

## **Evolució de les reserves energètiques de la sardina al llarg del període de posta**

---

Estudiant: Oriol Moreno Estrada

Grau en: Biologia

Correu electrònic: u1911393@campus.udg.edu

Tutor: Marta Muñoz Frigola

Cotutor\*:

Empresa / institució: Universitat de Girona

Vistiplau tutor (i cotutor\*):

Nom del tutor: Marta Muñoz Frigola

Nom del cotutor\*:

Empresa / institució: Universitat de Girona

Correu(s) electrònic(s): marta.munyo@udg.edu

\*si hi ha un cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació:

## Resum

La sardina Europea, *Sardina pilchardus*, és una espècie que es troba en el Mediterrani, entre altres àrees geogràfiques. Rep una forta pressió pesquera degut a que és una de les espècies de peix blau més valorades des d'un punt de vista econòmic, ja que és un gran recurs pesquer. A més, es considera una espècie clau en l'ecosistema, de manera que és important conèixer en quin estat es troba. Un dels paràmetres indicadors sobre el seu estat és la condició física, que podem conèixer a partir de varis índex que es relacionen amb les reserves energètiques o contingut de lípids de què disposa l'individu. Les reserves són utilitzades com a energia durant el període de posta, fet que relaciona aquests índex amb la capacitat reproductiva dels individus. Els utilitzats en l'estudi són el factor de condició de Le Cren (Kn), l'índex de greix mesentèric (MFI) i l'índex gonadosomàtic (GSI). Per altra banda s'ha estimat el contingut de greix en la musculatura i greix total mitjançant el fatmeter, un aparell que proporciona molts avantatges respecte els mètodes tradicionals. Els objectius de l'estudi han estat determinar l'evolució d'aquests paràmetres al llarg del període de posta i segons l'estadi de maduració gonadal i analitzar les característiques a tenir en compte en l'ús del l'aparell. L'estudi s'ha dut a terme mitjançant l'anàlisi de 369 exemplars capturats en diferents punts de la Costa Brava al llarg del període de posta, posteriorment congelats. Les anàlisis estadístiques realitzades s'han basat en la realització de diferents ANOVA per tal de determinar si hi havia diferències dels paràmetres al llarg del període de posta i segons l'estadi de maduració gonadal. Per determinar la fiabilitat de l'ús del fatmeter s'ha realitzar un test de correlació entre S2 i S1+MFI i, finalment per determinar si les mesures de l'aparell eren coherents entre sí, s'ha realitzat un test t de dades aparellades. Els resultats confirmen la fiabilitat del fatmeter donada la forta correlació entre S2 i S1+MFI. Els resultats demostren que hi ha diferències estadísticament significatives dels diferents índex tant al llarg del període de posta com en els diferents estadis de maduració gonadal. D'aquesta manera s'ha determinat que la despesa energètica associada a la reproducció de les femelles (on la inversió és major) aprofita les reserves mesentèriques durant el desenvolupament de les gònades i, al final del procés de vitel·logènesi, utilitzen les reserves de la musculatura.

## **Resumen**

La sardina europea, *Sardina pilchardus*, es una especie que se encuentra en el Mediterráneo, entre otras áreas geográficas. Recibe una fuerte presión pesquera al ser una de las especies de pescado azul más valoradas desde el punto de vista económico. Además, se considera una especie clave en el ecosistema, de manera que es importante conocer en qué estado se encuentra. La condición física es un indicador del estado de las poblaciones la cual podemos conocer a partir de índices que se relacionan con las reservas energéticas o contenido de lípidos del individuo. En el período de puesta utilizan estas reservas como energía, hecho que relaciona estos índices con la capacidad reproductiva de los individuos. Los índices utilizados en el estudio son el factor de condición de Le Cren (Kn), el índice de grasa mesentérica (MFI) y el índice gonadosomático (GSI). Por otro lado, se ha estimado el contenido de grasa en la musculatura y la grasa total mediante el fatmeter, un aparato que proporciona muchas ventajas respecto los métodos tradicionales. Los objetivos del estudio han sido determinar la evolución de dichos parámetros a lo largo del período de puesta y según el estadio de maduración gonadal y analizar las características a tener en cuenta en el uso del aparato. El estudio se ha llevado a cabo mediante el análisis de 369 ejemplares capturados en distintos puntos de la Costa Brava a lo largo de todo el período de puesta, posteriormente congelados. Los análisis estadísticos realizados se han basado en la realización de diferentes ANOVA para determinar si había diferencias de los parámetros a lo largo del período de puesta y según el estadio de maduración gonadal. Para determinar la fiabilidad del uso del fatmeter se ha realizado un test de correlación entre S2 y S1+MFI y, finalmente, para determinar si las mediciones del aparato eran coherentes entre sí, se ha realizado un test t para datos apareados. Los resultados confirman la fiabilidad del aparato dada la fuerte correlación entre S2 y S1+MFI y determinan que existen diferencias estadísticamente significativas de los distintos índices, tanto a lo largo del período de puesta como en los diferentes estados de maduración gonadal. De este modo se ha determinado que el consumo energético está asociado a la reproducción de las hembras (donde la inversión es mayor) aprovecha las reservas mesentéricas durante el desarrollo de las gónadas y, al final del proceso de vitelogenesis, utilizan las reservas de la musculatura.

## **Abstract**

The European sardine, *Sardina pilchardus*, is in the Mediterranean Sea, among other geographic areas. It receives strong fishing pressure because it is one of the most valued blue fish species, since it is a great fishing resource. In addition, it is considered a key species in the ecosystem, so it is important to know in what state it is. One of the parameters that indicates their state is the physical condition that we can know from indices that are related to the energy reserves or lipid content available to the individual. The reserves are used as energy during the spawning period, which relates these indices to the reproductive capacity of individuals. The indices used in the study are the condition factor of Le Cren ( $K_n$ ), the mesenteric fat index (MFI) and the gonadosomatic index (GSI). On the other hand, the fat content of muscles and total fat has been estimated using the fatmeter, a device that provides many advantages over traditional methods. The objectives of the study were to determine the evolution of these parameters throughout the spawning period and according to the stage of gonadal development and analyse the characteristics to be taken into account in the use of the fatmeter. The study was carried out by analysing 369 specimens captured in different locations of the Costa Brava throughout the spawning period, later they have been frozen. The statistical analyses carried out were based on the realization of different ANOVA in order to determine if there were differences in the parameters throughout the spawning period and according to the stage of gonadal development. To determine the reliability of the use of fatmeter, a correlation test between S2 and S1 + MFI was performed, and finally to determine if the measurements of the device were consistent with each other, a paired data t test was performed. The results confirm the reliability of fatmeter given the strong correlation between S2 and S1 + MFI. The results show that there are statistically significant differences in the different rates throughout the spawning period as well as in the different stages of gonadal development. In this way, it has been determined that the energy expenditure associated with the reproduction of females (where the investment is greater) takes advantage of the mesenteric reserves during the development of gonads and, at the end of the vitellogenesis process, they use the musculature reserves.

# Índex

<b>1. Introducció</b> .....	1
<b>2. Objectives</b> .....	2
<b>3. Material i mètodes</b> .....	2
<b>4. Resultats</b> .....	6
4.1. Anàlisi de la coherència en els resultats del fatmeter S1 i S2.....	8
4.2. Índex de condició de Le Cren (Kn) .....	8
4.3. Índex de greix mesentèric (MFI) .....	12
4.4 Percentatge de greix en la musculatura (Fatmeter S1) .....	15
4.5 Percentatge de greix total (Fatmeter S2) .....	19
4.6 Evolució de la condició, GSI i les reserves al llarg del període de posta.....	22
4.7 Relació entre l'estimació del greix total (S2) del fatmeter vs. el greix total (greix de la musculatura (S1) + MFI). .....	24
<b>5. Discussió</b> .....	26
5.1 Ètica i sostenibilitat .....	27
<b>6. Conclusion</b> .....	27
<b>7. Bibliografia</b> .....	28

# 1. Introducció

La sardina Europea, *Sardina pilchardus*, es distribueix a les costes de l'Atlàntic Nord, el Mar del Nord fins a Senegal i també es troba al Mediterrani on és abundant a les costes occidentals del Magreb i al Golf de Lleó i a l'Adriàtic central (Parrish et al., 1989). És una espècie clau per l'ecosistema degut al paper que desenvolupa com a espècie farratgera (Cury et al. 2000), representant un aliment important per a molts depredadors marins i una de les espècies de peix blau més valorades, des d'un punt de vista més econòmic, per la seva importància com a recurs pesquer. És molt explotada en el Mediterrani (FAO 2018), essent una de les dues espècies (juntament amb l'anxova) més capturades per la nostra flota d'encerclament. Les captures anuals de sardina a la Subàrea Mediterrània GSA 6 han disminuït en les últimes dècades, arribant el 2009 a 7900 t en comparació amb les més de 50.000 t de la dècada dels 90 (STECF 2015). Aquest organisme considera que l'estoc està sobreexplotat i l'últim informe de la FAO (2018) considera que la seva situació és alarmant i ressalta la necessitat d'analitzar-ne els motius al Mediterrani Oest. Dins dels factors que semblen afectar les poblacions de *Sardina pilchardus* hi ha els canvis ambientals (com els relacionats amb el canvi climàtic) i la sobrepesca, essent aquest últim el que sembla tenir un efecte més perjudicial.

Les citades pressions han propiciat que la sardina del Mediterrani presenti uns volums de captura decreixents i que hagi disminuït la seva talla mitjana, edat i condició (Van Beveren et al. 2014), paràmetres que poden afectar a la reproducció accelerant la seva maduresa sexual i provocant canvis en el potencial reproductor de les poblacions. Al Golf de Lleó hi ha evidències que indiquen que la talla de maduració sexual està disminuint (Brosset et al., 2016), és a dir, que els individus comencen a reproduir-se abans. La fecunditat està directament relacionada amb la talla, de manera que aquest avançament afecta negativament la capacitat reproductiva de la població i la seva capacitat d'afrontar les diferents pressions que pateix.

Un dels paràmetres indicadors sobre l'estat de les poblacions és la condició física dels individus (Bolger & Connolly 1989; Goede & Barton 1990; Brown & Murphy 2004; Lloret et al. 2014) existint diferents índex sobre condició que reflecteixen la salut de l'individu. Aquests índex de condició es relacionen amb les reserves energètiques o contingut de lípids de què disposa l'individu (Ryan W. Schloesser & Mary C. Fabrizio et. al. 2017). En el cas de la sardina aquestes reserves energètiques les acumulen al llarg de l'any a les vísceres i a la musculatura per utilitzar-les en el període de posta, que va de desembre a març. La condició no només és útil per avaluar la salut dels individus, sinó que també ho és per valorar les conseqüències sobre la productivitat de les poblacions explotades ja que està directament relacionat amb la seva capacitat reproductiva. *Sardina pilchardus* es comporta com un "capital breeder" (Ganias et al. 2007), és a dir que emmagatzema reserves per a poder-les utilitzar en el moment de la reproducció, essent especialment rellevant la seva alta capacitat per acumular reserves energètiques en el múscul i el mesenterí. En canvi, el fetge no és un òrgan que utilitzin de forma significativa per acumular-hi reserves energètiques, per aquest cas no es tindrà en compte l'índex hepatosomàtic (HSI) en l'estudi.

El contingut de greix en els teixits es pot analitzar mitjançant el *Fish Fatmeter*. Aquest aparell estima el contingut de lípids a partir d'una mesura indirecte, ja que detecta el contingut d'aigua dels teixits, el qual presenta una relació inversa al seu contingut lipídic (Craig et al., 1978; Simat & Bogdanović, 2012). El fatmeter utilitza un sensor de microcinta que és sensible la contingut d'aigua de la mostra. Amb les dades de calibratge emmagatzemades converteix la resposta del sensor en un percentatge de contingut de greix. Aquest calibratge és específic i es va realitzar

utilitzant grans quantitats nombroses d'individus de cadascuna de les espècies per a les que existeix el calibratge, entre les quals es troba *Sardina pilchardus*, i posant-los en relació amb les mesures directes del contingut lipídic en teixits. Els principis del mètode es van definir després d'anys d'investigació i desenvolupament dut a terme per la Estació d'Investigació Torry (TRS) del ministeri d'Agricultura, pesca i Alimentació (MAAF) del Regne Unit a Aberdeen, Escòcia.

Diversos estudis científics han demostrat una forta correlació entre les mesures mitjançant el fatmeter i les mesures de mètodes tradicionals (Bayse et al. 2018). Ha estat provat amb diverses espècies com salmònids (*Salmo salar* L. 1758; *Oncorhynchus* spp.), *Clupea harengus* (L. 1758) (Davidson & Marshall, 2010; McPherson et al., 2010), *Anguilla anguilla* (L. 1758; Klefoth et al., 2013), anxova i la sardina (Brosset et al., 2015). Per aquestes dues últimes espècies pelàgiques, doncs, l'aparell, dona unes mesures ràpides i precises del contingut de lípids. A més, el dispositiu electrònic proporciona més avantatges ja que és fàcil d'utilitzar, és molt més econòmic que els mètodes analítics directes utilitzats fins ara, és portàtil, molt resistent i ràpid per realitzar les mesures, fet que permet mantenir a l'individu viu o intacte mentre es fa l'anàlisi (Brosset et al. 2015). Tot això permet incrementar el nombre de mostres analitzades comparat amb mètodes tradicionals (Bayse et al. 2018). Un altre avantatge és que les mesures del fatmeter no es veuen afectades per la congelació dels exemplars, almenys fins a un mes a partir de la seva obtenció, tal i com s'ha comprovat en l'anxova i la sardina (Brosset et al. 2015).

## 2. Objectives

The objectives of this study are to determine the evolution of the energy reserves of the sardine during its spawning period based on the analysis of the condition index of Le Cren, the total lipid content and muscle lipid content, the amount of stored mesenteric fat and the gonadosomatic index. At the same time, I also decided analysing the characteristics to be considered on the use of the Fish Fatmeter for the study of lipid content in the sardine.

## 3. Material i mètodes

S'ha analitzat un total de 369 exemplars de *Sardina pilchardus* capturats en diferents ports de la Costa Brava al llarg de tot el període de posta (del mes de desembre al mes d'abril). Les mostres s'han congelat a -20° fins al moment del seu processat. S'han mantingut convenientment tapades per evitar que quedessin deshidratades per un costat durant la descongelació i evitar així mesures alterades.

Per tal d'estimar el **percentatge de greix total** (S2) i **en musculatura** (S1) s'ha utilitzat el Distell Fish Fatmeter. L'aparell té un petit sensor en un dels extrems el qual realitza les mesures i el seu error és de  $\pm 2\%$ . Cada vegada que s'ha connectat l'aparell s'ha comprovat el seu calibratge mitjançant les dues mesures *de test value* proporcionades pel fabricant. Un cop seleccionat sardina 1 s'ha mesurat el percentatge de greix en la musculatura (S1) col·locant el sensor sobre la línia lateral de cada exemplar (figura 1) i s'han realitzat dues mesures per cada costat (a i b per un i c i d per l'altre costat). Per estimar el percentatge en greix total s'ha situat el 25% del sensor per sobre de l'eix longitudinal i el 75% per sota de l'eix (figura 1). La metodologia per tots

els exemplars ha sigut la mateixa on l'ordre de mesura ha estat primerament S1 seguit de S2 d'un costat i posteriorment, en el mateix orde, s'han pres les mesures de l'altre costat.

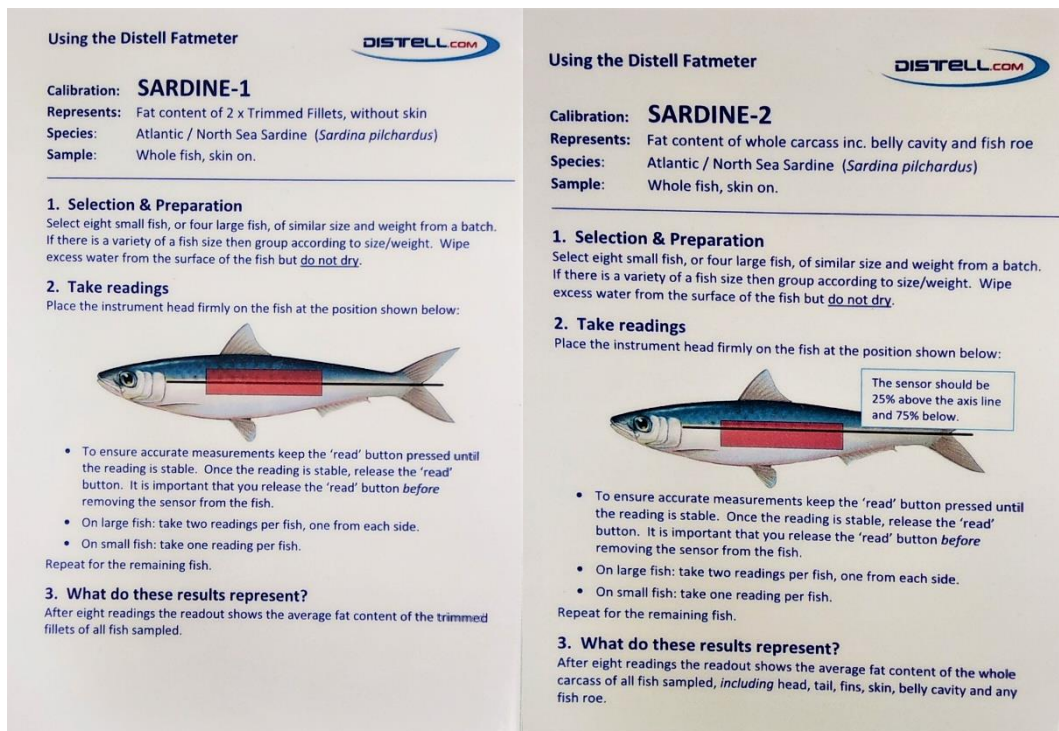


Figura 1. Instruccions d'ús del Distell Fatmeter per realitzar les mesures S1 i S2 respectivament on s'explica com s'ha de preparar la mostra i en quina posició s'ha de col·locar el sensor per dur a terme les mesures..

S'ha mesurat també la talla (TL) amb un ictiòmetre (mm) i el pes total (TW) amb una bàscula (precisió  $\pm 0,1g$ ). Un cop obtingudes aquestes mesures s'ha eviscerat cada individu i s'ha tornat a pesar, per tal d'obtenir el pes de l'animal eviscerat (EW)(el contingut estomacal podria sinó, introduir biaixos importants en el càlcul dels diferents índex).

S'ha determinat el sexe i l'estadi de maduració gonadal (MAT), tant per mascles com per femelles utilitzant els criteris descrits per Dominguez-Petit et al. (2017):

- **Immadur (Immature, I):** Ovaris i testicles petits i translúcids. Aquests individus encara no han arribat a la talla de maduració. No han entrat dins del cicle reproductiu.
- **Desenvolupament (Developing, D):** Els oòcits individuals no es distingeixen a simple vista (previtel·logènics o en inici de vitel·logènesi); els ovaris es veuen grogosos. En els mascles els testicles esdevenen més compactes i lleugerament blanquinosos.
- **Capaç de fer la posta (Spawning capable, SC):** El procés de vitel·logènesi avança. Els diferents oòcits es veuen a simple vista, a través de la paret. En mascles, l'esperma del conducte és visible clarament.
- **Posta activa (Actively spawning, AS):** En les femelles es distingeixen clarament oòcits hidratats, que són transparents. En els mascles l'esperma surt per simple pressió de l'abdomen. Es pot considerar com una subfase de SC.



- Regressió o post posta (Regressing, RS): Ovaris i testicles es troben buits. La paret de la gònada es presenta arrugada i flàccida.
- Regeneració (Regenerating, RG): Gònada molt petita, semblant a immadur i molt difícil de distingir macroscòpicament. Individus madurs però inactius en el moment de la captura.

La **quantitat de greix mesentèric (MSF)** emmagatzemat s'ha determinat seguint l'escala macroscòpica de Van der Lingen (2005):

1. Línies de greix invisibles molt fines i indistingibles.



Stage 1

2. Més profunditat que amplada que una o més línies de greix.



Stage 2

3. Línia de greix pilòric notablement més fina que les altres línies de greix i al voltant d'una tercera part del gruix de la unió pilòrica.



Stage 3

4. Més profunditat que amplada per totes les línies de greix però no hi lòbuls de greix presents.



Stage 4

5. Totes les línies estan una mica lobulades, però no hi ha superposició entre els lòbuls.



Stage 5

6. Els lòbuls en les línies de greix són obvis i hi ha algunes superposicions.



Stage 6

7. Les línies dels lòbuls són grans, molts solapaments i "fundulus" ben recobert de greix.



Stage 7

Tant el **pes de les gònades** (GSF) com el del **greix mesentèric** s'han obtingut mitjançant una bàscula de precisió (precisa 80 A – 200M). Amb totes les dades obtingudes s'han calculat diversos índex que es poden relacionar amb la condició dels individus.

- **Factor de condició de Le Cren (Kn)**

Aquest índex relaciona el pes observat amb el pes esperat en funció de la talla de l'individu, pel que informa sobre la condició de l'exemplar analitzat. W és el pes total, T és la talla, a i b són constants que descriuen la relació al·lomètrica per als exemplars en una població donada (Le Cren, 1951).

$$Kn = \frac{W}{aTL^b}$$

- **Índex de greix mesentèric (MFI)**

Indica el percentatge que representa el pes de greix emmagatzemat a la cavitat abdominal, al voltant de les vísceres, respecte el pes de l'animal una vegada és eviscerat (per evitar interferències en funció del contingut estomacal en el moment de la captura).

$$MFI = \frac{MFW}{EW} * 100$$

- **Índex gonadosomàtic (GSI)**

Indica el percentatge que representen les gònades respecte el pes eviscerat de cada individu (igualment per evitar interferències en funció del contingut estomacal en el moment de la captura).

$$GSI = \frac{GSI}{EW} * 100$$

Una vegada obtinguts totes les dades i índexs s'han realitzat proves estadístiques amb el programa R commander. En el cas de les variables numèriques (Kn, MFI, S1 i S2) vers un factor (mesos del període de posta i estadi de maduració gonadal) s'ha realitzat una ANOVA. Per tal de que es complissin els supòsits s'han transformat MFI, S1 i S2 (en tots els anàlisis) i Kn (en el total d'individus segons MAT) mitjançant logaritmes. Els supòsits han estat comprovats mitjançant gràfics de diagnòstic. S'ha realitzat un anàlisi post hoc de comparació de mitjanes (Tukey test) dos a dos per determinar quins mesos i estats de maduració (MAT) són estadísticament iguals entre sí.

En l'anàlisi del greix total (S2) vers el greix total (S1 + MFI) s'ha dut a terme un test de correlació de Pearson, comprovant que complís el supòsit pertinent.

En les mesures amb el fatmeter, per evitar errors de mesures degut a una mal procés de descongelació, s'ha realitzat un test-t de dades aparellades per tal de comprovar si hi havia diferències significatives entre les mesures de cada costat (ab vs. cd) i entre les dues mesures de cada costat (a vs. b i c vs. d) tant per S1 com per S2.

Finalment s'ha comprovat la fiabilitat del Fish Fatmeter comparant la mesura de S2 cd amb el total de reserves (MFI i S1) mitjançant un test de correlació. Amb aquest anàlisi estadístic es pretén comprovar si hi ha una relació entre les dues variables.

No s'ha tingut en compte l'estadi immadur (IM) per la realització dels gràfics i anàlisi dels diferents índex segons l'estadi de desenvolupament gonadal, ja que es tracta d'individus que encara no han arribat a la maduració sexual i que, per tant, no han entrat al cicle reproductor.

En els diferents anàlisi de MFI s'han eliminat els individus amb un valor 0 ja que ha estat impossible determinar el pes del greix mesentèric.

## 4. Resultats

En primer lloc s'ha determinat en quin estadi de desenvolupament gonadal es trobaven els exemplars analitzats, obtenint els següents resultats, classificats en els diferents mesos del període de posta. En els primers mesos del període de posta hi ha una representació dels estadis immadurs (IM) (només en femelles), en desenvolupament (D) i capaços de fer la posta (SC), que descendeix amb el pas dels mesos. Els individus que es troben en plena posta (AS) augmenten la seva presència fins assolir el seu màxim en el mes de febrer, disminuint posteriorment. Al final del període de posta els estadis de desenvolupament gonadal que predominen són els estats de regressió (RS) i regeneració (RG). En els primers mesos de posta ja es pot apreciar un petit percentatge d'individus que ja s'han reproduït (RS).

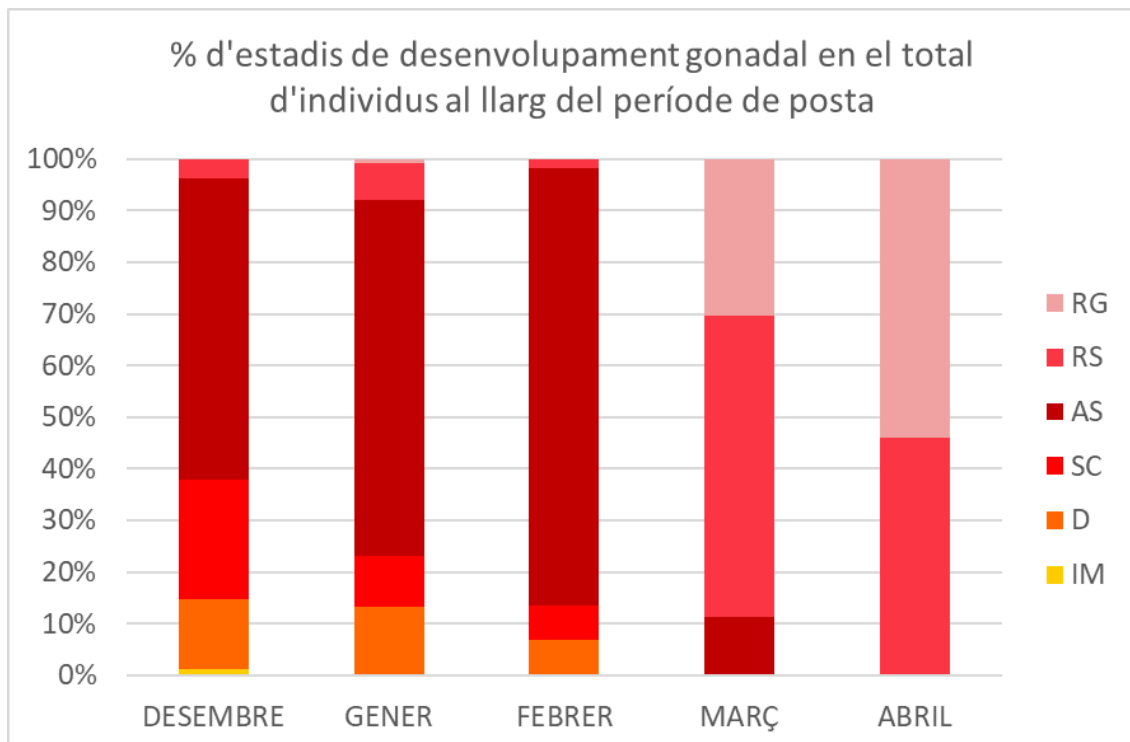


Figura 2. Percentatge dels estadis de maduració gonadal en cada mes del període de posta en el total d'individus.

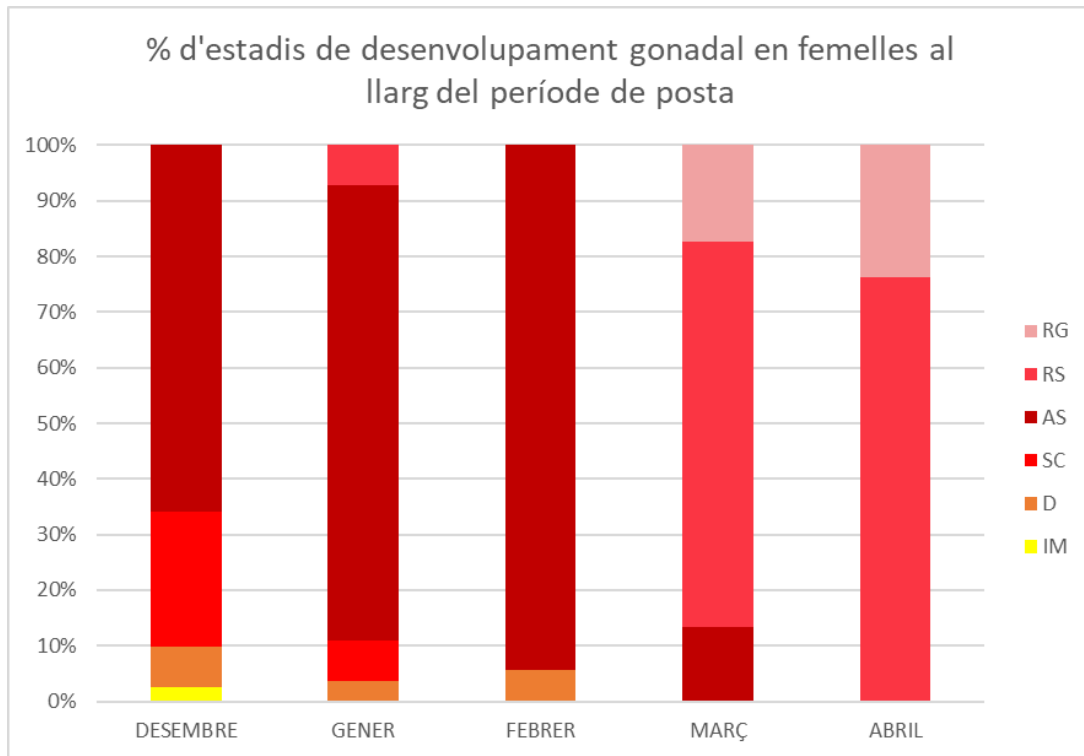


Figura 3 Percentatge dels estadis de maduració gonadal en cada mes del període de posta en femelles.

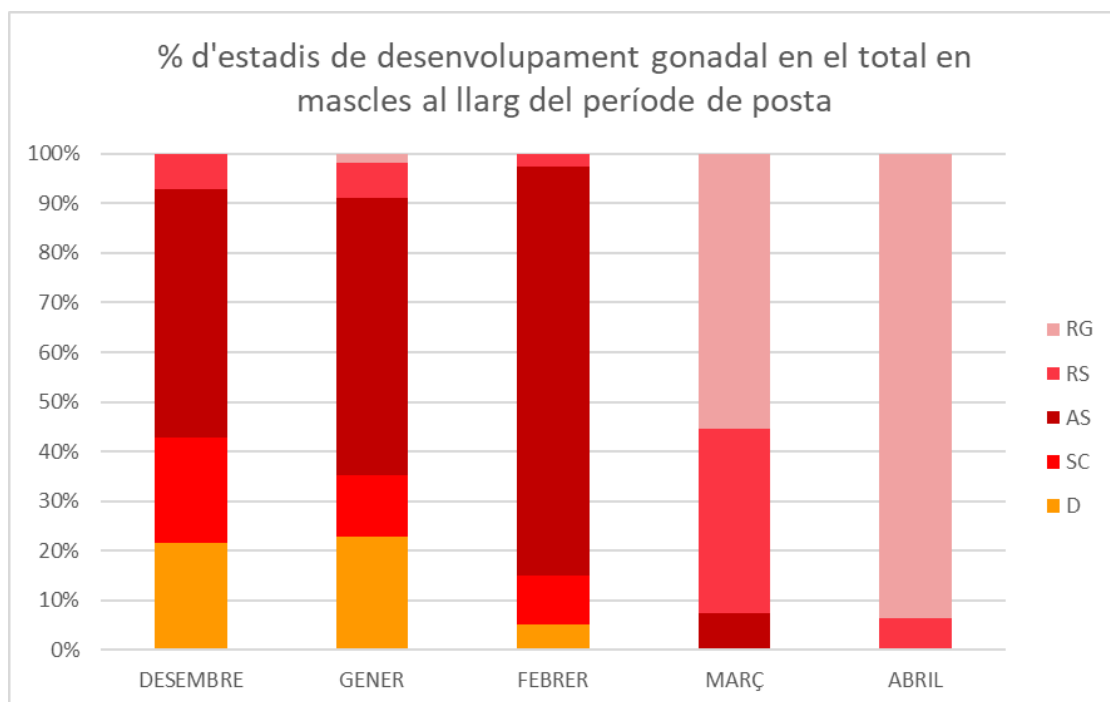


Figura 4. Percentatge dels estadis de maduració gonadal en cada mes del període de posta en mascles.

#### 4.1. Anàlisi de la coherència en els resultats del fatmeter S1 i S2

Mitjançant els anàlisis estadístics podem afirmar que totes les mesures S1 són estadísticament iguals mentre que en S2 hi ha diferències significatives entre un costat (ab) i l'altre (cd), tot i que les mesures de cada costat són estadísticament iguals entre sí.

	p-valor
S1 ab – S1 cd	<b>0.7501</b>
S1 a – S1 b	<b>0.4097</b>
S1 c – S1 d	<b>0.07522</b>
S2 ab – S2 cd	0.001452*
S2 a – S2 b	<b>0.9134</b>
S2 c - S2 d	<b>0.7229</b>

Taula 1. P-valor de les diferents interaccions entre les mesures del fatmeter. \*La interacció entre S2 ab i S2 cd mostra un p-valor inferior al 0'05, és a dir, hi ha diferències significatives entre les dues mostres.

En cada cas (Kn, S1, S2 i MFI) es mostren els resultats anàlisi post hoc de comparació de mitjanes dos a dos representats en lletres minúscules (a, b, c, d i e) sobre les desviacions de cada mitjana.

#### 4.2. Índex de condició de Le Cren (Kn)

Quan analitzem la condició mitjançant el factor Kn podem afirmar que hi ha diferències estadísticament significatives al llarg del període de posta i en els diferents estadis de maduració gonadal (Taula 2) tot i que hi hagi mesos o estadis de maduració estadísticament iguals entre ells. Per exemple, en la taula 6 hi ha una variació estadística en els diferents estadis de maduració gonadal, però D, SC i AS són estadísticament iguals, diferenciant-se únicament de RS i RG.

En referència al període de posta, la condició en femelles i en el total dels exemplars té el seu mínim en el mes de gener a diferència que els mascles, on el seu mínim es troba en el mes de febrer. A partir dels mesos on es troba el mínim, la condició millora arribant al seu màxim en el mes d'Abril.

Referent a l'estadi de maduració gonadal es detecta una millora de la condició quan els exemplars arriben a l'estadi de regressió (RS). Aquesta tendència s'observa tant en la població total com quan la separem en mascles i femelles.

Les constants que descriuen la relació al·lomètrica per als exemplars en una població donada a i b han estat calculades a partir dels 369 exemplars, essent  $a = 7,26821 \cdot 10^{-6}$  i  $b = 3,0035$ .

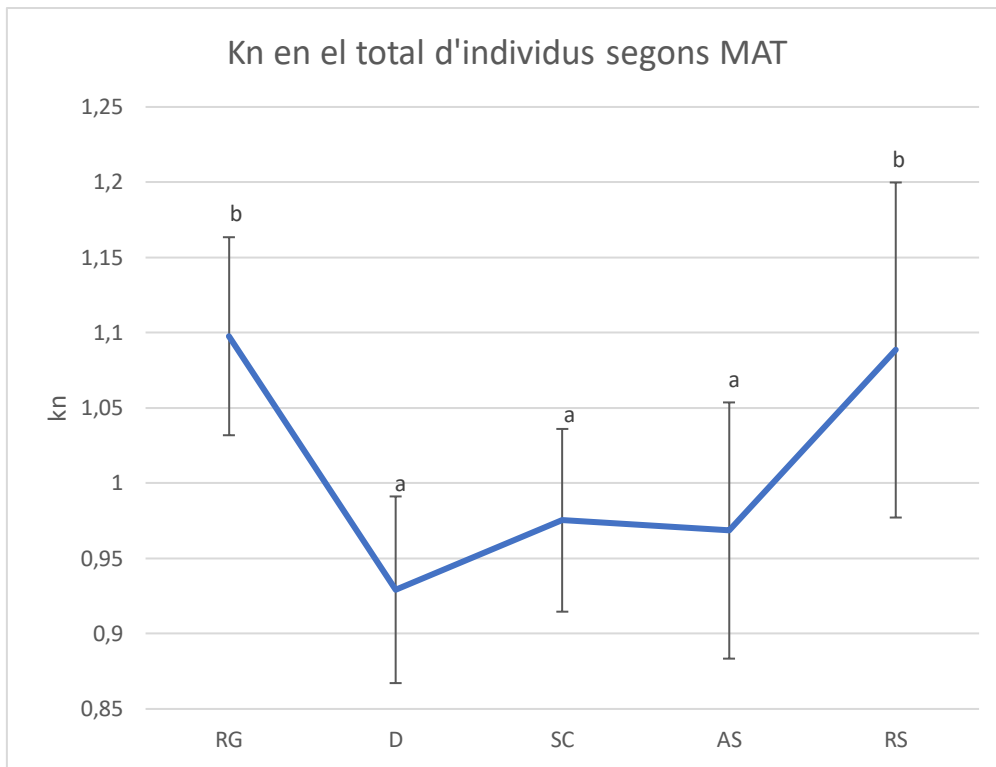


Figura 5. Representació de l'índex de condició Kn en el total d'individus segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) dels diferents estadis de maduració.

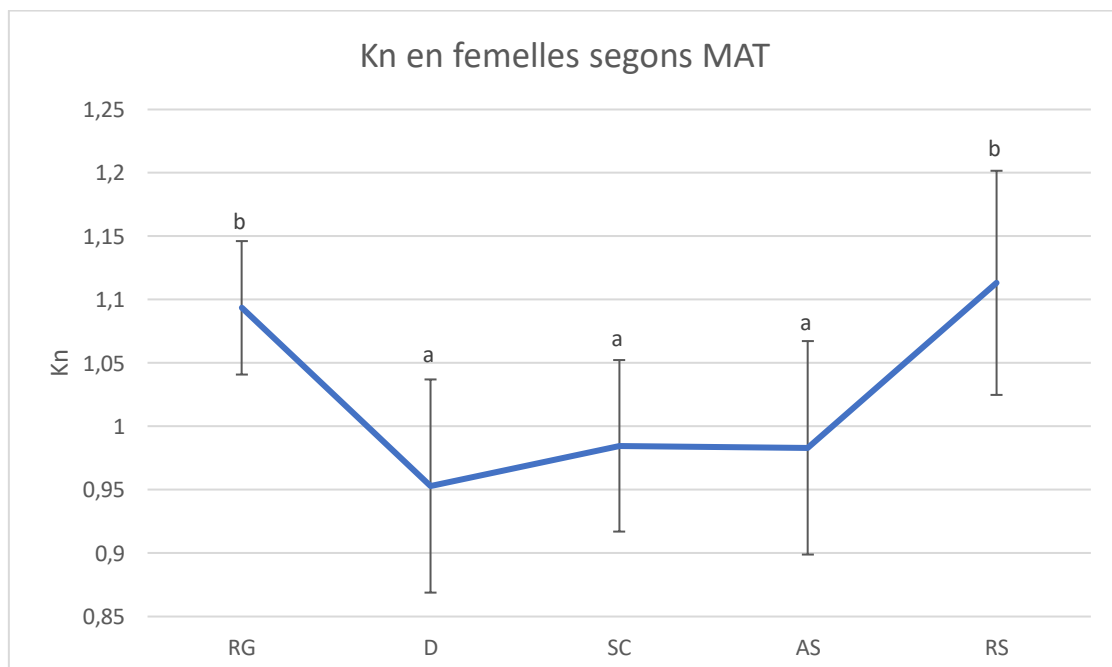


Figura 6. Representació de l'índex de condició Kn en femelles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) dels diferents estadis de maduració.

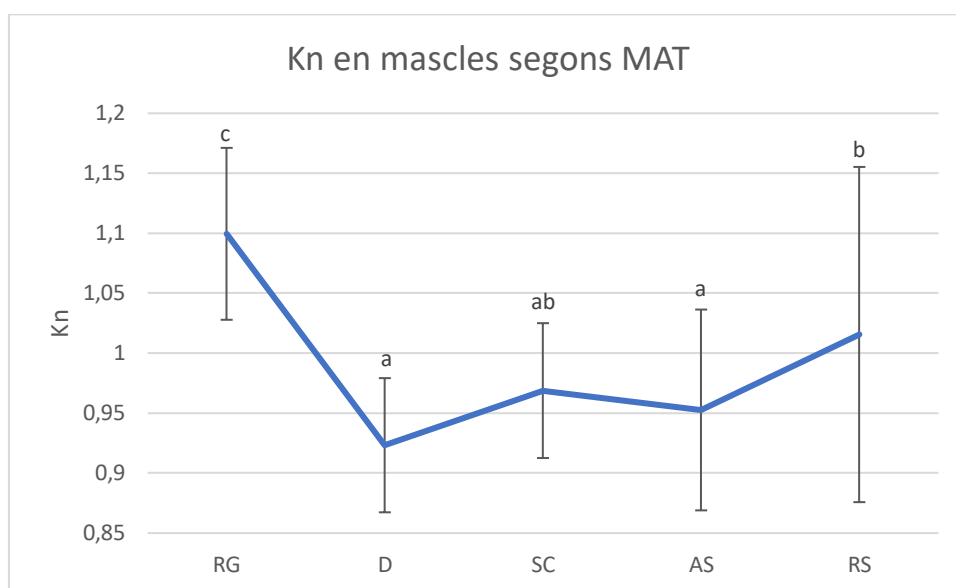


Figura 7. Representació de l'índex de condició Kn en mascles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) dels diferents estadis de maduració.

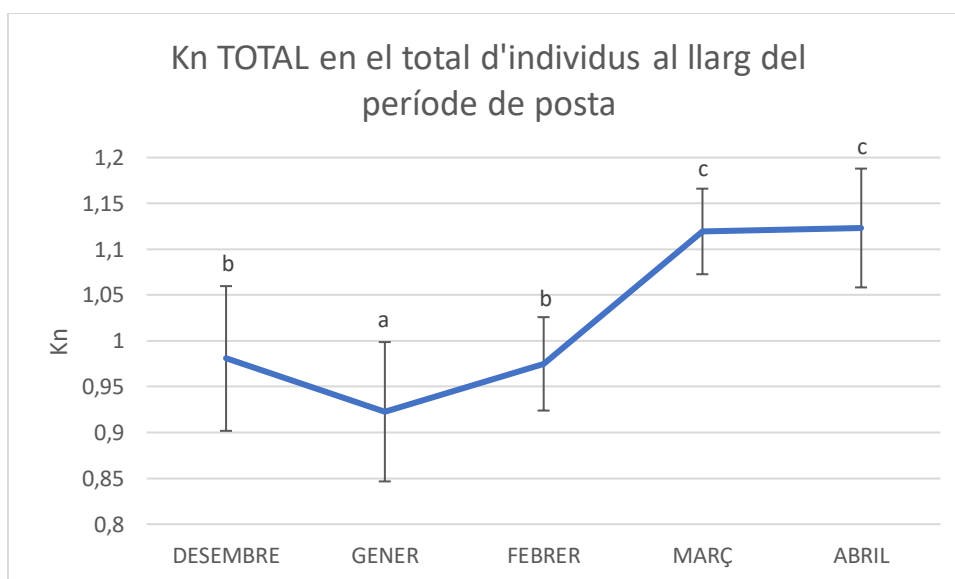


Figura 8. Representació de l'índex de condició Kn en el total d'individus al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada mes. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents mesos.

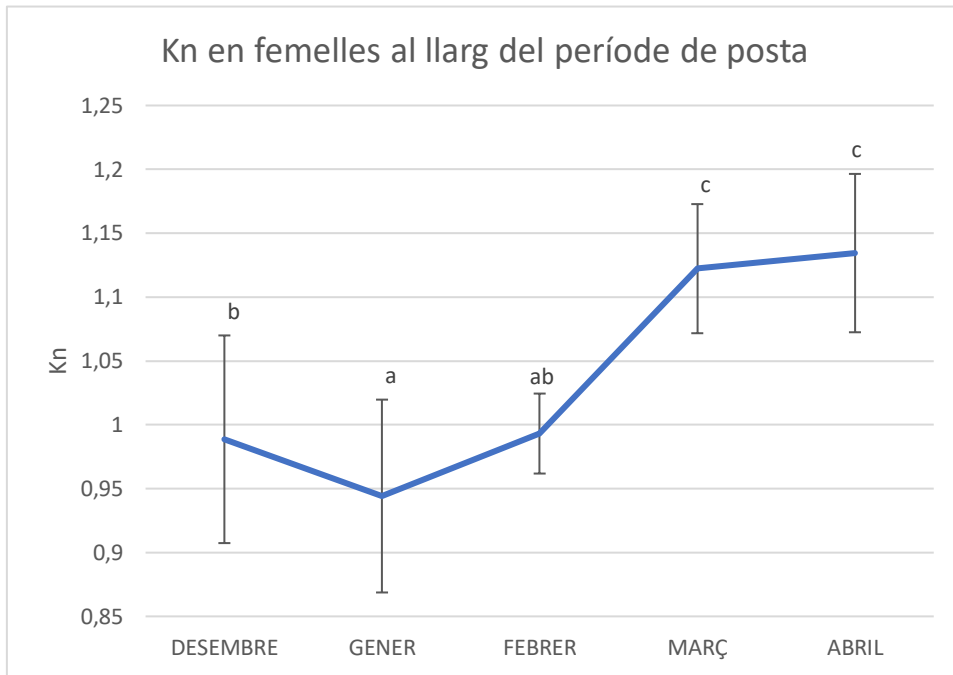


Figura 9. Representació de l'índex de condició Kn en femelles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada mes. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents mesos.

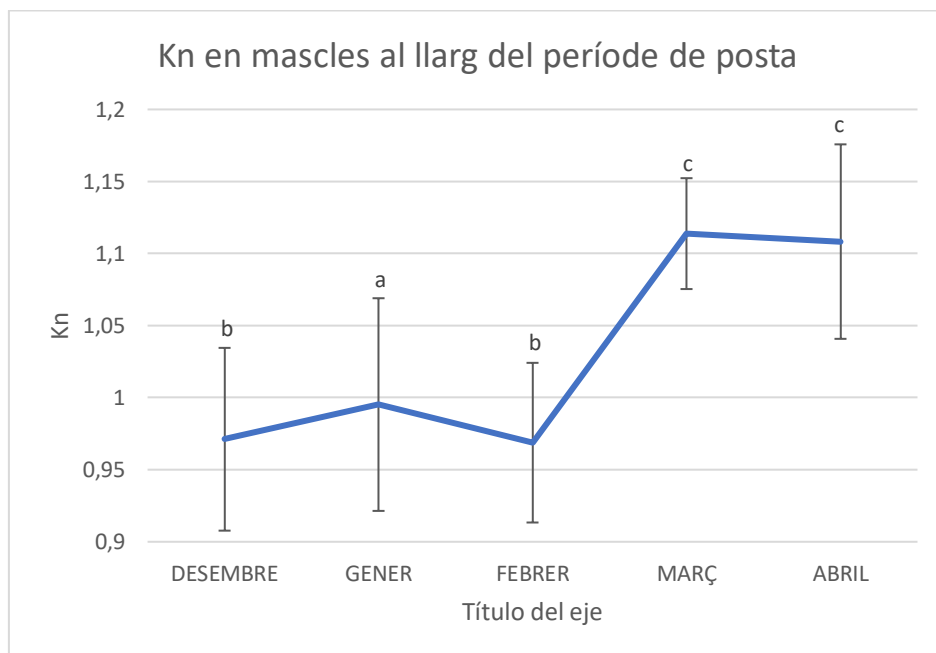


Figura 10. Representació de l'índex de condició Kn en mascles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada mes. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents mesos.



		P- valor
Kn en funció del període de posta	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$2 \cdot 10^{-16}$
Kn segons l'estadi de desenvolupament gonadal (MAT)	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$1'4 \cdot 10^{-14}$

Taula 2. P-valor de Kn en el total d'individus, mascles i femelles segons el període de posta i segons l'estadi de desenvolupament gonadal. Tots els p-valors confirmen que hi ha diferències significatives en cada cas.

### 4.3. Índex de greix mesentèric (MFI)

Es pot afirmar que l'índex de condició MFI presenta diferències estadísticament significatives tant al llarg del període de posta com en funció de l'estadi de desenvolupament gonadal (taula 3).

Referent al període de posta, el percentatge de greix mesentèric es troba en valors mínims entre desembre i febrer seguint una tendència de poca variació en aquests mesos (gener i febrer són estadísticament iguals). La tendència augmenta considerablement al final del període de posta tant en el total d'individus com separant mascles i femelles.

Segons l'estadi de desenvolupament gonadal, MFI disminueix a l'inici del període de posta, quan els individus es troben en l'estadi de desenvolupament (D) i tendeix a augmentar al final, quan els individus es troben en estadi de regressió (RS), mantenint-se igual en l'estat de regeneració (RG). En aquest cas la tendència és la mateixa en el total d'individus i separant mascles i femelles on s'aprecia que els estats D, SC i AS són estadísticament iguals.

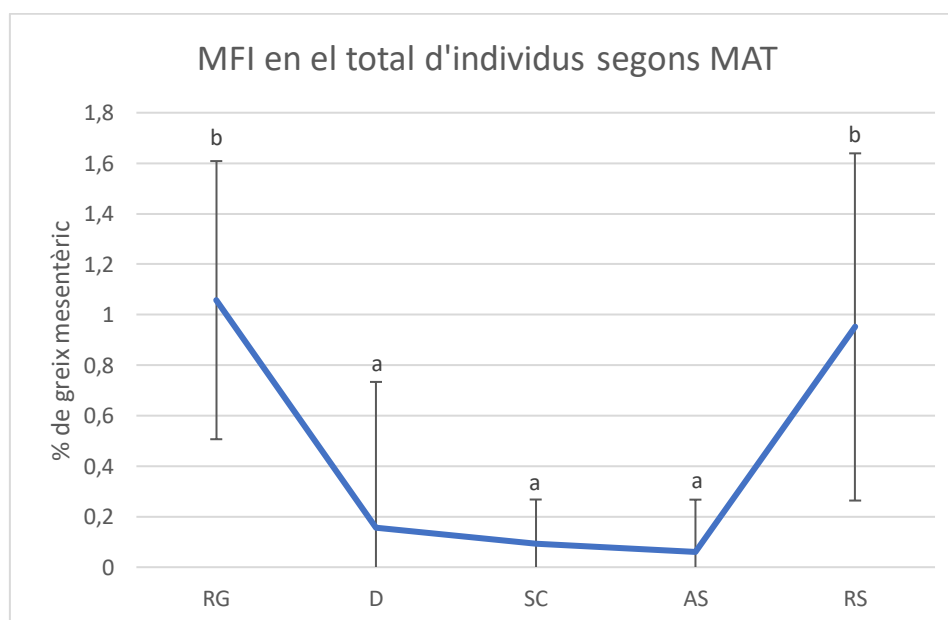


Figura 11. Representació de MFI en el total d'individus segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) dels diferents estadis de maduració.

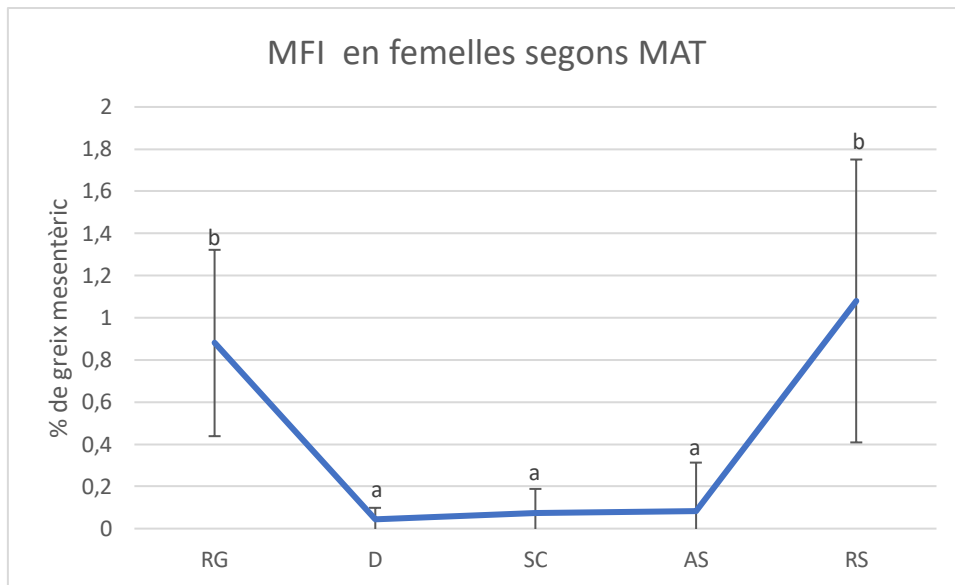


Figura 12 Representació de MFI en femelles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) dels diferents estadis de maduració.

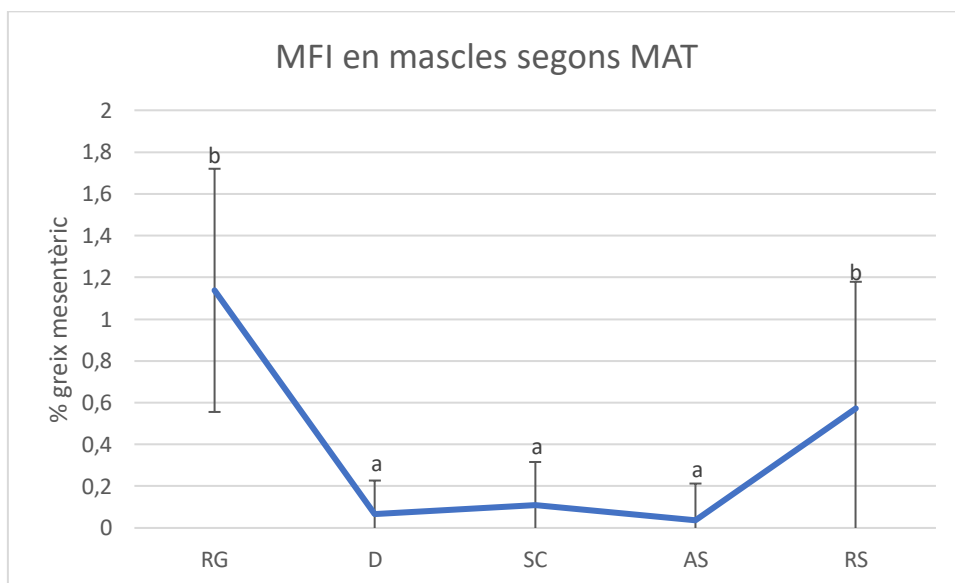


Figura 13. Representació de MFI en mascles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) dels diferents estadis de maduració.

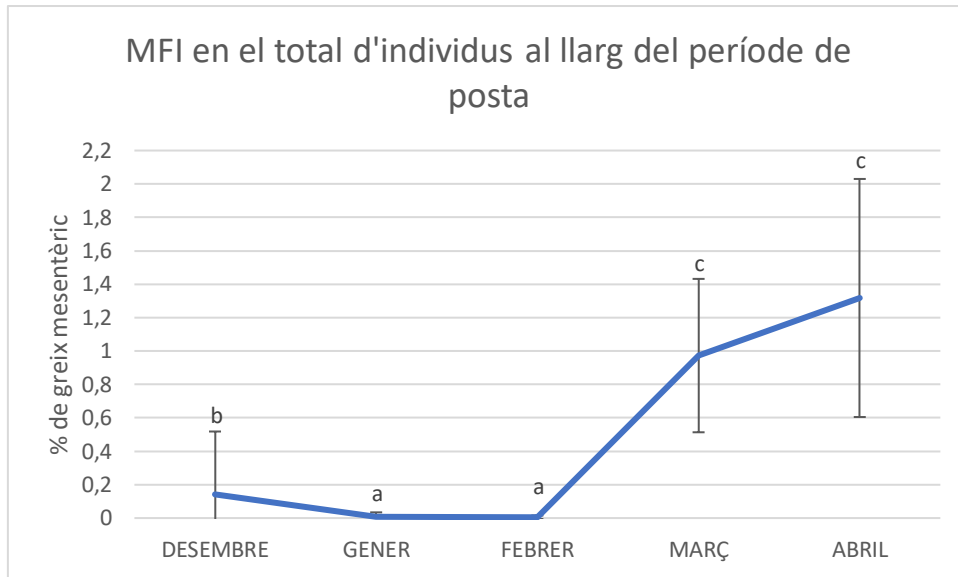


Figura 14. Representació de MFI en el total d'individus al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada mes. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents mesos.

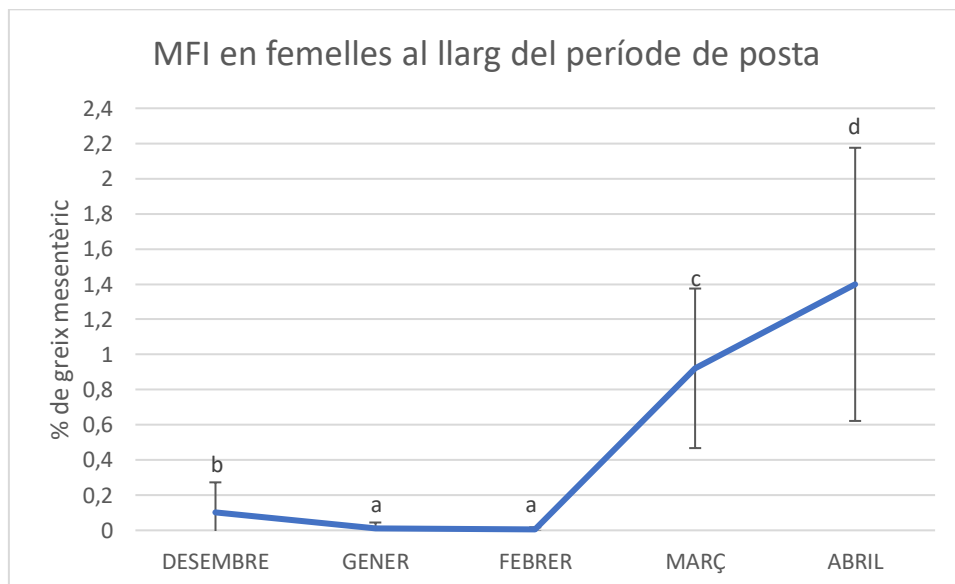


Figura 15. Representació de MFI en femelles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada mes. Es representa la igualtat estadística (a, b, c i d) entre els diferents mesos

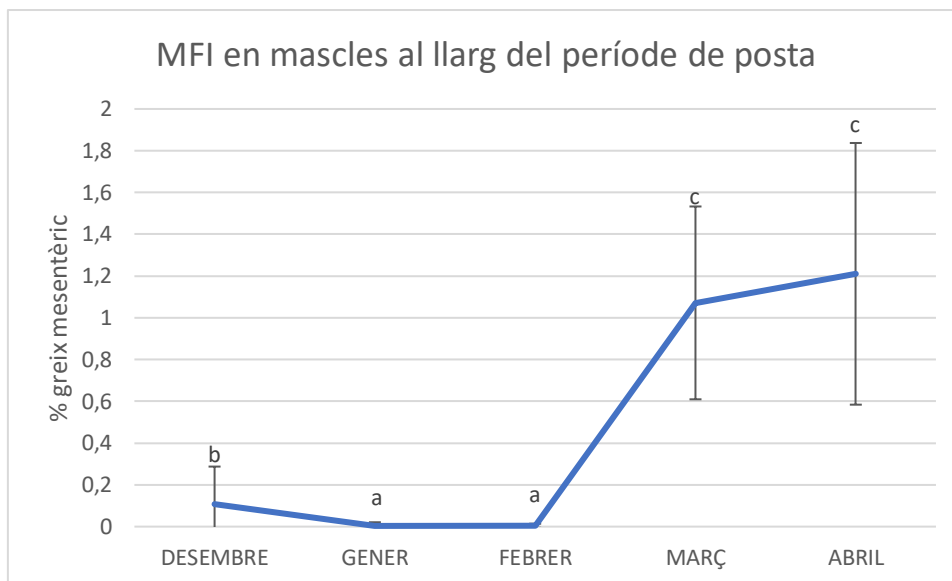


Figura 16. Representació de MFI en mascles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada mes. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents mesos.

		P- valor
MFI en funció del període de posta	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$2 \cdot 10^{-16}$
MFI segons l'estadi de desenvolupament gonadal (MAT)	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$1,7 \cdot 10^{-15}$

Taula 3. P-valor de MFI en el total d'individus, mascles i femelles segons el període de posta i segons l'estadi de desenvolupament gonadal. Tots els p-valors confirmen que hi ha diferències significatives en cada cas.

#### 4.4 Percentatge de greix en la musculatura (Fatmeter S1)

Quan analitzem el percentatge de greix en la musculatura (S1) estimat mitjançant el fatmeter, podem afirmar que presenta diferències estadísticament significatives (taula 4) tant en el període de posta com en l'estadi de desenvolupament gonadal.

Segons el període de posta la tendència disminueix des de l'inici fins al mes de febrer on, a partir d'aquest mes, augmenta considerablement fins al final del període de posta. La tendència es dona d'igual manera en el total d'individus i separant mascles i femelles.

En referència a l'estadi de desenvolupament gonadal la tendència és la mateixa en mascles i en el total d'individus però hi ha diferències en quant a les femelles.

En mascles i en el total dels individus el percentatge de greix en la musculatura augmenta en l'estadi SC respecte l'estadi D per tornar a disminuir en l'estadi AS.

En canvi, en les femelles la tendència és disminuir fins arribar a l'estadi de posta activa (AS). En els diferents casos la tendència augmenta després de la posta activa (AS)

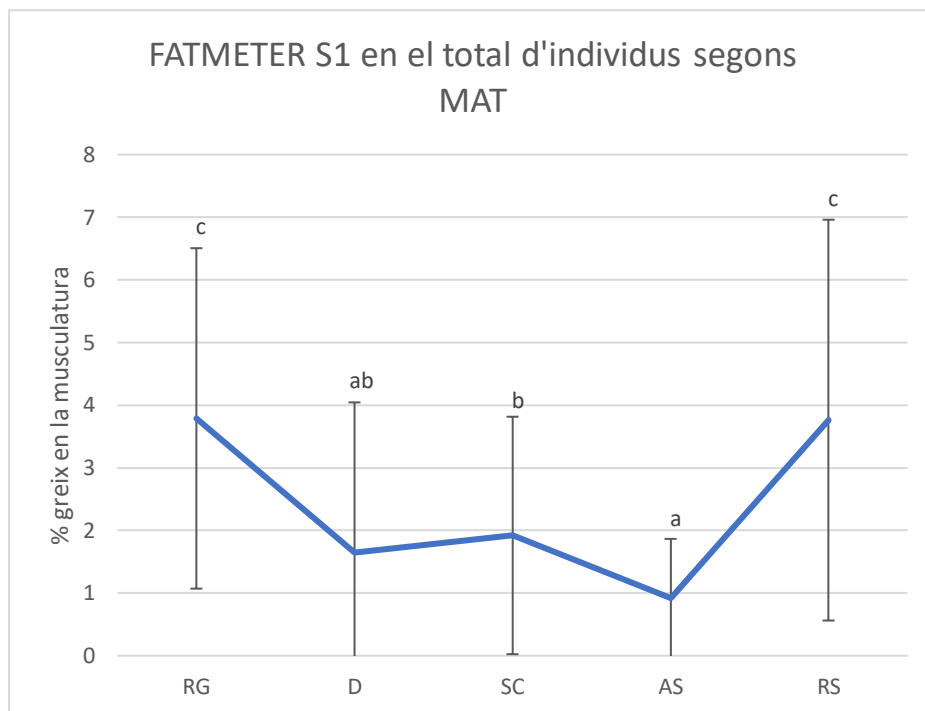


Figura 17. Representació del percentatge de greix en la musculatura (S1) en el total d'individus segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents estadis de maduració.

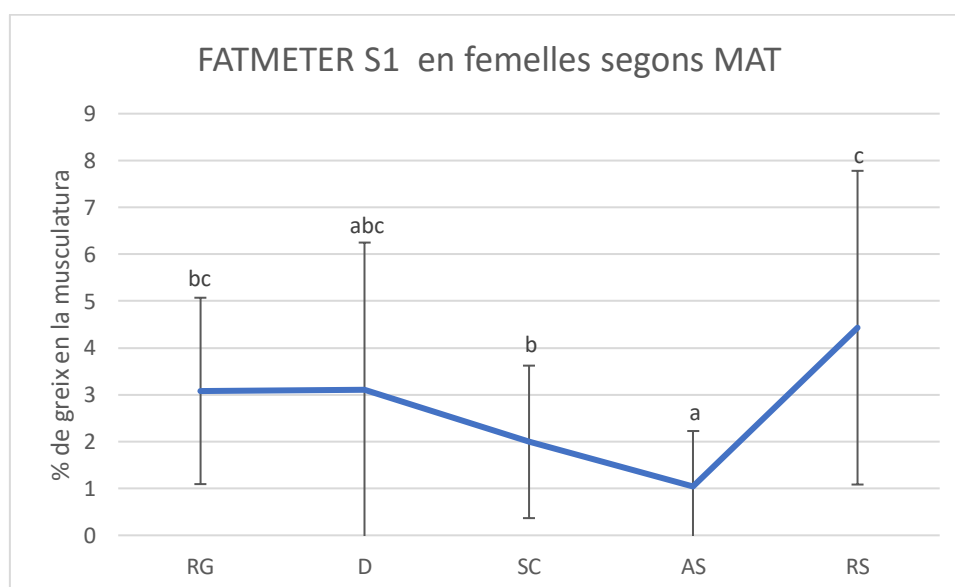


Figura 18. Representació del percentatge de greix en la musculatura (S1) en femelles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents estadis de maduració.

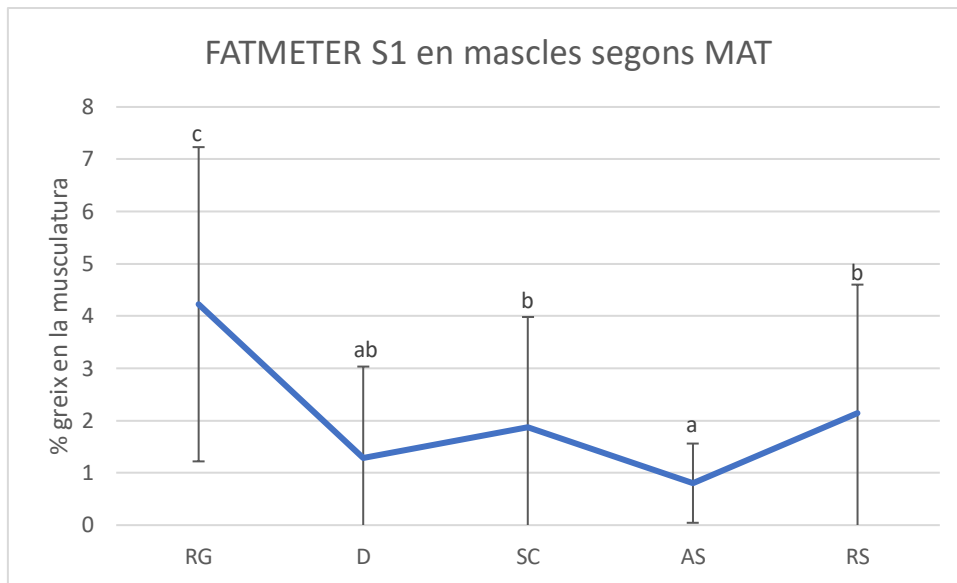


Figura 19. Representació del percentatge de greix en la musculatura (S1) en el total d'individus segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents estadis de maduració.

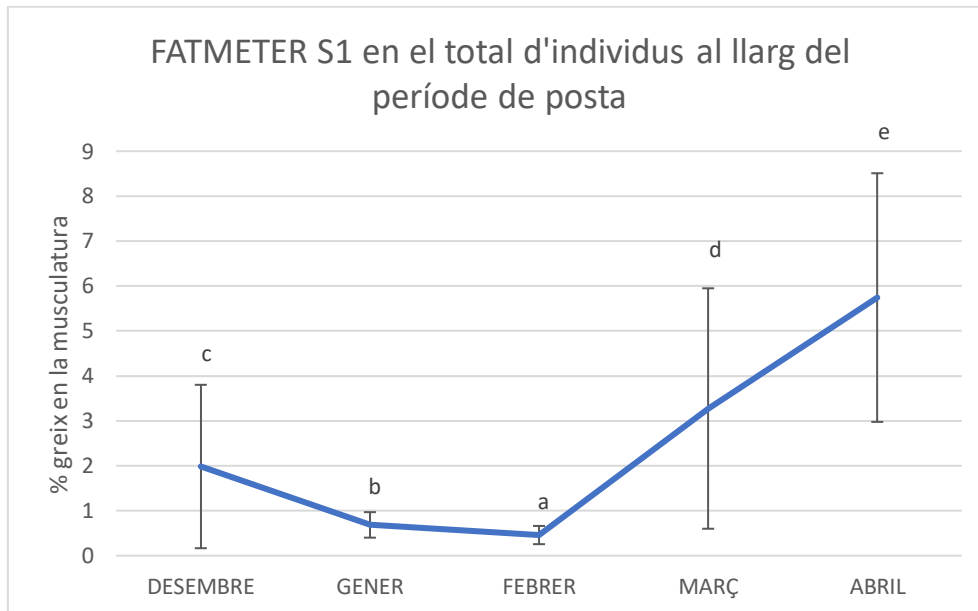


Figura 20. Representació del percentatge de greix en la musculatura (S1) en el total d'individus al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents mesos.

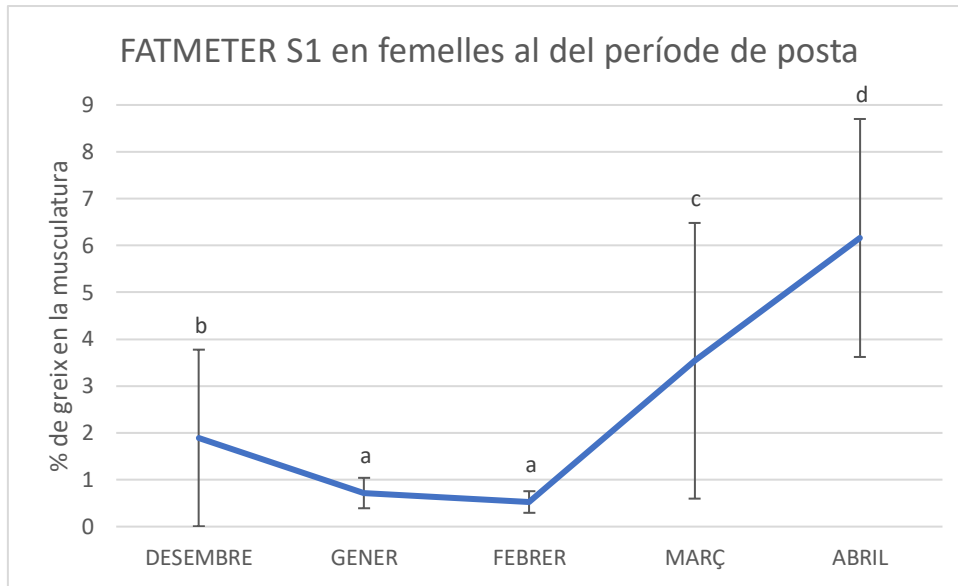


Figura 21. Representació del percentatge de greix en la musculatura (S1) en femelles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b, c i d) entre els diferents mesos.

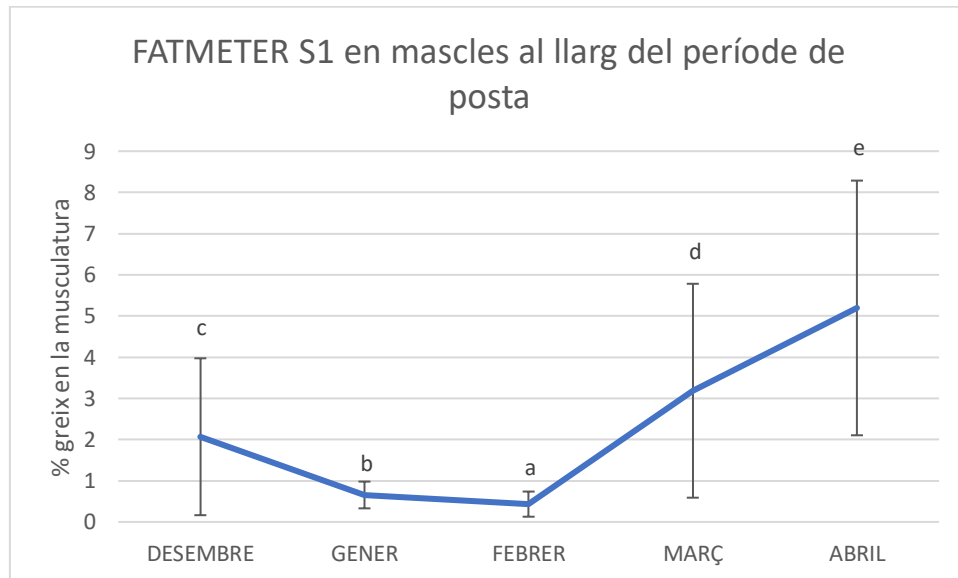


Figura 22. Representació del percentatge de greix en la musculatura (S1) en mascles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b, c, d i e) entre els diferents mesos.

		P- valor
Percentatge de greix en la musculatura (S1) en funció del període de posta	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$2 \cdot 10^{-16}$
Percentatge de greix en la musculatura (S1) segons l'estadi de desenvolupament gonadal (MAT)	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$2 \cdot 10^{-16}$

Taula 4. P-valor de S1 en el total d'individus, mascles i femelles segons el període de posta i segons l'estadi de desenvolupament gonadal. Tots els p-valors confirmen que hi ha diferències significatives en cada cas.

## 4.5 Percentatge de greix total (Fatmeter S2)

Una vegada analitzat el percentatge de greix total (S2, estimat mitjançant el fatmeter) podem afirmar que hi ha diferències estadísticament significatives respecte els diferents mesos del període de posta i respecte l'estadi de desenvolupament gonadal (taula 5).

Al llarg del període de posta, aquest percentatge disminueix en l'inici (desembre) i augmentant cap al final del període, tendència que segueix tant en el total d'individus com separant per sexes. Els mesos de gener i febrer no presenten variacions estadístiques.

Les tendències segons l'estadi de desenvolupament gonadal varien en funció del sexe.

En mascles hi ha un augment en l'estadi SC respecte D, on després disminueix en l'estadi de posta activa (AS), tendència que segueixen el total d'individus. Per altra banda, en femelles hi ha una disminució marcada del paràmetre fins arribar a un mínim en l'estadi de posta activa (AS), augmentant posteriorment.

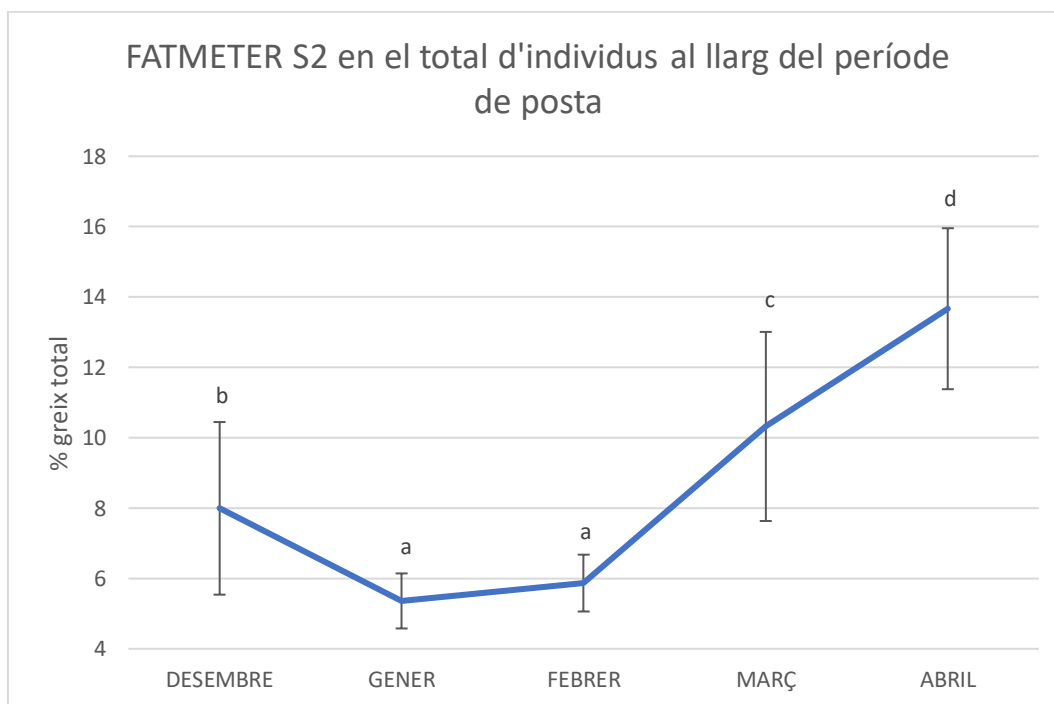


Figura 23. Representació del percentatge de greix total (S2) en el total d'individus al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b, c i d) entre els diferents mesos.



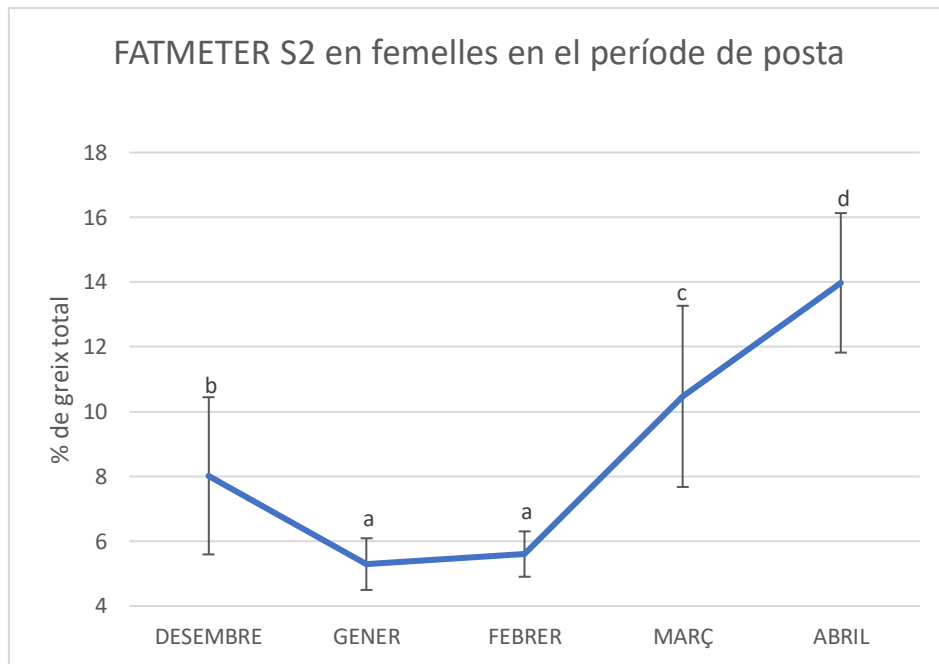


Figura 24. Representació del percentatge de greix total (S2) en femelles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b, c i d) entre els diferents mesos.

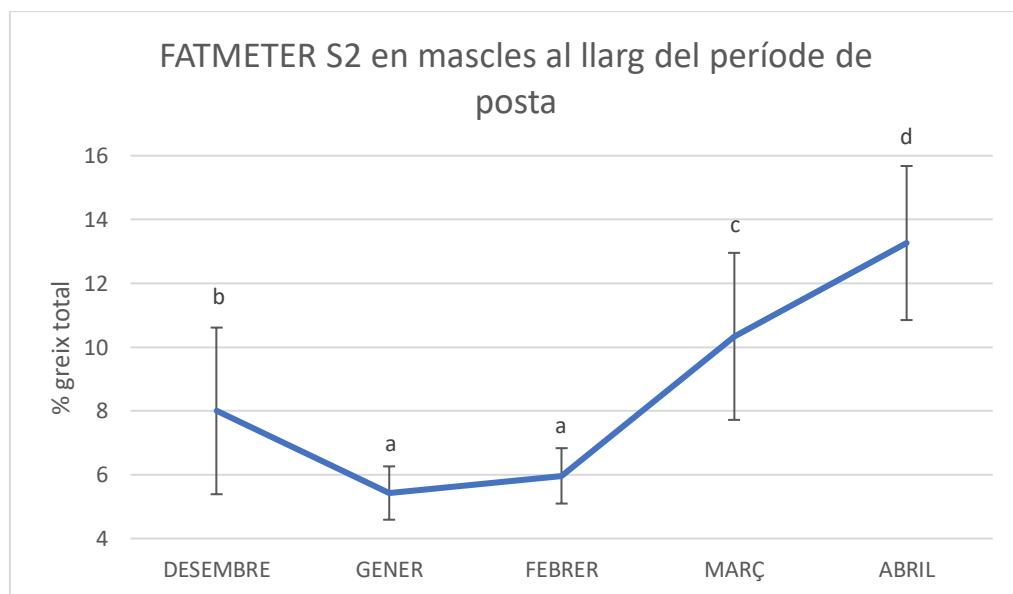


Figura 25. Representació del percentatge de greix total (S2) en mascles al llarg del període de posta amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b, c i d) entre els diferents mesos.

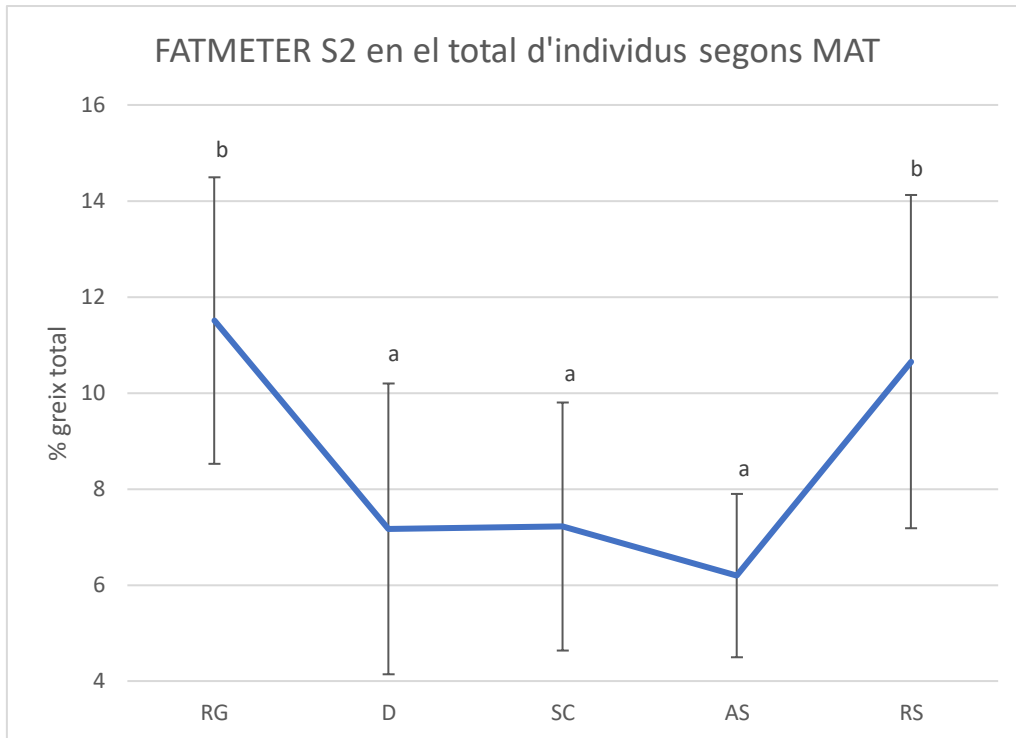


Figura 26. Representació del percentatge de greix total (S2) en el total d'individus segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) entre els diferents estadis de maduració.

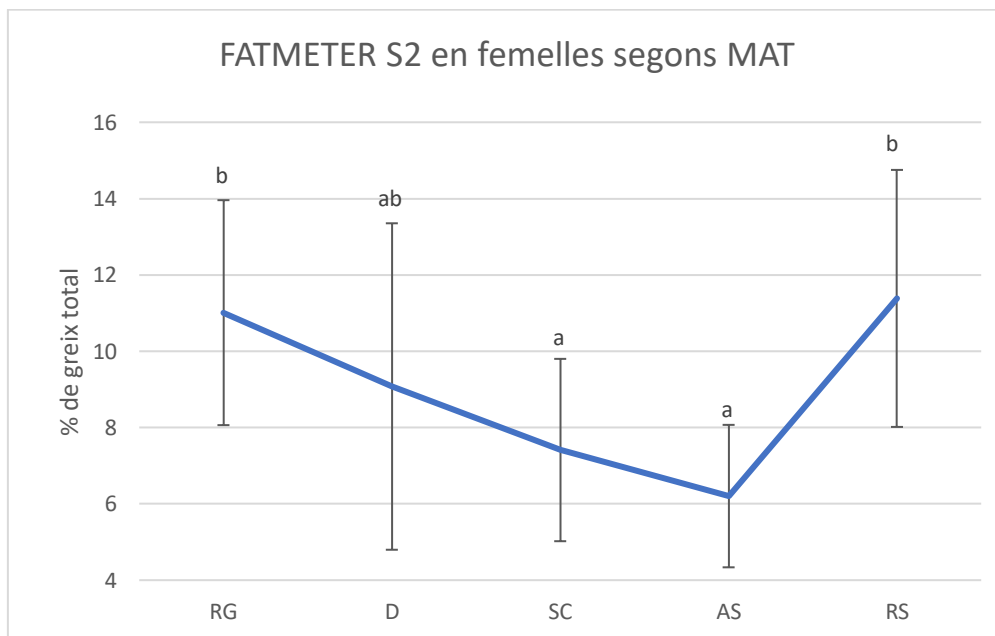


Figura 27. Representació del percentatge de greix total (S2) en femelles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a i b) entre els diferents estadis de maduració.

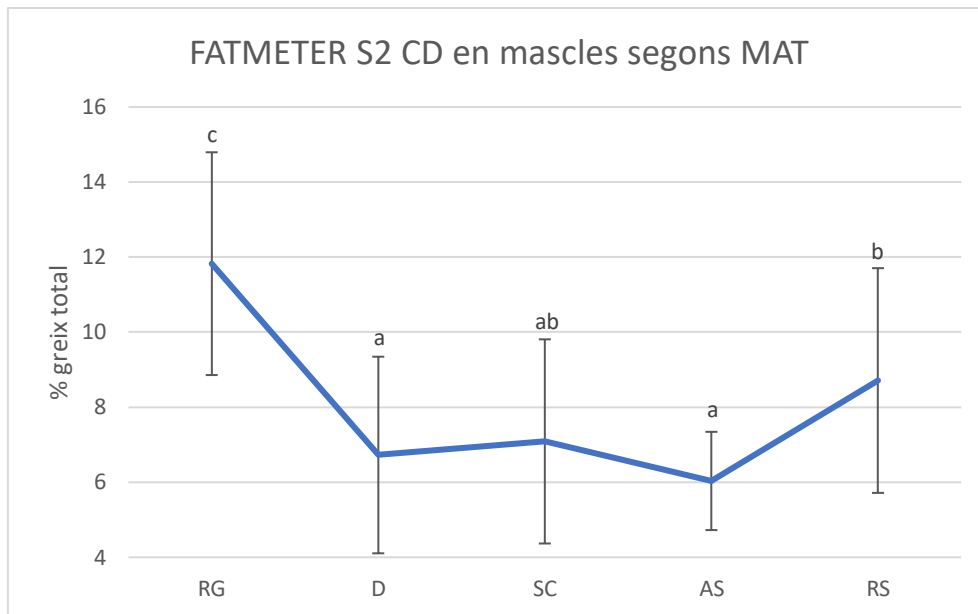


Figura 28. Representació del percentatge de greix total (S2) en mascles segons l'estadi de desenvolupament gonadal amb la desviació representada en cada estadi. Es representa la igualtat estadística (a, b i c) entre els diferents estadis de maduració.

		P-valor
Percentatge de greix total (S2) en funció del període de posta	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$2 \cdot 10^{-16}$
Percentatge de greix total (S2) segons l'estadi de desenvolupament gonadal (MAT)	Total d'individus	$2 \cdot 10^{-16}$
	Mascles	$2 \cdot 10^{-16}$
	Femelles	$2 \cdot 10^{-16}$

Taula 5. P-valor de S2 en el total d'individus, mascles i femelles segons el període de posta i segons l'estadi de desenvolupament gonadal. Tots els p-valors confirmen que hi ha diferències significatives en cada cas.

#### 4.6 Evolució de la condició i les reserves al llarg del període de posta

En la comparativa de la condició (Kn) i les reserves (percentatge de greix en musculatura (S1), percentatge de greix total (S2) i MFI) es pot apreciar l'evolució al llarg del període de posta. L'evolució del desenvolupament gonadal queda reflectit en l'índex gonadosomàtic (GSI) del qual s'aprecia una disminució molt marcada després del mes de febrer.

Els valors estimats pel fatmeter, S1 i S2 tenen una tendència similar, disminuint fins al febrer i gener respectivament i augmentant fins abril.

L'índex de greix mesentèric (MFI) i l'índex de condició Kn tenen una tendència similar.

En tots els casos es detecta una millora dels índex i estimacions a partir del mes de febrer i no s'aprecien diferències entre el total d'individus, en mascles i en femelles.

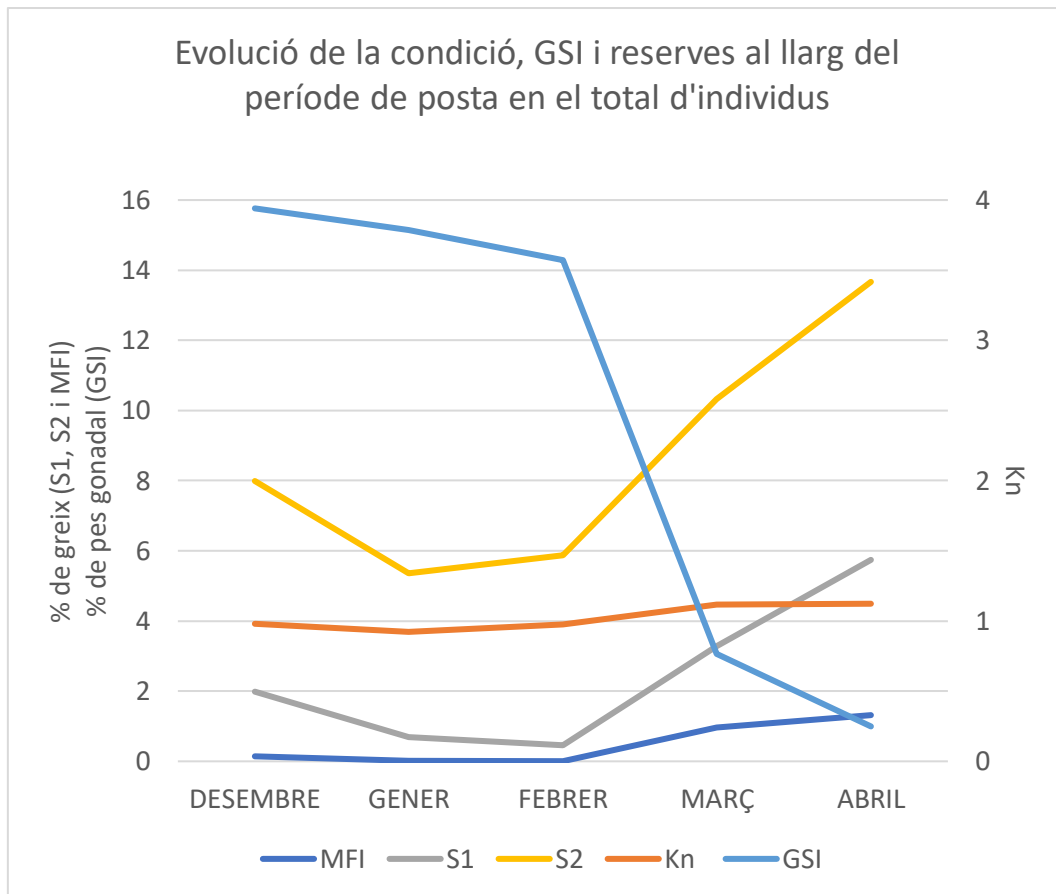


Figura 29. En la figura es veuen representats els diferents índex i mesures realitzades per el amb el fatmeter respecte el període de posta en el total d'individus. En l'eix secundari x queda representat Kn degut a que les unitats són diferents a la resta.

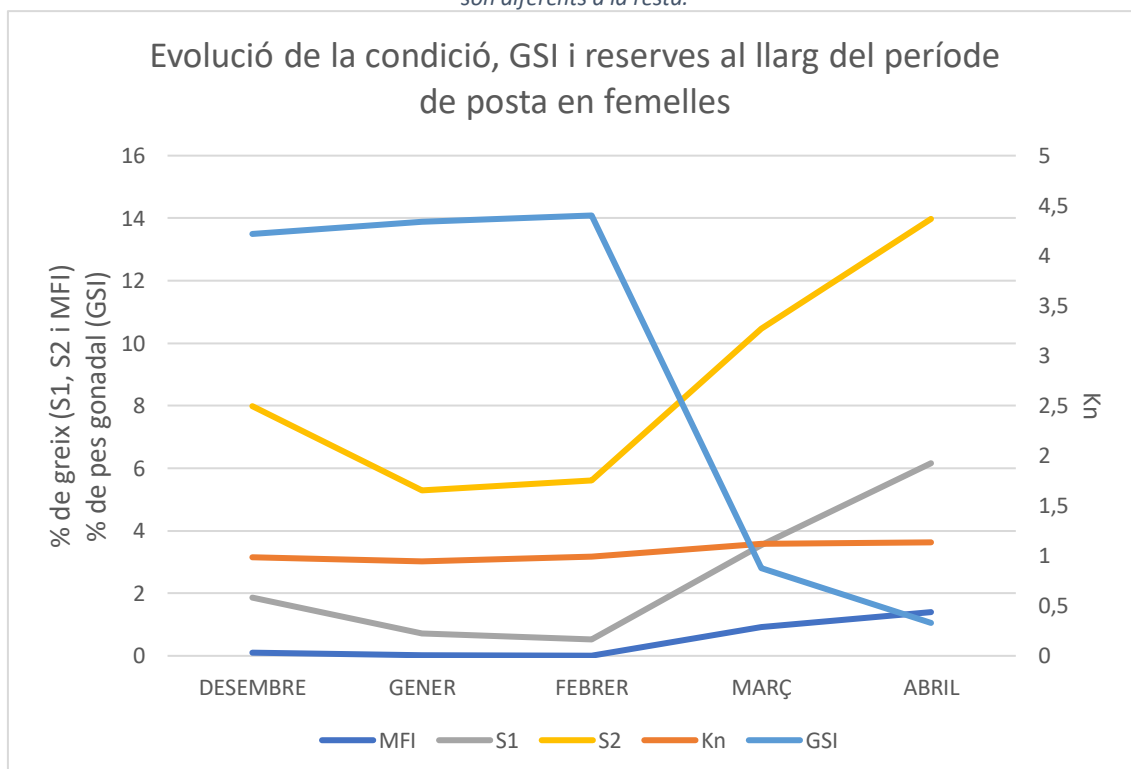


Figura 30. En la figura es veuen representats els diferents índex i mesures realitzades per el amb el fatmeter respecte el període de posta en femelles. En l'eix secundari x queda representat Kn degut a que les unitats són diferents a la resta.

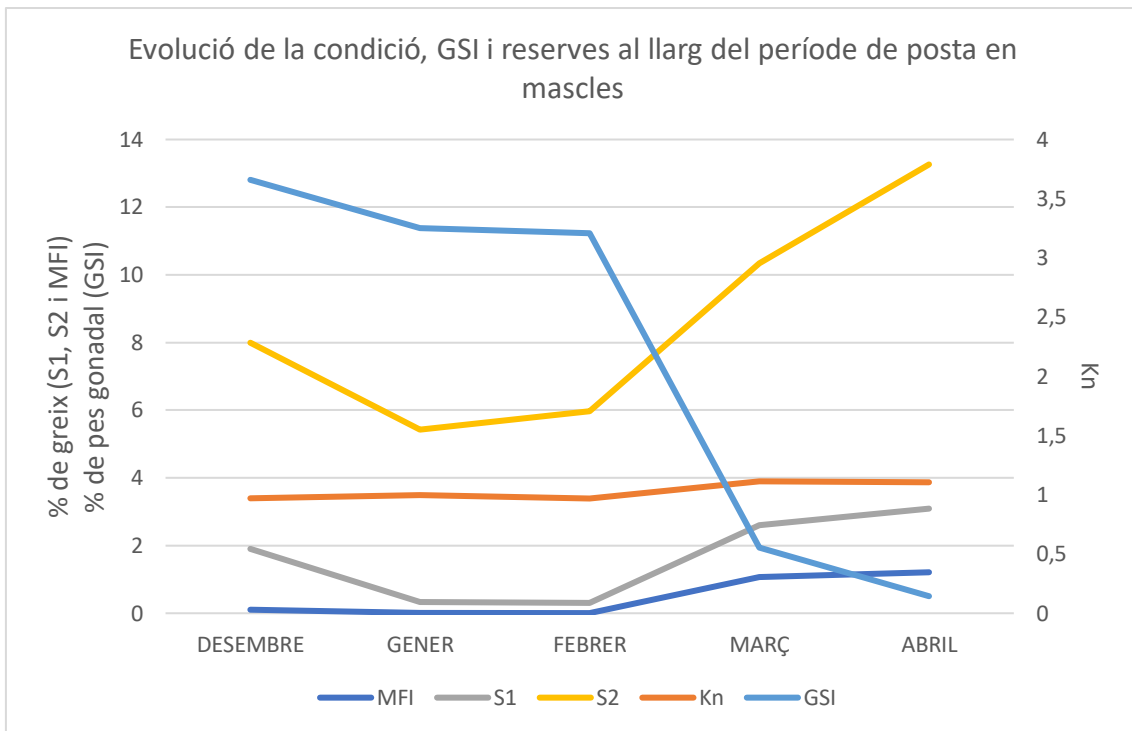


Figura 31. En la figura es veuen representats els diferents index i mesures realitzades per el amb el fatmeter respecte el període de posta en mascles. En l'eix secundari x queda representat Kn degut a que les unitats són diferents a la resta.

#### 4.7 Relació entre l'estimació del greix total (S2) del fatmeter vs. el greix total (greix de la musculatura (S1) + MFI)

Quan analitzem la relació d'aquestes dues variables podem afirmar que, estadísticament (taula 6), estan fortament relacionades. Hi ha una clara relació entre aquestes dues mesures. La correlació és molt robusta si es separen en mascles i femelles però ho és més en el total d'individus.

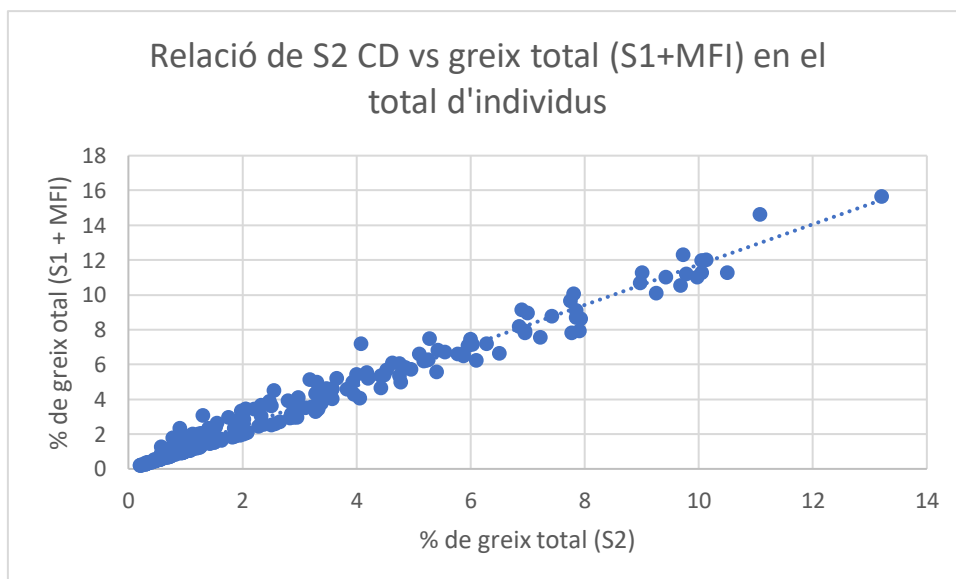


Figura 32. Relació de tots els valors obtinguts amb la línia de tendència de la relació entre les dues variables. Relació dels els valors obtinguts en mascles amb la la línia de tendència de la relació entre les dues variables. S'han exclòs els individus amb un pes <0'0003 grams de greix mesentèric donat que ha estat impossible poder-ne obtenir el seu pes.

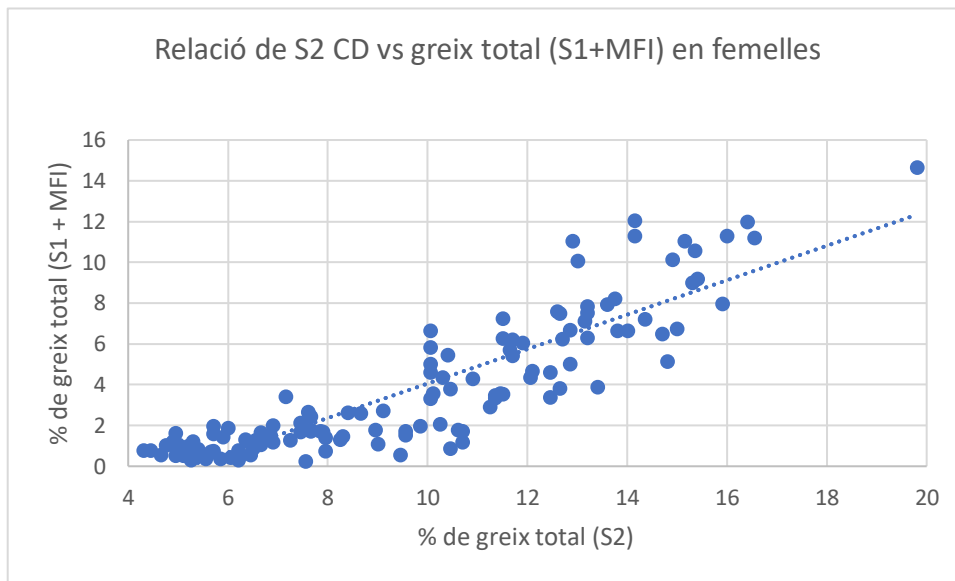


Figura 33. Relació dels els valors obtinguts en femelles amb la la línia de tendència de la relació entre les dues variables. S'han exclòs els individus amb un pes <0'0003 grams de greix mesentèric donat que ha estat impossible poder-ne obtenir el seu pes.

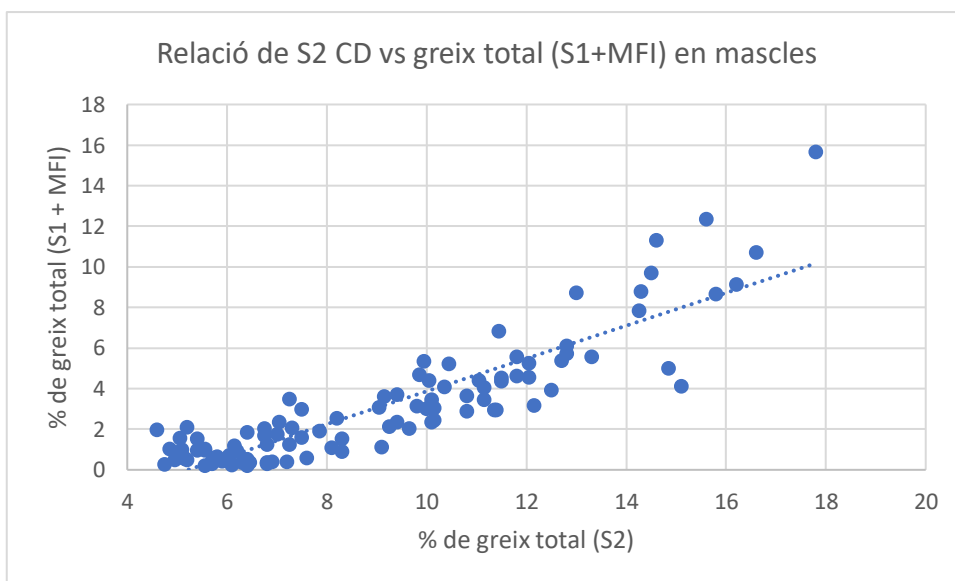


Figura 34. Relació dels els valors obtinguts en mascles amb la la línia de tendència de la relació entre les dues variables. S'han exclòs els individus amb un pes <0'0003 grams de greix mesentèric donat que ha estat impossible poder-ne obtenir el seu pes.

	Coefficient de correlació de Pearson	p-valor
<b>Total</b>	0.9889533	$2'2 \cdot 10^{-16}$
<b>Mascles</b>	0.8883796	$2'2 \cdot 10^{-16}$
<b>Femelles</b>	0.887088	$2'2 \cdot 10^{-16}$

Taula 6. Coeficient de correlació de Pearson i p-valor en la relació de S2 i greix total (S1+MFI) S'han exclòs els individus amb un pes <0'0003 grams de greix mesentèric donat que ha estat impossible poder-ne obtenir el seu pes.

## 5. Discussió

L'evolució de l'índex de condició Kn i el de greix mesentèric MFI al llarg del desenvolupament gonadal segueixen una pauta similar (baixa durant el desenvolupament gonadal, recuperant els valors inicials en l'estat de regressió i regeneració).

En canvi, en les femelles, el greix emmagatzemat en la musculatura (S1) es manté estable durant el desenvolupament gonadal i no disminueix fins que la femella es troba en plena posta (estadi SC). Això suggereix que la despesa energètica associada a la reproducció, primer mobilitza les reserves mesentèriques per iniciar el desenvolupament (previtel·logènesi) i al final quan necessita un aportament energètic extra pel final de la vitel·logènesi mobilitza les reserves que té a la musculatura.

En els mascles la despesa energètica està associada al principi i al final de la mateixa manera entre sí (estadísticament les mitjanes són iguals, tal i com assenyalava la figura 19), fet que indica que la mobilització de les reserves energètiques no és especialment més important al final del procés de producció d'esperma, essent similar la despesa durant l'espermatogènesi que al final del procés.

Les diferències que presenten mascles i femelles en la despesa energètica és degut a que l'energia necessària per produir esperma és molt menor que la que es necessita per produir i desenvolupar ovòcits (Lester et al., 2004).

L'índex gonadosomàtic és un indicador del grau de desenvolupament de les gònades, ja que a major pes més desenvolupades estan les gònades. La dinàmica que segueix aquest índex és inversa a la resta de mesures ja que disminueix al llarg del temps. Els resultats permeten afirmar que el període de reproducció té el seu final al març, on l'índex disminueix tot i que fins a l'abril no té valors propers a 0.

El percentatge de greix total (S2) segueix una tendència molt similar a la suma dels percentatges de greix en la musculatura (S1) i en el mesenteri (MFI), ja que conté aquests dos valors.

Referent al període de posta, S1, S2 i MFI segueixen un patró molt similar, fet que indica que a mesura que avança el període de posta, els individus mobilitzen les seves reserves energètiques fins arribar al seu mínim, localitzat en el mes de febrer, coincidint no només amb l'acumulació de la despesa associada amb la reproducció, sinó també amb la manca de recursos que redueix al mínim l'alimentació (de novembre a febrer/març) (Hickling et al., 1945; Somarakis et al. 2000). Febrer és el mes on la majoria d'individus s'estan reproduint (tal i com mostra la figura 2) i, posteriorment en el mes de març comencen a augmentar les reserves energètiques. Aquest augment ve donat perquè el seu aliment, els organismes planctònics, té una abundància estacional, donant-se en la primavera (abril-juliol) i a la tardor (Hickling et al., 1945, Somarakis et al. 2000). Aquesta disminució i augment és degut a que aquestes reserves són les que primer s'utilitzen durant la maduració gonadal i es recuperen ràpidament en alimentar-se (McPherson et al., 2011).

La quantitat de greix en *Sardina pilchardus* és mínima al final de l'hivern i màxima al final de la primavera (Zlatanov & Laskaridis et al., 2007). Aquests mesos coincideixen amb els resultats obtinguts ja que el entre el mes de gener i febrer és on es troba el mínim de reserves energètiques i s'aprecia la tendència a recuperar-les a l'inici de la primavera (mes de març). Aquest fet concorda amb que la majoria d'individus ja es troben en estadis de regressió, essent el mes d'abril on ja no es localitzen individus en ple període de posta.

El fatmeter és un aparell utilitzat en l'anàlisi del contingut de greixos en peixos, paràmetre relacionat amb la condició o estat de salut de l'individu. Les estimacions de S2 representen el percentatge de greix total, mentre que S1 + MFI representen el percentatge del greix existent en la musculatura i el greix mesentèric, respectivament. S'ha analitzat la relació entre aquests dos paràmetres obtenint una correlació molt propera a 1 (taula 6). Per tant podem afirmar que hi ha una relació directe entre aquests paràmetres i que les mesures del fatmeter són precises i fiables. Una augment en el greix total de l'individu vindrà sobretot donat per un augment de les reserves en la musculatura i en el mesenterí.

McPherson et al. (2011) determinaren també una bona correlació entre el fatmeter i el greix mesentèric en el cas de *Clupea harengus* i la fiabilitat de l'aparell s'ha comprovat també per a d'altres espècies a l'Atlàntic, com l'arengada (Vogt et al. 2002; Davidson & Marshall 2010) o el salmó (Hendry & Beall 2004; Crossin & Hinch 2005).

Finalment, els resultats d'aquest estudi indiquen que les estimacions del fatmeter S1 són més representatives del contingut de lípids que té l'individu que les de S2 (taula 1). De S1 s'han donat com a vàlides estadísticament les quatre mesures realitzades, mentre que en S2 només són representatives les d'un costat de l'individu. Cal tenir en compte que justament aquestes mesures són les que es donaven sobre el costat de l'individu que estava exposat a l'aire durant la descongelació prèvia a la mesura. El principi de funcionament de l'aparell és la mesura del contingut d'aigua de l'individu com a mesura indirecte per estimar el contingut lipídic, de manera que el costat que es mantenia més humit era el costat cd, mentre que a i b estaven més exposats a l'aire i, possiblement, perdent humitat donant valors menys precisos.

## 5.1 Ètica i sostenibilitat

Els estudis sobre la sardina contribueixen a la sostenibilitat de la espècie ja que és un recurs sobreexplotat i, sense unes mesures correctes de conservació, pot arribar a estar en perill d'extinció, afectant tant a nivell ecològic com a nivell econòmic (pesqueries). Amb aquest estudi es pot entendre millor la biologia d'aquesta espècie i poder aplicar gestions més eficaces per la seva conservació. D'altra banda pot servir per realitzar uns estudis més acurats. Tots els residus provinents de l'anàlisi s'han tractat adequadament.

# 6. Conclusion

The dynamics of estimated and calculated parameters have been observed by obtaining reliable and representative results, showing a similar trend to the expected and mentioned in other studies. The reserves decreased during the spawning period, mobilizing first those contained in the mesentery and later those of the muscle. After the spawning (which coincides with scarcity of food) they recover the condition increasing their energy reserves. On the other hand, GSI evolves in an opposite way, at first have high values and decreasing on spawning period. That indicates that reproduction ends in March, where the development of the gonads enters a regression stage (RS) and regeneration (RG).

The reliability of the fatmeter can be asserted although one of the measures (S2ab) has been discarded, possibly because it has not been avoided the dehydration of the specimens during



defrosting. To avoid this type of error, the defrosting methodology should be guided and maintaining the same conditions in each case, losing as little moisture as possible.

On the other hand, this study demonstrates that with only one measurement by side is sufficient because the a and b don't have significant differences. Likewise happens with c and d measurements.

Extraction of mesenteric fat has limitations because in individuals with a minor size or very little fat, the small amount of fat in the intestine was very difficult to extract and to obtain its weight.

During the gonadal development, a large variability in the amount of stored fat has been detected, because of differences in the amount of fat in developing individuals (D): at the beginning of this stage the amount of fat will be greater than at the end. In order to reduce the variability, the stage should be subdivided according to the development of the gonads, since it encompasses from the beginning of development when energy investment is still small to the final stages of vitellogenesis, when the contribution of reserves towards the ovaries is very important.

At the beginning of the study there is a large percentage of individuals in the actively spawning stage, indicating that they are already reproducing. In a future study, the collection of samples and analysis should begin in advance in order to have individuals from the start of mobilization of energy reserves towards reproduction.

## 7. Bibliografía

Bayse, S. M., Regish, A. M., & McCormick, S. D. (2018). Proximate composition, lipid utilization and validation of a non-lethal method to determine lipid content in migrating American shad *Alosa sapidissima*. *Journal of Fish Biology*, 92(6), 1832–1848. <https://doi.org/10.1111/jfb.13624>

Bolger, T., Connolly, P.L., 1989. The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition. *J. Fish Biol.* 34, 171–182. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.1989.tb03300.x>.

Brosset, P., Fromentin, J. M., Ménard, F., Pernet, F., Bourdeix, J. H., Bigot, J. L., ... Saraux, C. (2015). 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. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.10.016>

Brosset P.; Lloret J.; Muñoz M.; Fauvel C.; Van Beveren E.; Marques V.; Fromentin J.M.; Ménard F.; Saraux C. 2016. Body reserves mediate trade-offs between life-history traits: new insights from small pelagic fish reproduction. *Royal Society Open Science* 3: 160202.

Brown, M.L., Murphy, B.R., 2004. Seasonal dynamics of direct and indirect condition indices in relation to energy allocation in largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacèpede). *Ecol. Freshw. Fish* 13, 23–36. <http://dx.doi.org/10.1111/j.0906-6691.2004.00031.x>.

- Brown-Peterson, N. J., Wyanski, D. M., Saborido-Rey, F., Macewicz, B. J., & Lowerre-Barbieri, S. K. (2011). A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1), 52–70. <https://doi.org/10.1080/19425120.2011.555724>
- Craig, J.F., Kenley, M.J., Talling, J.F., 1978. Comparative estimations of the energy content of fish tissue from bomb calorimetry, wet oxidation and proximate analysis. *Freshw. Biol.* 8, 585–590. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2427.1978.tb01480.x>.
- Crossin, G. T.&Hinch, S. G. (2005). A nonlethal, rapid method for assessing the somatic energy content of migrating adult pacific salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 134, 184–191. <https://doi.org/10.1577/FT04-076.1>
- Cury P, Bakun A, Crawford RJM, Jarre-Teichmann A, Quinones R, Shannon LJ, Verheye HM (2000) Small pelagics in upwelling systems: patterns of interaction and structural changes in 'wasp-waist' ecosystems. *ICES J Mar Sci* 57: 603–618
- Davidson, D., Marshall, C.T., 2010. Are morphometric indices accurate indicators of stored energy in herring *Clupea harengus*? *J. Fish Biol.* 76, 913–929. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02546.x>.
- Domínguez-Petit, R. Anastosopoulou, L. Cubillos, H.D. Gerritsen, P. Gonçalves, J.M. Hidalgo, J. Kennedy, M. Korta, G. Marteinsdottir, C. Morgado, M. Muñoz, I. Quincoces, M. Sainza, A. Thorsen, F. Vitale. Chapter 3: Maturity. 2017. In: Handbook of Applied Fisheries Reproductive Biology for Stock Assessment and Management. R. Domínguez-Petit, H. Murua, F. Saborido-Rey, E.A. Trippel (eds). <http://handle.net/10261/87787>.
- Ganias, K., Somarakis, S., Koutsikopoulos, C., & Machias, A. (2007). Factors affecting the spawning period of sardine in two highly oligotrophic Seas. *Marine Biology*, 151(4), 1559–1569.
- Goede, R. W., and B. A. Barton. 1990. Organismic indices and an autopsy based assessment as indicators of health and condition of fish. Pages 93–108 in S. M. Adams, editor. Biological indicators of stress in fish. American Fisheries Society, Symposium 8, Bethesda, Maryland.
- Hendry, A. P. & Beall, E. (2004). Energy use in spawning Atlantic salmon. *Ecology of Freshwater Fish* 13, 185–196. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2004.00045.x>
- Hickling, C. F. (1945). The Seasonal Cycle in the Cornish Pilchard, *Sardina Pilchardus* Walbaum. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 26(02), 115. <https://doi.org/10.1017/s002531540001179>
- Klefoth, T., Skov, C., Aarestrup, K., Arlinghaus, R., 2013. Reliability of non-lethal assessment methods of body composition and energetic status exemplified by applications to eel (*Anguilla anguilla*) and carp (*Cyprinus carpio*). *Fish. Res.* 146, 18–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fishres.2013.03.010>.
- Lester, N. P., Shuter, B. J., & Abrams, P. A. (2004). Interpreting the von Bertalanffy model of somatic growth in fishes: the cost of reproduction. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1548), 1625–1631.
- Lloret, J., G. Shulman, and R. M. Love. 2014. Condition and health indicators of exploited marine fishes. Wiley, Chichester, UK.

- Parrish, R. H. (1989). The South Pacific oceanic horse mackerel (*Trachurus picturatus murphyi*) fishery. In D. Pauly, P. Muck, J. Mendo, and I. Tsukayma [ed.] *The Peruvian Upwelling Ecosystem: dynamics and interactions*. ICLARM Studies and Reviews 18. Instituto deL Mar del Perú (IMARPE), Callao, Perú; Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), GmbH, Eschborn, Federal Republic of Germany; and International Center for Living Aquatic Resources Management (ICLARM), Manila, Philippines. (In press)
- Schloesser, R. W., & Fabrizio, M. C. (2016). Temporal dynamics of condition for estuarine fishes in their nursery habitats. *Marine Ecology Progress Series*, 557, 207–219. <https://doi.org/10.3354/meps11858>
- Schloesser, R. W., & Fabrizio, M. C. (2017). Condition Indices as Surrogates of Energy Density and Lipid Content in Juveniles of Three Fish Species. *Transactions of the American Fisheries Society*, 146(5), 1058–1069. <https://doi.org/10.1080/00028487.2017.1324523>
- Simat, V., Bogdanović, T., 2012. Seasonal changes in proximate composition of anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) from the central Adriatic. *Acta Adriat.* 53, 125–131.
- McPherson, L. R., Slotte, A., Kvamme, C., Meier, S., & Marshall, C. T. (2010). Inconsistencies in measurement of fish condition: a comparison of four indices of fat reserves for Atlantic herring (*Clupea harengus*). *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, fsq148.
- Somarakis, S., Maraveya, E., & Tsimenides, N. (2000). Multispecies ichthyoplankton associations in epipelagic species: is there any intrinsic adaptive function? *Belgium Journal of Zoology*, 130: 125-129.
- Van Beveren, E., Bonhommeau, S., Fromentin, J. M., Bigot, J. L., Bourdeix, J. H., Brosset, P., Saraux, C. (2014). Rapid changes in growth, condition, size and age of small pelagic fish in the Mediterranean. *Marine Biology*, 161(8), 1809–1822. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2463-1>
- Van Der Lingen, C. D., Hutchings, L., & Hickling, C. F. (1945). Estimating the lipid content of pelagic fish in the southern Benguela by visual assessment of their mesenteric fat. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 26(02), 45–53. <https://doi.org/10.2989/18142320509504067>
- Vogt, A., Gormley, T.R., Downey, G., Somers, J., 2002. A comparison of selected rapid methods for fat measurement in fresh herring (*Clupea harengus*). *J. Food Compos. Anal.* 15, 205–215. <http://dx.doi.org/10.1006/jfca.2002.1049>.
- Zlatanov, S., & Laskaridis, K. (2007). Seasonal variation in the fatty acid composition of three Mediterranean fish – sardine (*Sardina pilchardus*), anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and picarel (*Spicara smaris*). *Food Chemistry*, 103(3), 725-728.