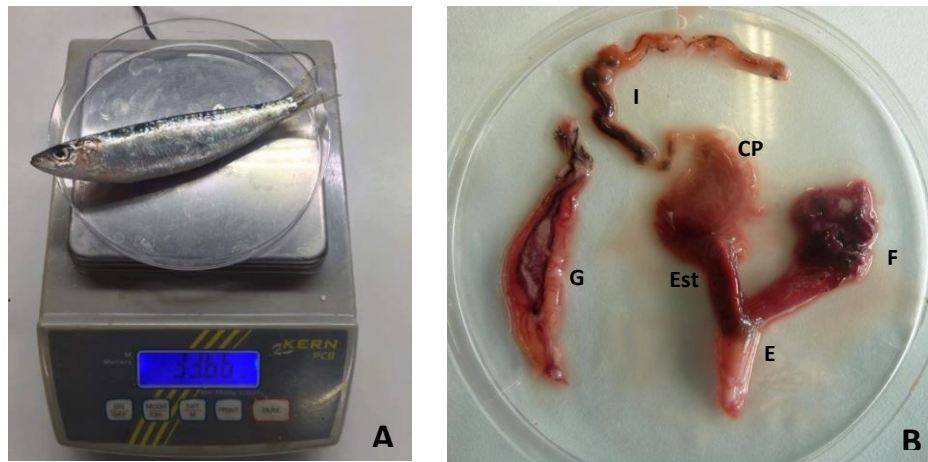


Fig. 3 Pesatge i separació dels òrgans d'un exemplar de *Sardina pilchardus*. **A)** Determinació del pes total de l'exemplar. **B)** Identificació dels òrgans després de la dissecció (E: esòfag; Est: estómac; CP: cecs pilòrics; I: intestí; F: fetge; G: gònades)

Condicció fisiològica:

L'avaluació de la condició fisiològica de la sardina es va fer mitjançant el *Factor relatiu de Condició* (Kn) proposat per Le Cren (1951):

$$Kn = \frac{W}{^aW} \quad \text{on:}$$

W= pes eviscerat observat de l'individu.

aW = pes estimat per la longitud observada. Aquest és calculat a través de l'equació $^aW=aL^b$, on a i b són dues constants obtingudes de la transformació d'aquesta equació en recta: $\log W = b \log L + \log a$, essent a l'ordenada en l'origen i b la pendent de la recta.

El *Factor de condició* es va calcular primer pel total de dades per determinar salubritat de la sardina en general. Després, es va avaluar fent una ANOVA multifactorial si el valor d'aquest es veia influït per l'època de captura (es va diferenciar entre les sardines capturades entre octubre i desembre i les capturades a l'abril), la talla, el sexe i si l'individu es trobava parasitat o no.

Cal destacar que per l'anàlisi de talles es va requerir primerament una divisió del conjunt d'individus en dues classes o talles: gran i petita, per després avaluar si hi havia diferències entre aquestes. Per fer-ho, es va utilitzar el mètode *Jenks natural breaks classification*, disponible en el paquet estadístic *Real Statistics* de l'Excel. Aquest va permetre una classificació amb una variància mínima entre els exemplars del mateix grup i amb una màxima entre els exemplars de diferents grups.

Parasitologia:

Per a la detecció de paràsits, es separaven els diferents òrgans en plaques de Petri amb solució salina. D'aquesta manera es podien localitzar els paràsits presents en les vísceres (cecs pilòrics, intestí i estómac), fetge i gònades sota la lupa binocular (Fig. 3B). Després, amb les vísceres extretes, es feia l'observació de la cavitat i visceral i s'analitzaven també el múscul i el cor.

Finalment, els paràsits localitzats eren separats i guardats en alcohol 70% per tal de conservar-los fins al moment de l'observació. Per la seva identificació eren transparentats en lactofenol, un reactiu que permet visualitzar les diferents estructures internes dels paràsits fent ús del microscopi òptic. Així doncs, mitjançant les bases morfològiques explicades per Køie (1993), Navone et al. (1998), Iglesias (1999), Adroher, Malagón, Valero i Benítez (2004) i Malagón (2007) es va realitzar la identificació. Les estructures determinants d' *H. aduncum* van ser la conformació de l'esòfag, el cec intestinal, el ventricle i l'apèndix ventricular en la part anterior, i les glàndules rectals, l'anus i l'espina pel que fa a la part posterior (Fig. 4). Aquestes estructures, sobretot les de la part anterior del cos, van ser de gran utilitat per diferenciar les larves d'*H. aduncum* de les del gènere *Anisakis* en estadi 3, ja que ambdós presenten dent a la part anterior i finalitzen la part posterior amb l'espina.

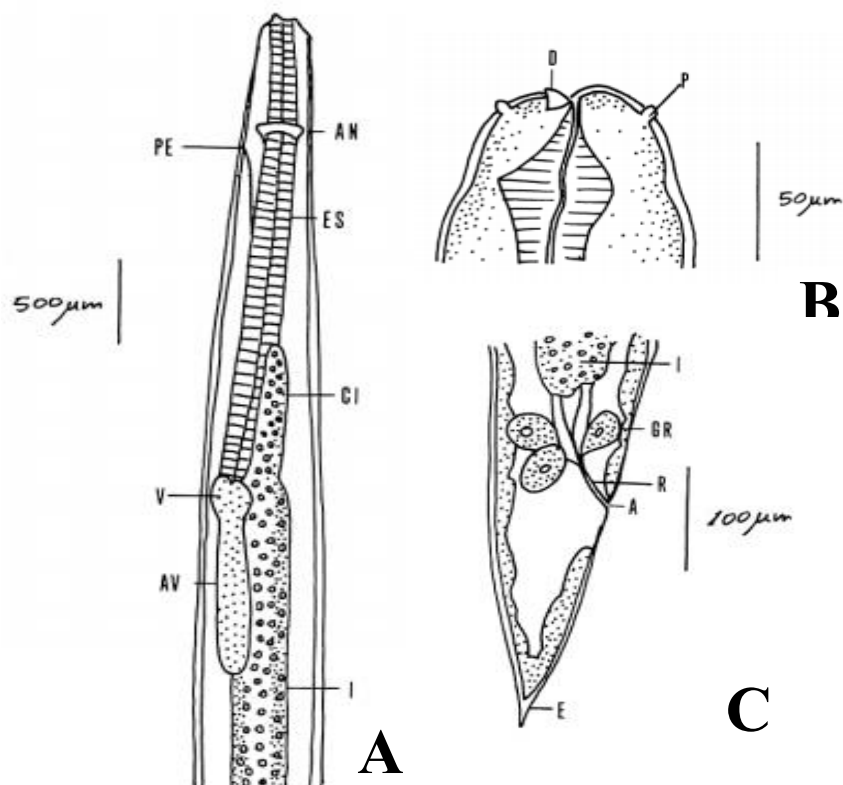


Fig. 4 Larva 3 *H. aduncum*. **A)** Part anterior (AN: anell nerviós; PE: porus excretor; ES: esòfag; CI: cec intestinal; V: ventricle; AV: apèndix ventricular; I: intestí). **B)** Vista lateral de la part anterior (P: papil·la; D: dent). **C)** Vista lateral de la part posterior (I: intestí; G: glàndula rectal; R: recte; A: anus; E: espina). Extreta de Malagón (2007) (Adaptat de Iglesias, 1999)

La diferenciació dels estadis larvaris d'*H. aduncum* es va fer observant la part posterior del nematode. En aquesta zona apareixia, només en les larves més avançades, una estructura en forma de cactus, que és la que es desenvolupa en el mucró característic d'*H. aduncum* en estadi larvari 4 i en individus adults. (Fig. 5).

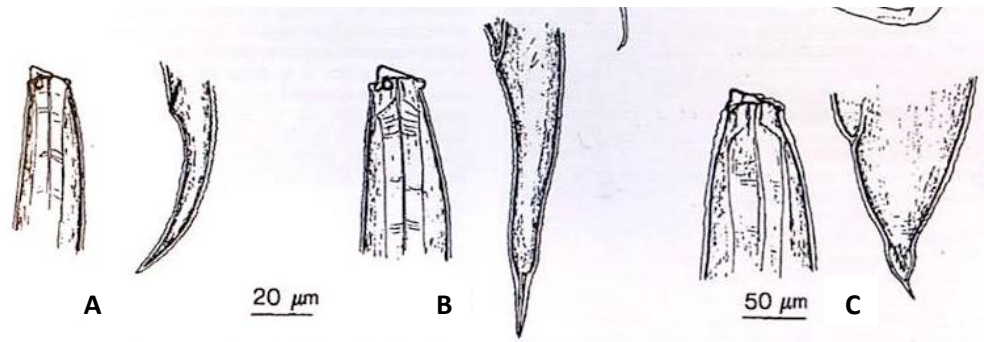


Fig. 5 Evolució dels extrems anterior i posterior de la larva 3 d'*H. aduncum*, essent A l'estadi més primerenc i C el més avançat. A la part final de la figura C es pot apreciar el futur mucró en forma de cactus. Extreta de Køie (1993)

El tractament de dades va consistir primerament en un anàlisi estadístic mitjançant el programa *Quantitative Parasitology QPweb*. Aquest va permetre descriure la infecció per paràsits de *Sardina pilchardus* a través dels següents paràmetres descrits per Reiczigel i Rózsa (2010):

- Prevalença: proporció d'hostes infectats respecte el total de peixos examinats.
- Intensitat mitjana: mitjana del nombre de paràsits trobats en els hostes infectats. Tots els individus no infectats són exclosos per aquest paràmetre.
- Intensitat mediana: mediana del nombre de paràsits trobats en els hostes infectats. En aquest cas també s'exclouen tots aquells individus no infectats.
- Abundància mitjana: mitjana de paràsits trobats en tots els hostes examinats, incloent els valors de zero pertanyents als individus no infectats.

Finalment, amb l'objectiu d'avaluar si el sexe o la talla eren influïen en la carrega parasitària es va realitzar l'anàlisi de Kruskal-Wallis. La classificació dels individus en talles va ser la mateixa que la utilitzada en l'anàlisi de condició fisiològica ja que els exemplars utilitzats van ser els mateixos per ambdós anàlisis. Igualment, per tots els anàlisis estadístics es va utilitzar el programa *R Commander*.

3.2.2. Anàlisi de conservació i durabilitat:

Aquesta part de l'estudi va consistir en un anàlisi de la qualitat de la sardina al llarg de 8 dies aplicant l'índex de qualitat QIM (Quality Index Method) tot seguint les bases proposades per Martinsdóttir et al. (2001).

Així doncs, es va fer un seguiment del deteriorament de, com s'ha indicat a l'apartat anterior, 49 sardines procedents de Palamós. Es va utilitzar concretament el model específic de QIM per *Sardina pilchardus* d'acord amb Andrade, Nunes i Batista (1997), el qual també va ser utilitzat en l'estudi de Triqui i Bouchrititi (2003). Així doncs, es van avaluar les dotze característiques que es mostren a la taula que segueix (Taula 1), amb la finalitat de definir de manera objectiva l'estat dels diferents atributs de la sardina: aspecte general, ulls, brànquies, abdomen, espina i carn.

Taula 1: Model de QIM òptim per l'avaluació de *Sardina pilchardus*. Extret de Andreade et al. (1997)

Model de QIM per l'avaluació de la qualitat de <i>Sardina Pilchardus</i>			
Paràmetre	Característiques		Puntuació
ASPECTE GENERAL	Superfície	Molt brillant, colors lluminosos	0
		Brillant	1
		Menys brillant	2
		Mate, opaca	3
	Rigidesa	Flexible (pre-rígid)	0
		Tens (rígid)	1
		Menys rígid	2
		Tou	3
	Duresa de la carn	Rígida, elàstica	0
		Rígida, forta	1
		Menys elàstica, tova (no recupera la forma)	2
		Molt tova	3
ULLS	Claredat (còrnia)	Transparent, translúcida	0
		Menys transparent, una mica opaca	1
		Opaca o tacada de sang	2
	Pupil·les	Negre i circular	0
		Negre i deformada	1
		Gris, deformada o tacada de sang	2
	Forma	Lleugerament convexa, normal	0
		Plana	1
		Còncava, enfonsada	2
BRÀNQUIES	Coberta (Presència de sang)	No visible (0%)	0
		Poca (<10%)	1
		Una mica (<50%)	2
		Bastanta (>50%)	3
	Color	Vermell o vermell fosc	0
		Pèrdua de color, vermell-marronós	1
		Descolorides	2
	Olor	Fresc, a mar (alga)	0
		Lleugerament a mar	1
		Lleugerament agre o ranci	2
		Ranci, agre (olor molt concentrat)	3

ABDOMEN	Post-brànquies (estat ventral)	Intacte, fort	0
		Intacte, tou	1
		Estriat, tou	2
		Rescat o trencat	3
ESPINA	Resistència al trencament	Trencament si s'intenta separar	0
		Múscul ben adherit a l'espina, enganxat	1
		Múscul menys adherit, menys enganxat	2
		Múscul i espina es desfan amb facilitat	3
CARN	Aspecte	Llis, translúcid, lluminós, clar	0
		Lleugerament opaca o opaca del tot	1
		Aixafada, tacada de sang	2
TOTAL			0-31

Com es pot veure a la taula, els canvis que patien aquests atributs a causa de la degeneració del peix eren expressats a través d'una puntuació que té un rang de 0-2 o de 0-3 segons cada característica. Finalment s'obtenia SS (Sensory Score) fent la suma del valor de cadascuna de les característiques, de manera que aquest es pot trobar entre 0 i 31.

Els 49 exemplars van ser agrupats en 5 grups anomenats A,B,C,D i E de 10 sardines cadascun, menys el grup E, que en contenia 9. A més, cada sardina s'identificava amb un codi que conté les inicials del nom de l'espècie (SP), l'any, el mes i el número de l'individu. Abans de l'anàlisi QIM, els exemplars eren mesurats i pesats, de la mateixa manera que es realitzava a l'estudi de paràsits. La identificació del sexe es realitzava un cop s'havia obert el peix per avaluar els atributs que ho requerien.

Es va considerar dia 0 el dia en què les sardines varen esser pescades. Així, el dia 0 es van avaluar, anotant la puntuació de cada característica, els exemplars del grup A i després, el total de 49 van ser guardats en gel a una temperatura de 4°C (cambra frigorífica), imitant les condicions de peixateria. A més, per evitar el contacte directe entre el peix i el gel (que pot alterar l'aspecte de la pell), es col·locaven els exemplars en bosses de plàstic individuals, dins una altra que englobava a tot el grup. El dia 1, es van analitzar tant les sardines del grup A (ja obertes) com les del grup B (encara senceres) i es va procedir per conservar el total de mostres en les mateixes condicions que el dia 0. Seguint amb el mateix mètode, el dia 2 es van analitzar els grups A,B i C, el dia 3 l'A, B, C i D i el dia 4 el B, C, D i E. L'últim anàlisi es va realitzar per tots els grups de sardines el dia 7 (Fig. 5)

D'aquesta manera es va optimitzar l'estudi ja que es va aconseguir el nombre màxim de rèpliques per cada dia amb el total de 49 exemplars disponibles. A més, es va aprofitar que la determinació del QIM requeria l'obertura del peix per avaluar-ne el

múscul i la cavitat al llarg dels dies, i així determinar si hi havia una migració i/o encapsulament dels paràsits.

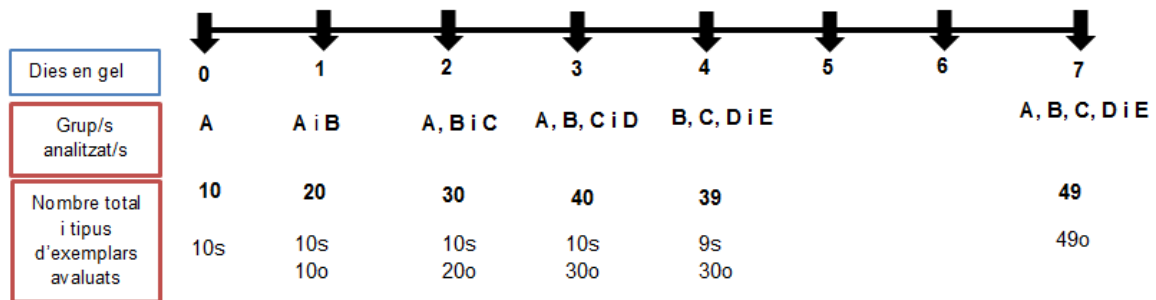


Fig. 5 Esquema temporal de l'anàlisi QIM. Es mostren els grups avaluats cadascun dels dies que va durar l'anàlisi juntament amb el nombre total de sardines analitzades per dia i si aquestes eren senceres (s) o ja havien estat obertes anteriorment (o).

Tal com s'ha dit anteriorment, el valor de SS per la sardina es troba comprès entre 0-31. Per tal d'estandarditzar el resultat, es va seguir el mètode utilitzat per Baixas-Nogueras, Bover-Cid, Veciana-Nogués, Nunes i Vidal-Carou (2003); és a dir es va determinar l'índex de qualitat (QI) mitjançant la següent ràtio:

$$QI = \frac{SS}{PM} \text{ on:}$$

SS = resultat de la suma dels valors de cada atribut

PM = puntuació màxima que es pot obtenir en el model en concret.

D'aquesta manera, es van obtenir valors de QI compresos entre 0 i 1, essent una puntuació de 0, indicativa d'una qualitat excel·lent. A partir del valor de QI per cada dia que es va fer l'anàlisi, es va realitzar, mitjançant el programa *R Commander*, un anàlisi de correlació i un de regressió lineal simple. Així, es va determinar el nivell de correlació entre el valor de QI i el temps que les sardines eren guardades en gel. Després es va dur a terme el mateix anàlisi per cada un dels paràmetres mostrats en la taula 1 i així determinar els que es veien més influenciats pel transcurs del temps i que per tant perdien les propietats de frescor més ràpidament.

És important destacar que l'anàlisi de resultats general i per atributs es va fer amb tot el conjunt de dades, és a dir, que conté l'avaluació de sardines senceres i també de sardines que ja havien estat obertes. Per això, es va realitzar una t-student per determinar si hi havia diferències significatives entre aquests dos grups d'exemplars.

Determinació de la vida útil:

Triqui i Bouchriti (2003) van estudiar la vida útil de *Sardina pilchardus* emmagatzemada a 4 °C. Aquests autors van fer-ho a partir d'un model de QIM pràcticament igual que l'utilitzat en aquest estudi, el qual van complementar amb un anàlisi dels components volàtils alliberats per la sardina durant la seva degradació. Per tot això, per trobar la vida útil dels exemplars analitzats, es va agafar de referència el valor de SS=17, la puntuació màxima de QIM acceptada pels autors citats. En aquest estudi, però, es va treballar amb el valor de QI estandarditzat, de manera que es va utilitzar la ràtio de Baixas-Nogueras et al. (2003) per obtenir l'equivalent de SS=17 en un rang de 0 a 1, el qual és el valor de QI límit. Finalment, la vida útil va resultar de la substitució del valor de QI límit, en l'equació obtinguda de la relació lineal entre el temps transcorregut i el valor de QI ($QI = ax+b$), ja que x correspon, en aquest cas, a la vida útil.

4. RESULTATS

4.1. ESTUDI DE LA CONDICIÓN FISIOLÒGICA:

Es va trobar que el *Factor relatiu de Condició* (Kn) pel conjunt d'exemplars és de 0,850 amb una desviació estàndard de 0,068. Cal remarcar que hi ha una diferència significativa en aquest valor entre les sardines analitzades d'octubre a desembre (Kn=0,8300) i les sardines analitzades a partir de l'abril (Kn=0,8743). Es considera oportú destacar que també es van notar diferències en les gònades i l'acumulació de greix de les sardines segons l'època en què van ser analitzades. Els exemplars avaluats entre octubre i desembre presentaven les gònades molt desenvolupades, mentre que les sardines avaluades a partir de l'abril tenien les gònades de mida normal a més de contenir cert contingut de greix que no s'havia apreciat abans.

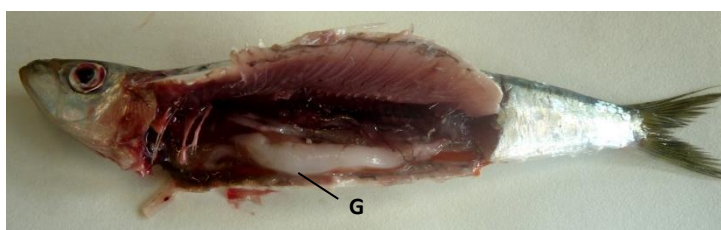


Fig. 6 Exemplar de *Sardina pilchardus* analitzat al mes d'abril. S'ha indicat amb una G el contingut de greix.

Els individus es van classificar, tal i com mostra la taula 2, en dues categories: la classe 1, que inclou 50 exemplars de talla petita (12,1-14,7cm) i la classe 2, constituïda per 45 exemplars de talla gran (14,8 -17 cm).

Taula 2 Classificació dels exemplars analitzats segons la talla obtinguda pel mètode *Jenks natural breaks classification*.

Class	Lower	Upper	Count
1	12,1	14,7	50
2	14,8	17	45
GVF	23,8886444	71,9898947	0,6681667

L'anàlisi ANOVA va requerir primerament la transformació de la variable Kn en logKn ja que no es complia el supòsit de normalitat. Una vegada feta la transformació es va comprovar que no existeix interacció entre els factors talla, sexe i parasitació de l'individu amb el valor de Kn.

4.2. ESTUDI PARASITOLÒGIC

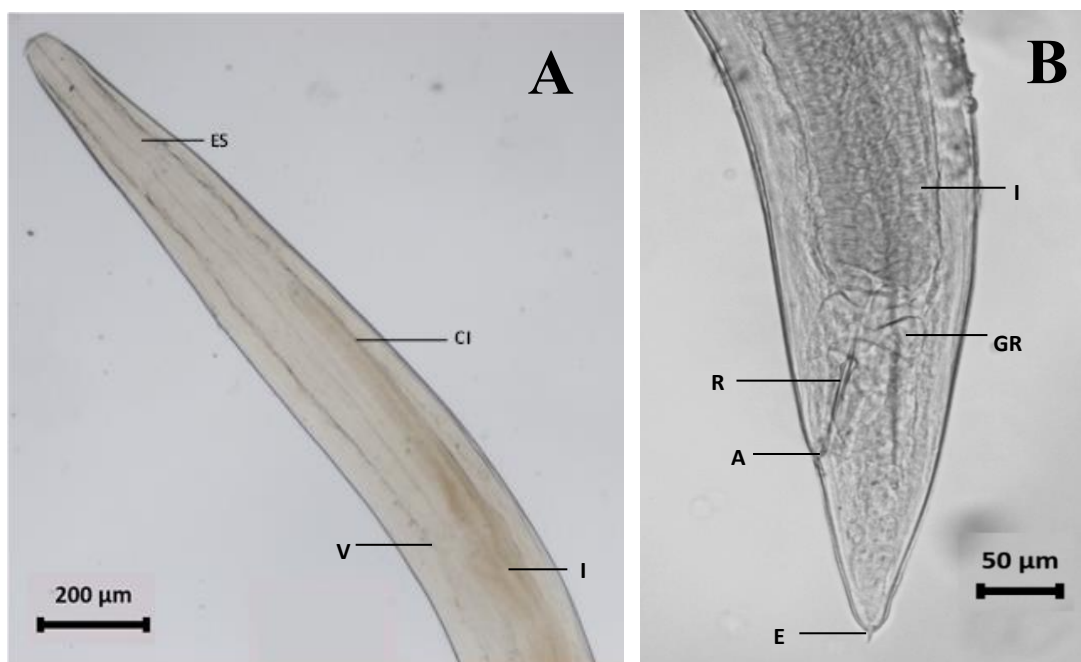
Els resultats d'aquest anàlisi mostren que un 45,3% del individus analitzats es trobaven infectats, majoritàriament pel nematode *Hysterothylacium aduncum* i en menys freqüència i intensitat per paràsits digenis (Cl. Trematoda, SbCl. Digenea) (taula 3). És important destacar que tots els digenis van ser identificats en els 15 exemplars analitzats durant el mateix dia que havien estat pescats. Per contra, en tots aquells que es van avaluar el dia després de la seva captura, ja no es va poder detectar la presència d'aquests paràsits.

Tal com s'esperava, no es va trobar cap nematode del gènere *Anisakis*, de manera que l'única espècie de nematode present en la sardina és *H. aduncum* amb una prevalença del 43,2%.

Taula 3 Paràmetres d'infecció dels paràsits identificats en *Sardina pilchardus*. (HL3: *H. aduncum* en estadi larvari 3; HL3-4: *H. aduncum* en estadi larvari 3 avançat; Total H: total de larves d' *H. aduncum*; D: digenis.)

Tipus de paràsit	Nombre d'infectats	Prevalença (95%IC)	Intensitat mitjana	Intensitat mediana	Abundància mitjana
HL3	36	37,9	1,50	1	0,568
HL3-L4	10	10,5	1,20	1	0,126
Total H	41	43,2	1,61	1	0,695
D	3	3,2	1,33	1	0,042
Total	43	45,3	1,63	2	0,737

A continuació (Fig. 7) es troben indicades les parts més característiques d' *H. aduncum*, utilitzades per la identificació d'aquest.



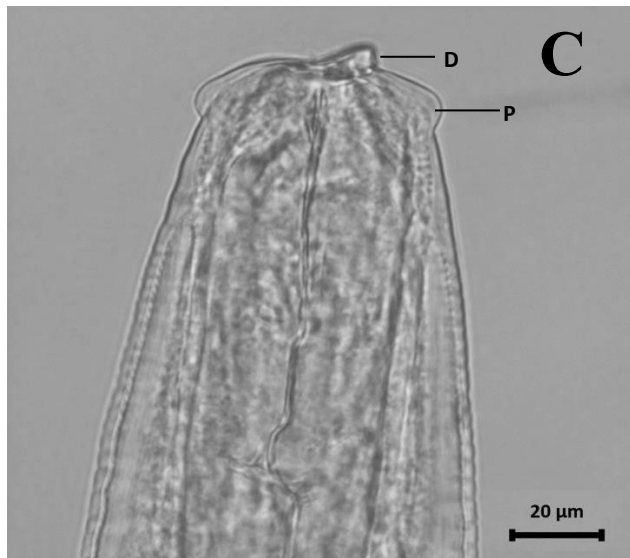


Fig. 7 Larva 3 *H. aduncum*. **A)** Part anterior (ES: esòfag; CI: cec intestinal; V: ventricle; I: intestí). **B)** Vista lateral de la part posterior (I: intestí; G: glàndula rectal; R: recte; A: anus; E: espina). **C)** Vista lateral de la part anterior (P: papil·la; D: dent).

H. aduncum es va trobar en diferents estadis larvaris. Així, es va diferenciar entre exemplars en estadi 3 (HL3) i exemplars en el pas de l'estadi 3 al 4 (HL3-L4). Aquests últims es reconeixien per la presència d'una estructura en forma de cactus a la part posterior del nematode, la qual en estadi larvari 4 esdevé a mucró. Així doncs, en larves HL3-L4, es presenta aquesta estructura envoltada encara per la funda pròpia del paràsit en estadi de larva 3, la qual finalitza amb l'espina (Fig. 8). La prevalença i abundància mitjana de larves en estadis menys avançats és bastant major que la prevalença i abundància mitjana del paràsit en estadi L3-L4. Tot i així, la intensitat mitjana amb què es troben els dos tipus és similar (Taula 3).

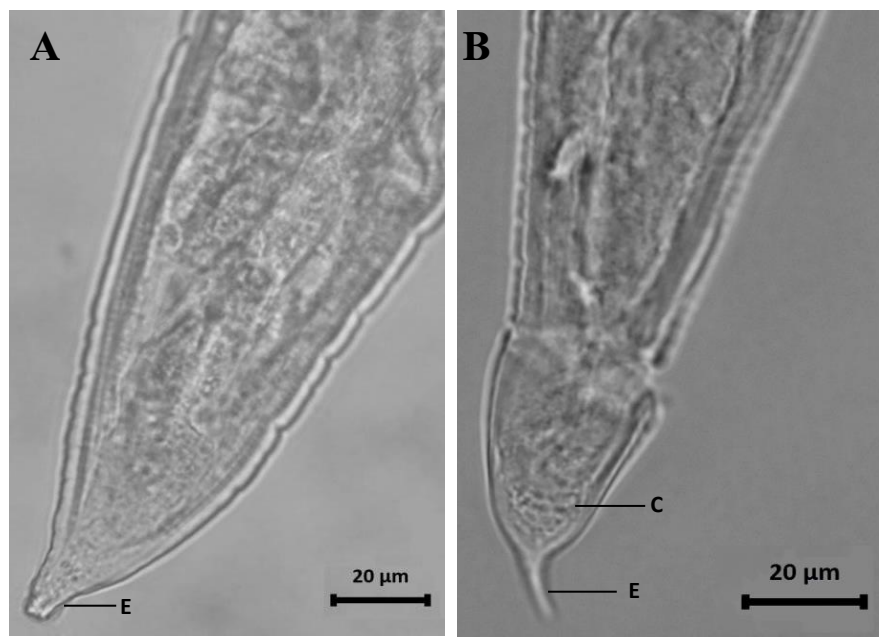


Fig. 8 Extrem posterior de d'*H. aduncum*. **A)** Estadi larvari primerenc considerat HL3. **B)** Estadi larvari avançat considerat HL3-4. (C: estructura en forma de cactus; E: espina)

Durant el procés de separació dels nematodes, en molts casos no va ser possible identificar en quin òrgan es trobaven exactament a causa de les petites dimensions de la sardina. De tota manera, cap d'ells es presentava enquistat en els òrgans analitzats sinó que es trobaven lliures al voltant de les vísceres o adherits dèbilment als òrgans de la cavitat gastrointestinal. També és important destacar que quan es va avaluar la parasitologia del peix al llarg dels dies (aprofitant l'anàlisi QIM), no es va detectar cap paràsit lliure o encapsulat.

Finalment, amb l'anàlisi de Kruskal-Wallis es va comprovar que no existeix relació entre la talla i el sexe dels individus amb la càrrega parasitaria d'aquests (nombre de paràsits que contenen).

4.3. ANÀLISI DE CONSERVACIÓ I DURABILITAT:

Els resultats van indicar que existeix una correlació lineal alta entre l'índex de qualitat de la sardina i el temps que aquesta ha estat mantinguda en gel, ja que el valor de correlació és alt ($r=0,9745$) i molt significatiu ($p\text{-valor} < 0,001$) (Taula 4). Així doncs, l'índex de qualitat es pot determinar a partir de l'equació $y = 0,1207x + 0,2217$, on y és el valor de QI i x correspon al nombre de dies en gel. Observant la figura 9 es pot veure com durant els primers dies d'emmagatzematge la degradació és continua, mentre que en el pas del dia 3 al 4 és lleugerament més sobtada i durant els dies finals acaba essent més suau (Fig. 9). Cal destacar que en l'anàlisi global no es van introduir les dades preses de l'abdomen ja que no va poder ser avaluat al dia 7 degut al mètode experimental. Aquest requeria l'obertura de la sardina per la observació de la carn i l'adhesió del múscul a l'espina, de manera que l'últim dia totes les sardines ja havien estat obertes i no es podia avaluar l'estat ventral (Fig. 5).

Pel que fa a l'anàlisi de cadascun dels atributs per separat, a la taula 4 es mostra el nivell de correlació entre cada atribut en concret i la puntuació que se li va donar al llarg dels dies, juntament amb el coeficient de determinació i el nivell de significació. Com es pot veure, els atributs amb una relació més dependent al pas del temps són la olor de les brànquies, l'aspecte dels ulls i l'estat de la carn i de l'abdomen. Per altra banda, la resistència al trencament de la columna espinal, l'aspecte general de la sardina i la presència de sang en les brànquies, són els que presenten una correlació més dèbil amb el temps transcorregut.

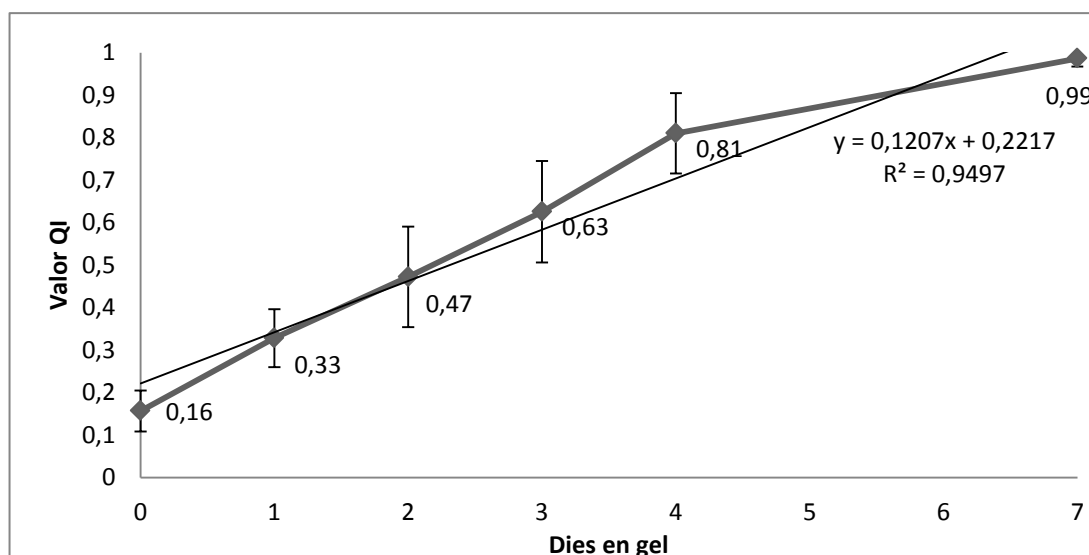


Fig. 9 Relació lineal entre l'índex de qualitat de *Sardina pilchardus* i temps d'emmagatzematge en gel. S'han inclòs els resultats de l'avaluació de tot el conjunt d'atributs amb excepció de l'abdomen (estat ventral), per això per obtenir el valor de QI s'ha dividit el valor de SS entre 28 i no 31.

Taula 4 Coeficient de correlació de Pearson (r), coeficient de determinació (R^2) i nivell de significació (p-valor) de la relació entre el valor de QI per cada atribut i el temps d'emmagatzematge.

Atributs	R	R ²	p-valor
Aspecte general	0,957300	0,9165	0,002693
Ulls	0,976126	0,9528	0,000848
Coberta	0,914586	0,8365	0,010630
Brànquies* Color	0,968199	0,9374	0,001501
Olor	0,980208	0,9608	0,000583
Abdomen	0,980702	0,9618	0,003209
Columna espinal	0,929673	0,8643	0,000725
Carn	0,974371	0,9494	0,000977
Total**	0,974500	0,9497	0,000967

*S'ha desglossat l'anàlisi de les brànquies en les diferents característiques: coberta, color i olor perquè s'havien definit diferents rangs d'avaluació per aquestes 3.

**S'han inclòs els resultats de l'avaluació de tot el conjunt d'atributs amb excepció de l'abdomen (estat ventral)

Interval de confiança del 95%

La figura 10 mostra el procés de deteriorament de la part anterior de la sardina; principalment dels ulls i de la coberta branquial. Com es pot veure, a partir del dia 3 la còrnia és més opaca, les pupil·les s'han deformat i l'ull té una forma còncava molt marcada. Pel que fa la coberta de les brànquies, la presència de sang augmenta a mesura que passen els dies.



Fig. 10 Procés de degradació de la part anterior de la sardina des del primer dia de l'anàlisi QIM (0) fins al darrer (7).

Cal destacar que els resultats de l'anàlisi t-student van demostrar que hi ha diferències significatives en la puntuació SS entre sardines senceres i obertes a partir del segon dia d'anàlisi. Tal i com es mostra a la figura 11, en ambdós casos es compleix una correlació lineal entre el valor de SS i el transcurs del temps. De tota manera, les sardines que havien estat obertes prèviament tenen una puntuació significativament major a les que es conservaven senceres, i per tant, les primeres perden la qualitat més ràpidament. Cal tenir en compte que les dades del primer i últim dia només es van prendre per un tipus de sardina: senceres pel que fa al primer dia i obertes en el cas de l'últim dia.

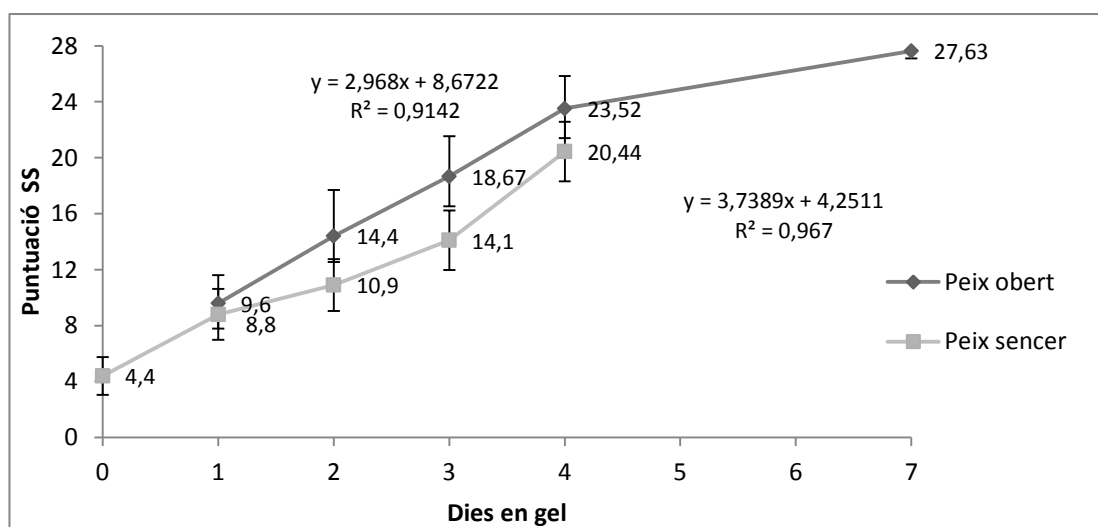


Fig. 11 Diferència entre el procés de degradació d'exemplars conservats sencers i exemplars conservats una vegada oberts.

Determinació de la vida útil:

En base al nivell d'acceptació de la sardina considerada en estudis anteriors (Triqui i Bouchriti, 2003), es va determinar que perquè la sardina pugui ser consumida ha de tenir un valor QI inferior a 0,6071. Després, substituint aquest en l'equació que explica la relació entre índex de qualitat dels exemplars analitzats i temps transcorregut ($QI = 0,1207x + 0,2217$) es va trobar que $x=3,1930$. Així doncs, es considera que la vida útil de les sardines avaluades és d'aproximadament 3 dies.

5. DISCUSSIÓ

Els resultats d'aquest estudi, pel que fa a la condició de la sardina, mostren que efectivament hi ha un motiu de preocupació per l'espècie, tal com apuntaven algunes notícies aparegudes a la premsa els últims mesos. Freire i Davies (1978) expliquen que quan el valor del *Factor relatiu de Condició* (Kn) és més gran que 1 indica que el peix avaluat es troba en una bona condició fisiològica. Per contra, quan Kn és menor que 1, el peix té un creixement lent i per tant, no es troba en la seva millor condició. Els resultats d'aquest estudi mostren que les sardines analitzades es troben per sota el que Freire i Davies (1978) consideren una bona condició fisiològica ($Kn < 1$). Aquests mateixos autors proposen diferents causes que porten a un creixement lent del peix, les quals són: superpoblació, alts nivells de parasitisme, afectació per malalties i/o baixa productivitat de l'ecosistema. Actualment, la sardina mediterrània no es troba en condicions de superpoblació sinó que la situació és més aviat contrària i molt alarmant. De fet, la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) diagnostica aquesta espècie com un "stock" sobreexplotat amb un baix nivell d'abundància. Per altra banda no s'han trobat referències que la sardina hagi estat afectada per alguna malaltia durant els darrers anys. Pel que fa a la teoria que la baixa condició sigui provocada per alts nivells de parasitisme, és important destacar que en aquest estudi s'ha trobat una prevalença del paràsit *H. aduncum* major a la que han reportat altres estudis en aquesta mateixa espècie (Rello et al., 2008; Gutiérrez-Galindo et al., 2010). De tota manera, l'anàlisi estadístic demostra que no hi ha una relació entre el valor de Kn i la parasitació dels exemplars, indicant que la intensitat mitjana d'*H. aduncum* (1,63) no és suficient per ser la única causa d'aquesta baixa condició. Per altra banda, amb els resultats de l'anàlisi ANOVA es va determinar també que el valor de Kn no està significativament influenciat per la talla i el sexe de l'individu.

Així doncs, es proposa que la baixa condició de les sardines és deguda a la baixa productivitat de l'ecosistema causada pels efectes del canvi climàtic sumada a una sobreexplotació pesquera d'aquesta espècie. Per una banda, la pujada de temperatures afecta la productivitat i qualitat planctònica, la qual cosa fa que les sardines no tinguin una alimentació suficient i adequada (Brosset et al. 2015b). A més, tal i com explica Isabel Palomera a "La Vanguardia" (06/04/2016) l'adaptació d'aquesta espècie a l'ambient canviant fa que es reproduïxin abans i puguin menys ous, produint una inestabilitat a les poblacions. Per altra banda, l'espècie es troba en un

estat de sobreexplotació: es pesca massa sardina i exemplars massa petits tal i com afirma Josep Lloret al mateix article de “La Vanguardia” .

Cal tenir en compte, però, que degut a la cronologia del projecte, la recollida de mostres no va ser anual, i totes les sardines es van analitzar durant els mesos que aquesta espècie es troba en la fase activa del cicle reproductiu (d'octubre a maig). Aquest fet és important perquè durant aquesta època les sardines es troben en una condició més baixa degut a que no s'alimenten amb tanta intensitat i la major part de l'energia és destinada a la maduració de les gònades i a la posta (Mustac i Sinovcic, 2010; Brosset et al., 2015b; Méndez- Villamil, Lorenzo, González i Soto, 1997). En canvi, a l'estiu, durant la fase inactiva del cicle reproductiu, les sardines s'alimenten intensament i acumulen gran quantitat de reserves energètiques, fet que fa que es trobin en la seva millor condició (Fig. 12).

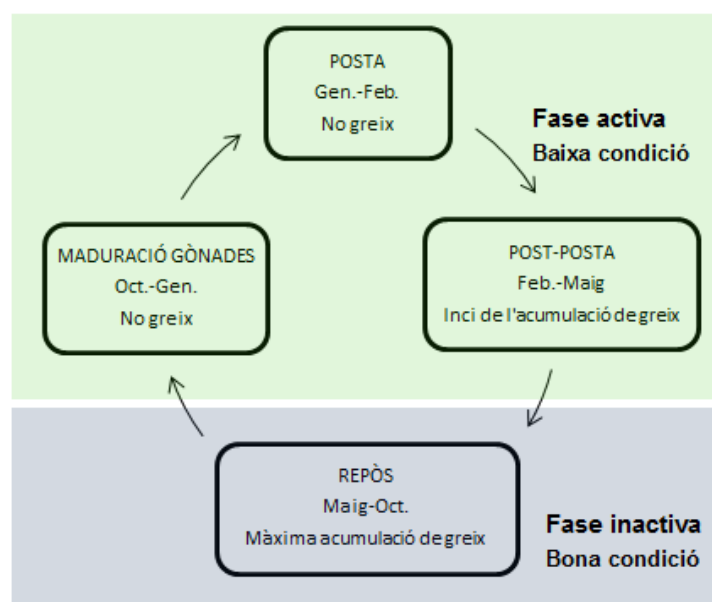


Fig. 12 Estadis del cicle reproductiu de *Sardina pilchardus* relacionats amb la condició fisiològica del peix segons l'etapa. En verd es mostren els estadis que inclou la fase activa i en blau s'indica la fase inactiva.

D'aquesta manera, els resultats obtinguts no es poden atribuir únicament a la baixa productivitat de l'ecosistema i a la sobreexplotació pesquera sinó que també són deguts a que l'època de l'any que es va dur a terme l'anàlisi va coincidir amb el període en què les sardines presenten un índex de condició més baix pel funcionament del seu cicle reproductiu. Així doncs, si l'estudi hagués tingut una durada anual, s'hagués esperat trobar una millora en la condició d'aquestes, sobretot en els mesos compresos entre maig i octubre. De fet, malgrat en aquest estudi totes les

sardines es trobessin en època de reproducció, ja s'han trobat diferències significatives en la condició fisiològica de les sardines analitzades en els diferents mesos que dura aquesta, essent significativament major en els exemplars avaluats a partir del mes d'abril ($Kn=0,8743$) respecte als que s'havien analitzat entre octubre i desembre ($Kn=0,8300$). Aquests resultats concorden amb el contingut de greix observat durant l'anàlisi, el qual només es va poder apreciar en sardines avaluades a partir de l'abril. Les diferències detectades en la mida de les gònades també van coincidir amb el transcurs del cicle: les sardines que havien estat capturades entre octubre i desembre presentaven les gònades en procés de creixement, ja que es trobaven encara en la fase de maduració. D'altra banda, les que havien estat pescades durant l'abril ja havien realitzat la posta i les gònades, més petites, es trobaven en estadi de post-posta (Fig. 12).

Finalment, l'anàlisi ANOVA va demostrar que no existeixen diferències significatives en el factor de condició dels exemplars amb diferent sexe o talla. En relació al sexe, els resultats coincideixen amb els obtinguts en un estudi realitzat al Golf de Lleó (Brosset et al., 2015b) i són indicatius que la variació en la condició fisiològica no és causada pel sexe, i que per tant mascles i femelles es troben sotmesos al mateix nivell d'esgotament durant l'època de reproducció. Per altra banda, pel que fa als resultats de la relació entre el factor de condició i la talla, no han corroborat els de Mustác i Sinovcic (2010). Aquests autors van trobar que els exemplars de talla petita presentaven un índex de condició més elevat que els de talla gran. En aquest estudi no s'ha trobat aquesta tendència i no hi ha hagut diferències significatives en el valor de Kn entre els dos grups analitzats (talla petita i talla gran).

Pel que fa a l'estudi dels paràsits, no es va trobar cap sardina infectada per nematodes del gènere *Anisakis*, de manera que els resultats coincideixen amb els d'estudis anteriors (Valero et al., 2004; Rello et al., 2008; Gutiérrez-Galindo et al., 2010). Aquest fet és destacable des d'un punt de vista comercial, ja que actualment moltes de les espècies que es consumeixen habitualment contenen *Anisakis*, els quals poden resultar patògens quan es troben en l'estadi larvari 3 (L3) en el peix que es consumeix cru o poc cuinat (Lorenzo, 2000). Que no s'hagin identificat larves d' *Anisakis* a la sardina, es deu possiblement al fet que les preses principals de la dieta tant en exemplars joves com adults són els crustacis copèpodes de mida petita (Nikolioudakis et al., 2012; Costalgo i Palomera, 2014), mentre que els principals intermediaris de larves d'*Anisakis* són els crustacis eufausiacis (Gutiérrez-Galindo et al. 2010), que no

són consumits comunament per la sardina. D'altra banda, la presència d' *H. aduncum* és deguda a que aquest paràsit utilitza com a principal intermediari els copèpodes. Aquests ingereixen el nematode en estadi de L2, el qual pot desenvolupar-se i arribar a L3 a l'hemocel del mateix invertebrat. De tota manera, si el copèpode és depredat per un altre invertebrat o per un peix abans que hagi arribat a la talla mínima per poder ser infectiu per l'hoste definitiu, la larva passa a la cavitat corporal del nou hoste intermediari, on pot aguantar encapsulada o no, durant llargs períodes de temps i seguir creixent fins arribar a L3 infectiva (Malagón, 2007). La sardina, actua com a aquest segon intermediari i per això *H. aduncum* es va trobar en els teixits que envolten la cavitat del peix en estadi de L3 i també en aquest mateix estadi més avançat (L3-4).

És important destacar que la prevalença amb què *H. aduncum* va ser trobat, supera aproximadament en un 70% la prevalença demostrada per Rello et al. (2008) en sardines provinents de la mateixa zona estudiada en aquest projecte, de manera que es proposen dues hipòtesis per aquest resultat. La primera és que realment la sardina es trobi més parasitada, fet que es podria atribuir a que actualment aquesta es troba en més baixa condició i per tant és més susceptible a ser parasitada. La segona hipòtesis és que en l'estudi de Rello i col·laboradors (2008) no es detectessin el total d' *H. aduncum*, ja que la localització i separació d'aquests és difícil degut a la seva petitíssima mida. De fet, si aquests no estaven vius i per tant en moviment, era gairebé impossible detectar-los. Igualment, els digenis, molt més petits, només van poder ser identificats en les sardines que es van analitzar el mateix dia de ser pescades. Aquest fet indica que és possible que la resta d'exemplars també estiguessin infectats per aquests paràsits, tot i no tenir constància d'haver-los localitzat.

Cal dir que si realment hi ha hagut un augment en la prevalença d'*H. aduncum* és un fet rellevant, ja que pot comportar implicacions tant per la salut de la sardina com per la salut humana. Pel que fa a la salut de la sardina, s'ha demostrat que una alta prevalença d'aquest paràsit pot provocar la mortalitat del peix en estadi larvari (Balbuena et al., 2000) a més de causar estrès en aquells que es troben infectats, fent que siguin més susceptibles a patir infeccions (González i Carvajal, 1994). Pel que fa a la implicació en la salut humana, el gènere *Hysterothylacium* s'ha relacionat en alguns casos amb anisakidosis humana (Yagi et al., 1996) i al·lèrgies causades pel consum de peix. Tot i això, no hi ha reportats tants casos com els causats pel gènere *Anisakis*, però els que s'han detectat són probablement deguts als antígens que comparteixen aquest dos gèneres (Férrandez- Caldas et al., 1998).

En relació a la càrrega parasitària, no s'han trobat diferències significatives entre exemplars amb diferent sexe i/o la talla. Rello i col·laboradors (2008) tampoc van obtenir resultats significatius en els seus estudis, però si que van detectar una tendència que mostrava que els exemplars de més longitud tenien més prevalença, intensitat i abundància d'*H. aduncum*. En aquest estudi no s'ha vist aquesta tendència, tot i que els exemplars analitzats es troben dins el mateix rang de longitud en ambdós estudis. En el cas del sexe, es pot dir que no és un factor determinant en la susceptibilitat dels individus al moment de ser parasitats.

Finalment, que no es detectés cap paràsit en procés de migració i/o d'enquistament pot ser degut per una banda a la seva mida petita i per altra al mètode d'emmagatzematge. Les sardines es guardaven quan ja havien estat obertes així que es facilitava d'alguna manera la sortida dels paràsits a l'exterior. Tot i que aquestes es separaven individualment en bosses de plàstic, el mètode és igualment poc sensible i els pocs paràsits que probablement contenia cada individu podien passar desapercebuts o perdre's. Així doncs, es pot dir que en aquest projecte no queda constància de la migració i enquistament d'aquest paràsit durant el deteriorament del peix.

Pel que fa al model de QIM utilitzat, es considera una bona eina per avaluar l'índex de qualitat de la sardina ja que dóna bons nivells de correlació. Els resultats han demostrat que la olor de les brànquies, l'aspecte dels ulls i l'estat de l'abdomen són els atributs més indicatius per avaluar la qualitat del peix, ja que són els que presenten una relació de dependència més forta amb el temps transcorregut.

S'ha determinat que la vida útil de la sardina emmagatzemada imitant les condicions de peixateria és d'aproximadament 3 dies, mentre que la reportada per Triqui i Bouchriti (2003) és de 4 dies. Es proposen dues hipòtesis per aquesta diferència. Per una banda, pot ser que sigui degut a que les sardines no es guardessin degudament des del moment en què van ser pescades al matí, fins la tarda que és quan es va iniciar l'anàlisi QIM, i d'aquesta manera disminuís la seva vida útil. Per altra banda es proposa que la causa pot ser la diferència de metodologia entre estudis. Primerament, cal tenir en compte que, tal i com es va demostrar, les sardines que s'emmagatzemen senceres es conserven significativament millor que les que s'emmagatzemen obertes, fet que possiblement és degut a la sang vessada en obrir la sardina que altera la qualitat dels teixits. Com que en aquest estudi s'ha calculat la vida útil utilitzant les

dades del conjunt d'exemplars, tant sencers com oberts, aquests últims, amb puntuacions més elevades, poden haver influenciat en la vida útil fent que aquesta sigui menor. També cal destacar que Triqui i Bouchriti (op.cit) van complementar l'estudi QIM amb un altre variant de mètode sensorial a més de fer un anàlisi dels volàtils alliberats per la sardina, i per tant els seus resultats van ser corroborats per diferents mètodes. Així doncs, tot i que com s'ha explicat, el model de QIM ha estat el correcte, es fan algunes propostes per millorar l'anàlisi. Per una banda que l'avaluació sigui duta a terme per diferents persones, les quals hagin estat entrenades i no sàpiguen els dies que porten els exemplars avaluats guardats en gel. També es proposa, tal i com ho fan diferents estudis en els què es determina el QIM per diferents espècies, complementar aquest amb un anàlisi de càrrega microbiològica del peix o amb algun altre mètode sensorial. (Svensdottir, Martinsdottir, Hyldig, Jorgensen i Kristbergsoon, 2002; Sant'Ana, Soares i Vaz-Pires, 2011).

Finalment, per contribuir a allargar la durabilitat es proposa avaluar si netejar la sardina amb aigua corrent abans del seu emmagatzematge, just després de ser pescada, ajuda a allargar la vida útil d'aquesta. Huidobro, Pastor, López-Caballero i Tejada (2001) van demostrar que aquest rentat en la orada (*Sparus aurata*), provocava una reducció en la puntuació SS i també retardava el límit d'acceptabilitat microbiològica. Així doncs, si es comprovés que en la sardina s'obté el mateix resultat es podria plantejar com a opció per augmentar la durabilitat d'aquesta.

D'altra banda, es vol destacar la possibilitat de consumir aquest peix de maneres alternatives com en forma conserva o *surimi*, dues opcions que permeten assegurar el total aprofitament de la sardina. Consumint la sardina en forma de conserva s'aconsegueix mantenir l'omega-3 gairebé intacte, a més de ser una font de calci si es menja també l'espina. Per altra banda, el *surimi* permet aprofitar tot el potencial proteic del múscul per l'elaboració de diferents productes (Álvarez, 1993).

Per últim, es vol destacar que tot el material biològic utilitzat per realitzar aquest projecte han estat sardines pescades i comercialitzades segons les normatives vigents i no s'ha sacrificat cap individu en cap cas. A més, en tot moment s'ha intentat actuar de manera sostenible i el nombre d'individus analitzats ha estat el necessari i suficient per obtenir els resultats de l'estudi. Per altra banda, l'únic reactiu utilitzat ha estat el lactofenol, imprescindible per transparentar els paràsits i identificar-los.

6. CONCLUSIONS

- The samples of sardine analysed were under what is considered a good physiological condition, due to external factors (environment) but also to biological factors (species physiology). On the one hand, climate change and overfishing cause the decrease in the ecosystem's productivity, and as a result, the exhaustion of the sardine. On the other hand, the study has been done during the months when this species is in its reproductive period, when the sardine is in a low condition because of physiological reasons.
- *Sardina pilchardus* is not infected by *Anisakis* but by *Hysterothylacium aduncum* in third larvae phase (L3) and in third advanced larvae phase (L3-4). This fact has both negative and positive consequences. It is positive because *Anisakis* cause allergies in humans more frequently than *Hysterothylacium*. In spite of this fact, it has been found an increase in the prevalence and intensity of this parasite in the sardine, which could not only increment the possibility of this parasite affecting human health because of its consumption but also affect the health of the sardine. However, in this study it has not been found a significant difference in physiological condition between not infected sardines and infected ones. Other physiological factors such as sex and size do not influence the level of sardine's infection by this parasite.
- The QIM method is considered a good system to value the fish quality and it showed that the odour of the gills, the eyes' appearance and the state of the abdomen are the most indicative attributes. The shelf-life of the sardine is of about 3-4 days and to determine it with total certainty, it is convenient to complement the QIM with a microbiological analysis or corroborate it with other sensory methods. It is important to highlight that the conditions in which the fish is kept until consumption are very essential for its shelf-life. Finally, in order to prolong the sardine's shelf-life it has been proposed to wash the fish just after it has been caught, which is effective in other species.

7. BIBLIOGRAFIA

- Adroher, F.J., Malagón, D., Valero, A., i Benítez, R. (2004). In vitro development of the fish parasite *Hysterothylacium aduncum* from the third larval stage recovered from a host to the third larval stage hatched from the egg. *Diseases of Aquatic Organisms*, 58(1), 41-45. doi: 10.3354/dao058041
- Alvarez Gomez de Segura, Cristina. *Influencia de factores fisico-quimicos en la formacion de geles elaborados con surimi de sardina (Sardina pilchardus)* [en línia]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria, 1993 <<http://eprints.ucm.es/3196/1/T18490.pdf>> [Consulta: 6 de juny de 2016]
- Andrade, A., Nunes, M.L., i Batista, I. (1997). Freshness quality grading of small pelagic species by sensory analysis. En Ólafsdóttir G., Luten J., Dalgaard P., Careche M., Verrez-Bagnis V., Martinsdóttir E., Heia K. (eds.), *Methods to determine the freshness of fish in research industry: Proceedings of the Concerted Action "Evaluation of Fish Freshness"* (1a ed., p. 333-338). Paris: International Institute of Refrigeration.
- Baixas-Nogueras S., Bover-Cid S., Veciana-Nogués T., Nunes M.L., i Vidal-Carou M.C. (2003). Development of Quality Index Method to Evaluate Freshness in Mediterranean Hake (*Merluccius merluccius*), *Food Science*, 68(3), 1067-1071. doi: 10.1111/j.1365-2621.2003.tb08289.x
- Balbuena, J.A., Karlsbakk, E., Kvenseth, A.M., Saksvik, M., i Nylund, A. (2000). Growth and emigration of third-stage larvae of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) in larval herring *Clupea harengus*. *The Journal of Parasitology*, 86(6), 1271-1275. doi: [http://dx.doi.org/10.1645/0022-3395\(2000\)086\[1271:GAEOTS\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[1271:GAEOTS]2.0.CO;2)
- Bernardi, D.C., Teixeira, E., i Quieroz de Freitas, M. (2013). Quality Index Method (QIM) to assess the freshness and shelf life of fish. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56(4), 587-598. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132013000400009>
- Brosset, P., Fromentin, J.M., Ménard F., Perenet, F., Bourdeix J.H., Bigot, J.L., Van Beveren, E., Pérez M.A., Choy, S., Sarau, C. (2015a). Measurement and analysis of small pelagic fish condition: A suitable method for rapid evaluation in the field. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 462, 90-97. Recuperat de <http://archimer.ifremer.fr/doc/00272/38334/38457.pdf>
- Brosset, P., Ménard F., Fromentin, J.M., Bonhommeau, S., Ulses, C., Bourdeix J.H., Bigot, J.L., Van Beveren, E., Roos, D., i Sarau, C. (2015b). Influence of environmental variability and age on the body condition of small pelagic fish in the Gulf of Lions. *Marine Ecology Progress Series*, 529, 219-231. doi: 10.3354/meps11275

- Corbera, J., Sabatés, A., i Garcia-Rubies, A. (1996). *Peces de mar de la Península Ibérica* (1a ed.) Barcelona: Editorial Planeta.
- Costalago, D., i Palomera, I. (2014). Feeding of European pilchard (*Sardina pilchardus*) in the northwestern Mediterranean: from late larve to adults. *Scientia marina*, 78(1), 41-54. doi: 10.3989/scimar.03898.06D
- Fernández-Caldas, E., Quirce, S., Marañón, F., Díez, ML., Gijón, H., i López, R. (1998) Allergenic cross-reactivity between third larval stage of larvae of *Hysterothylacium aduncum* and *Anisakis simplex*. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 101(4), 554-555
- Freire, O., i Davies, W. (1978). Length- Weight Relationships and Condition Indices of Fishes from Reservoirs of Ceara, Brazil. *Research & Development series*, 18(3), 1-7. Recuperat de <http://hdl.handle.net/11200/1085>
- Generalitat de Catalunya (Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació. (2015). *Talles mínimes autoritzades*. Recuperat de http://agricultura.gencat.cat/ca/ambits/pesca/dar_especies_calador_mediterrani/dar_talles_minimes_autoritzades/
- González L., i Carvajal J. (1994). Parásitos en los cultivos marinos de salmónidos en el sur de Chile. *Investigación Pesquera*, 38, 87-96
- Granado, C. (2002). *Ecología de peces*. Recuperat de https://books.google.es/books?id=D-HD4RurY8wC&pg=PA183&lpg=PA183&dq=indice+de+condicon+en+peces&source=bl&ots=PppS8ntQgm&sig=AOcoZqg9yzEDB10Vvj56qLtTPuw&hl=ca&sa=X&ved=0ahUKEwiH_d_FtLMAhWKCB0KHfCoDZoQ6AEIMDAC#v=onepage&q=indice%20de%20condicon%20en%20peces&f=false
- Gutiérrez-Galindo, J., Osanz-Mur, A., i Mora-Ventura, M.T. (2010). Occurrence and infection dynamics of anisakid larvae in *Scomber scombrus*, *Trachurus trachurus*, *Sardina pilchardus*, and *Engraulis encrasicolus* from Tarragona (NE Spain). *Food Control*, 21(11), 1550-1555. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.03.019
- Huidobro, A., Pastor, A., López-Caballero, ME., i Tejada M. (2001) Washing effect on Quality Index Method (QIM) developed for gilthead seabream (*Sparus aurata*). *European Food Research and Technology*, 212(4), 408-412. Recuperat de <http://link.springer.com/article/10.1007/s002170000243>
- James, A.G. (1988). Are clupeid microphagists herbivorous or omnivorous? A review of the diets of some commercially important clupeids. *South African Journal of Marine Science*, 7(1), 161-177. doi: 10.2989/025776188784379017

- Køie, M. (1993). Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology*, 71(7), 1289-1296. doi: 10.1139/z93-178
- Le Cren, E.B. (1951). The Length-Weight Relationships and Seasonal Cycle in Gonad Weight and Condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology*, 20(2), 201-219
- Lloret, J., Ferrer, D., Font, T., Pedro-Botet, J., Nadal, M., Bartra, J., i Demestre, M. (2015). *Salut i peix: beneficis i riscos*. Recuperat de <http://salutipeix.udg.edu/ca/inici.html>
- Lorenzo, S. (2000). *Anisakis y Alergia*. Recuperat de <https://books.google.es/books?id=X9UkbHsTyP4C&pg=PA44&dq=anisakis&hl=ca&sa=X&ved=0ahUKEwiDkPzoyrjNAhWJvBQKHZvwDUAQ6AEIHjAA#v=onepage&q=anisakis&f=false>
- Lozano, F. (1979). *Ictiología del Mar Menor (Murcia): los fisotomos*. Recuperat de <https://books.google.es/books?id=NThU7veNuSAC&pg=PA33&dq=sardina+pilchardus&hl=ca&sa=X&ved=0ahUKEwizyL2uwZjMAhVHtBQKHTaBA78Q6AEIHjAB#v=onepage&q=sardina%20pilchardus&f=false>
- Malagón Martínez, David. *Evolución de la actividad proteasa y de la fijación de CO₂ durante el desarrollo in vitro de Hysterothylacium aduncum (Nematoda: Anisakidae), parásito de peces [en línea]*. Granada: Universidad de Granada. Departamento de Parasitología, 2007 <http://adrastea.ugr.es/record=b1724447~S3*spi> [Consulta: 28 de maig 2016]
- Martinsdóttir, E., Seveinsdóttir, K., Luten, J., Schelvis-Smit, R., i Hyldig G. (2001). *QIM: La herramienta ideal para la determinación de la frescura y la calidad del pescado*. (1a edició). Islandia: QIM Eurofish.
- Méndez- Villamil, M., Lorenzo, J.M.^a, González, J.M., i Soto, R. (1997). Periodo reproductor y madurez sexual de la sardina *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1972) en agua de Gran Canaria (islas Canarias). *Boletín Instituto Español Oceanografía*, 13(1 i 2), 47-55
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2013). *El mercado de la sardina*. Recuperat de: <http://www.magrama.gob.es/es/pesca/temas/mercados-economia-pesquera/02 INFORME SARDINA JUNIO 2013 tcm7-329610.pdf>
- Mustác, B., i Sinovcic. G. (2010). Reproduction, length-weight relationship and condition of sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), in the eastern Middle Adriatic Sea (Croatia). *Periodicum Biologorum*, 112(2), 133-138
- Navone, G.T., Sardella, N.H., i Timi, J.T. (1998). Larvae and adults of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda: Anisakidae) in fishes and crustaceans in

- the South West Atlantic. *Parasite*, 5(2), 127-136. doi: [10.1051/parasite/1998052127](https://doi.org/10.1051/parasite/1998052127)
- Nikolioudakis, N., Isari, S., Pitta, P., i Somarakis, S. (2012) Diet of sardine *Sardina pilchardus*: an “end-to-end” filed study. *Marine Ecology Progress Series*, 453, 173-188. doi: 10.3354/meps09656
- Organització de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2016). *Perfiles sobre la pesca y la acuicultura por países*. Recuperat de <http://www.fao.org/fishery/facp/ESP/es>
- Reiczigel, J., i Rózsa, L. (2010). *A brief guide to Quantitative Parasitology 3.0*. Recuperat de <http://www.zoologia.hu/qp/BRIEFGUIDE3.pdf>
- Reiczigel, J., Rozsa, L., Reiczigel, A., i Fabian, I. (2013) *Quantitative Parasitology (QPweb)*. Recuperat de <http://www2.univet.hu/gpweb/>
- Rello, F.J., Adroher, F.J., i Valero, A. (2008). *Hysterothylacium aduncum*, the only anisakid parasite of sardines (*Sardina pilchardus*) from the southern and eastern coasts of Spain. *Parasitology Research*, 104(1), 117-121. doi: 10.1007/s00436-008-1168-0
- Rovira, M. (10 d'abril del 2016). El pescado azul no engorda: los pescadores sufren la pérdida de valor de unas capturas cada vez más magras. *El País*. Recuperat de http://ccaa.elpais.com/ccaa/2016/04/09/catalunya/1460221132_874002.html?id_externo_rsoc=TW_CC
- Sansa, S. (6 d'abril del 2016). El negro futuro del pescado azul: La sobreexplotación y el cambio climático amenaza a la sardina. *La Vanguardia*. Recuperat de <http://www.lavanguardia.com/vida/natural/20160506/401592856898/sardina-peligro-sobreexplotacion-cambio-climatico.html>
- Sant'Ana, L.S., Soares, SM., i Vaz-Pires, P. (2011) Development of Quality Index Method (QIM) sensory sheme and study of shelf-lfe of ice.stored blackspot seabream (*Pagellus bogaravero*). *LWT-Food Science and Technology*, 44(10), 2253-2259. doi: [doi:10.1016/j.lwt.2011.07.004](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.004)
- Svensdottir, K., Martinsdottir, E., Hyldig, G., Jorgensen, B., i Kristbergsoon, K. (2002) Application of Quality Index Method (QIM) Sheme in Shelf-life Study of Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Journal of Food and Science*, 67(4), 1570-1579 doi: 10.1111/j.1365-2621.2002.tb10324.x
- Triqui, R., i Bouchriti, N. (2003). Freshness Assessments of Moroccan Sardine (*Sardine pilchardus*): Comparasion of Overall Sensory Changes to Instrumentally Determined Volatiles, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7540-7546. doi: 10.1021/jf0348166

- Valero A., Díaz V., i Adroher, FJ. (2004) Anisákidos parásitos de peces Comerciales del Mediterráneo Andaluz. *Revista del Colegio Oficial de Biólogos de Andalucía*, 1, 10-11. Recuperat de https://www.researchgate.net/publication/235709253_Anisakidos_parasitos_de_peces_comerciales_del_Mediterraneo_andaluz
- Whitehead, P.J.P (1985). Clupeoid fishes of the world: An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. *FAO Species Catalogue*, 7(1), 1-303. Recuperat de www.fao.org/docrep/009/ac482e/ac482e00.htm
- Yagi , K., Nagasawa, K., Ishikura, H., Nagasawa, A., Sato, N., Kikuchi, K., Ishikura, H. (1996). Female worm *Hysterothylacium aduncum* exceted from human: a case report. *Japanese Journal of J Parasitology*, 45(1), 12-23