

## Integrating fish size, condition, and population demography in the estimation of Atlantic sardine annual fecundity

### Integración de la talla, condición y demografía poblacional en la estimación de la fecundidad anual de la sardina iberoatlántica

C Nunes<sup>1\*</sup>, A Silva<sup>1</sup>, V Marques<sup>1</sup>, K Ganiás<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unidade de Recursos Marinhos e Sustentabilidade (U-REMS), Instituto de Investigação das Pescas e do Mar (INRB-IPIMAR), Avenida Brasília s/n, 1449-006 Lisboa, Portugal.

<sup>2</sup> Aristotle University of Thessaloniki, Department of Biology, Section of Zoology, Laboratory of Ichthyology, 54124 Thessaloniki, Greece.

\* Corresponding author. E-mail: cnunes@ipimar.pt

**ABSTRACT.** Spatial and temporal variability in reproductive parameters was studied in combination with population demography to estimate sardine (*Sardina pilchardus*) population annual fecundity, as an indicator of its reproductive potential. Samples collected from commercial landings were used to determine the monthly proportion of active females and the duration of the spawning season, while data obtained during the 2002, 2005, and 2008 Daily Egg Production Method surveys were used to analyze the relationship between reproductive parameters (batch fecundity, spawning fraction) and individual biological characteristics (length, gutted weight, condition) for the west and south coasts of Portugal by generalized linear models. Population abundances and biological characteristics obtained per length class during acoustic surveys were subsequently used to integrate individual egg production to population demography. At the individual level, results indicated that the duration of the reproductive season was size-dependent, being shorter for smaller sardines. Batch fecundity was positively related to body size and differed significantly between the years and areas studied, with higher values on the west coast and an increasing trend towards the 2007/2008 spawning season. Mean values of spawning fraction varied significantly with space and time but the poor explanatory relationship obtained by the modelling of the spawning fraction against the individual biological characteristics did not allow the clarification of the factors affecting sardine spawning activity. At the population level, the differences obtained in egg production were found to be related to changes in population abundances as well as to the demographic structure, as larger females contributed proportionally more to the population annual fecundity. These results are in accordance with numerous recent studies indicating that the population reproductive potential may not always be proportional to the spawning biomass.

**Key words:** Atlantic sardine, Iberian waters, batch fecundity, spawning fraction, annual population fecundity.

**RESUMEN.** Se estudió la variabilidad temporal y espacial de los parámetros reproductivos junto con la demografía poblacional para estimar la fecundidad anual de la población de sardina (*Sardina pilchardus*), como un indicador de su potencial reproductivo. Muestras de desembarques comerciales fueron utilizadas para determinar la proporción mensual de hembras activas y la duración del periodo de desove. Con los datos obtenidos durante las campañas del Método de la Producción Diaria de Huevos en 2002, 2005 y 2008, se analizó la relación entre los parámetros reproductivos (fecundidad parcial, fracción de desove) y las características biológicas individuales (talla, peso eviscerado, condición) para las costas oeste y sur de Portugal mediante modelos lineales generalizados. Las abundancias poblacionales y características biológicas obtenidas por clase de talla durante muestreos acústicos fueron utilizadas para extrapolar la producción individual de huevos a la demografía poblacional. A nivel individual, los resultados indicaron que la duración de la época reproductiva es dependiente de la talla, siendo más corta para sardinias más pequeñas. La fecundidad parcial está positivamente relacionada con la talla y difiere significativamente entre años y áreas, con valores superiores en la costa oeste y en la temporada de desove de 2007/2008. Los valores medios de la fracción de desove difirieron significativamente en tiempo y espacio, pero la escasa relación explicativa obtenida al modelar la fracción de desove contra las características biológicas individuales no permitió determinar los factores que afectan la actividad de desove de la sardina. A nivel poblacional, las diferencias obtenidas en la producción de huevos estuvieron relacionadas con los cambios en abundancias poblacionales y con la estructura demográfica, ya que las hembras de mayor tamaño contribuyeron proporcionalmente más a la fecundidad anual poblacional. Estos resultados concuerdan con estudios recientes que sugieren que el potencial reproductivo poblacional no es necesariamente proporcional a la biomasa desovante.

**Palabras clave:** sardina iberoatlántica, aguas ibéricas, fecundidad parcial, fracción de desove, fecundidad anual poblacional.

#### INTRODUCTION

Fisheries management should ensure that every year a sufficient biomass of spawners (SSB: spawning stock

#### INTRODUCCIÓN

El manejo de pesquerías debería asegurar que cada año se cuente con una suficiente biomasa de reproductores (biomasa

biomass) produces enough recruits (R: recruitment), allowing for the renewal of the stock while it is sustainably harvested (Trippel 1999). Management of fish stocks is based on biological reference points, which are often derived from SSB-R relationships (Hilborn and Walters 1992). The latter assume that all fish have an equal probability of generating the same recruitment level, regardless of their size, age, condition, place or time of spawning; however, for most stocks, R appears not to be directly related to SSB (Marshall *et al.* 2003), and the three most referred reasons are that (a) environmental conditions can also affect recruitment success (Cole and McGlade 1998); (b) recruit survival (per spawner) can vary due to compensation or depensation effects (Hilborn and Walters 1992); and (c) SSB may not be a good indicator of the stock reproductive potential, as it does not account for spatial and temporal variability in population size and sex structure, and in female condition, maturity, and fecundity (Scott *et al.* 2006).

Most individual reproductive parameters are size- or age-related and, therefore, at the stock level, size/age composition of spawners may affect fecundity (Óskarsson and Taggart 2006, Scott *et al.* 2006, Mehault *et al.* 2010); the quality of eggs (Marteinsdottir and Begg 2002, Carr and Kaufman 2008, Mehault *et al.* 2010); and the frequency (Parrish *et al.* 1986, Claramunt *et al.* 2007), time, and duration of spawning (Silva *et al.* 2006, Ganas *et al.* 2007b, Cubillos and Claramunt 2009). Moreover, the population reproductive potential can be affected by the condition of females (dependent on food supply, body energetic reserves, and energy allocation strategies), which also influences reproductive parameters (Kjesbu *et al.* 1998, Blanchard *et al.* 2003, Kurita *et al.* 2003). Studies devoted to improving the reproductive potential of a population and that have estimated annual population fecundity have focused mostly on spawners with determinate fecundity (e.g., cod, haddock, halibut, and herring; Gundersen *et al.* 2000, Blanchard *et al.* 2003, Marshall *et al.* 2003, Óskarsson and Taggart 2006), whereas indeterminate species have been considered less frequently, especially because of the difficulty of determining the number of batches spawned per year (exceptions are the Californian anchovy *Engraulis mordax*: Hunter and Leong 1981; the Chilean sardine *Sardinops sagax*: Claramunt *et al.* 1994; and the Argentine hake *Merluccius hubbsi*: Macchi *et al.* 2004).

The Atlanto-Iberian sardine *Sardina pilchardus* is an indeterminate, multiple spawner, which releases batches of pelagic eggs repeatedly during a protracted spawning season (Stratoudakis *et al.* 2007). As other sardine and anchovy populations worldwide, the Atlanto-Iberian sardine stock presents interannual fluctuations of SSB and R levels (ICES 2009a); however, the SSB-R relationship shows no apparent pattern and no biological reference points have been defined for this stock. In those cases, the International Council for the Exploration of the Sea (ICES 2009a) recommends assuming that recruitment dynamics is uncertain below the lowest

desovante) para producir suficientes reclutas (reclutamiento) y permitir la renovación de la población mientras sea explotada sustentablemente (Trippel 1999). El manejo de las poblaciones de peces se basa en puntos de referencia biológicos, frecuentemente derivados de las relaciones biomasa desovante-reclutamiento (Hilborn y Walters 1992), las cuales suponen que todos los peces tienen la misma probabilidad de generar el mismo nivel de reclutamiento independientemente de su talla, edad, condición, lugar o tiempo de desove. No obstante, en la mayoría de las poblaciones, el reclutamiento no parece estar directamente relacionado con la biomasa desovante (Marshall *et al.* 2003), y las tres razones que más se han mencionado son (a) que las condiciones ambientales también pueden afectar el éxito del reclutamiento (Cole y McGlade 1998); (b) que la supervivencia de reclutas (por desovador) puede variar debido a efectos de compensación o depensación (Hilborn y Walters 1992); y (c) que la biomasa desovante podría no ser un buen indicador del potencial reproductivo de la población, ya que no toma en cuenta la variabilidad espacial y temporal en la estructura por tamaño y sexo de la población, ni en la condición, madurez y fecundidad de las hembras (Scott *et al.* 2006).

La mayoría de los parámetros reproductivos individuales se relacionan con la talla o la edad; por lo tanto, a nivel poblacional, la composición de talla y edad de los desovadores puede afectar la fecundidad (Óskarsson y Taggart 2006, Scott *et al.* 2006, Mehault *et al.* 2010); la calidad de los huevos (Marteinsdottir y Begg 2002, Carr y Kaufman 2008, Mehault *et al.* 2010); y la frecuencia (Parrish *et al.* 1986, Claramunt *et al.* 2007), el periodo y la duración del desove (Silva *et al.* 2006, Ganas *et al.* 2007b, Cubillos y Claramunt 2009). Además, el potencial reproductivo de la población puede ser impactada por la condición de las hembras (dependiendo de la disponibilidad de alimento, las reservas energéticas corporales y las estrategias de alocación de energía), lo que también afecta los parámetros reproductivos (Kjesbu *et al.* 1998, Blanchard *et al.* 2003, Kurita *et al.* 2003). Los estudios dedicados a mejorar el potencial reproductivo de una población y a estimar la fecundidad anual se han enfocado principalmente en desovadores con fecundidad determinada (e.g., bacalao, abadejo, hipogloso y arenque; Gundersen *et al.* 2000, Blanchard *et al.* 2003, Marshall *et al.* 2003, Óskarsson y Taggart 2006) y menos frecuentemente en las especies indeterminadas, por la dificultad de determinar el número de puestas por año (con excepción de la anchoveta *Engraulis mordax*: Hunter y Leong 1981; la sardina *Sardinops sagax*: Claramunt *et al.* 1994; y la merluza *Merluccius hubbsi*: Macchi *et al.* 2004).

La sardina iberoatlántica *Sardina pilchardus* es un desovador múltiple e indeterminado, que libera tandas de huevos pelágicos repetidamente durante una temporada de desove larga (Stratoudakis *et al.* 2007). Al igual que otras poblaciones de sardinas y anchovetas alrededor del mundo, la población de sardina iberoatlántica presenta fluctuaciones en los niveles de biomasa desovante y reclutamiento

observed (historical) SSB, and to set this SSB as a limit reference point.

The aim of this study was to incorporate the variability of reproductive parameters and population demography to estimate sardine annual population fecundity, as an indicator of its reproductive potential. Data collected during the Daily Egg Production Method (DEPM) surveys and from commercial landings were used to analyze the relationship between the reproductive parameters (duration of the spawning season, batch fecundity, spawning fraction) and the biological characteristics of the individuals (length, gutted weight, condition). Population abundances and biological characteristics obtained per length class during acoustic surveys were used to integrate individual egg production to population demography and thus estimate population annual fecundity. The results are discussed in terms of the spatial and temporal variability of sardine annual population fecundity, of the contribution of each age-group females to total egg production, and of the implications of a variable reproductive potential on sardine population dynamics.

## MATERIAL AND METHODS

### Sampling and histology

Fish samples and biological information from three different sources were used: (a) samples collected fortnightly at the main landing harbours (Matosinhos, Peniche, Portimão) of the purse-seine fleet; (b) fish sampled during the DEPM surveys carried out triennially in Portuguese and Gulf of Cadiz waters, close to the sardine peak spawning period (January–February); and (c) data obtained during acoustic surveys conducted in autumn and spring. Information on the period when these samples were collected, on the sampling design, and on the biological and demographic data obtained from these samples is detailed in table 1.

The macroscopic maturity phase was recorded for each fish according to a five-phase key: 1, immature/regenerating; 2, developing; 3, spawning capable; 4, spawning; 5, regressing (Afonso-Dias *et al.* 2007). The gonadosomatic index (GSI)—i.e., the ratio (in percentage) of gonad weight to female gutted weight—and the relative weight (Wege and Anderson 1978) were calculated to serve as an index of reproductive and somatic condition, respectively.

During the DEPM surveys, female gonads were preserved in 4% formaldehyde solution, stored in 70% ethanol, and processed in the laboratory for histological analysis. Ovaries were embedded in paraffin and 3–5- $\mu$ m histological sections were cut and stained with haematoxylin and eosin yellow (Kiernan 1999). Microscopic classification of ovaries was based on the oocyte stage of the most advanced batch (Ganias *et al.* 2004). Post-ovulatory follicles (POFs) were aged into five daily classes (day 0 to day 3+) according to Ganias *et al.* (2007a), using both histomorphological (overall aspect of POFs and degree of degeneration of the granulosa cells) and metric (cross-sectional area of POFs) criteria.

(ICES 2009a); sin embargo, la relación biomasa desovante-reclutamiento no muestra un patrón aparente y no se han definido puntos biológicos de referencia para esta población. En tales casos, el Consejo Internacional para la Exploración del Mar (ICES 2009a) recomienda suponer que la dinámica de reclutamiento es incierta por debajo de la menor biomasa desovante observada (histórica), por lo que ésta debería establecerse como punto de referencia límite.

El objetivo de este trabajo fue incorporar la variabilidad de los parámetros reproductivos y la demografía poblacional para estimar la fecundidad anual de la población de sardina, como un indicador de su potencial reproductivo. Se usaron datos recolectados durante las campañas del Método de la Producción Diaria de Huevos (DEPM, por sus siglas en inglés) y de desembarques comerciales para analizar la relación entre los parámetros reproductivos (duración de la temporada de desove, fecundidad parcial, fracción de desove) y las características biológicas de los individuos (talla, peso eviscerado, condición). Las abundancias poblacionales y las características biológicas obtenidas por clase de talla durante muestreos acústicos fueron utilizadas para extrapolar la producción individual de huevos a la demografía poblacional y así estimar la fecundidad anual de la población. Los resultados se discuten en términos de la variabilidad espacial y temporal de la fecundidad anual de la población de sardina, de la contribución de hembras de cada clase de edad a la producción total de huevos, y de las implicaciones de un potencial reproductivo variable en la dinámica poblacional.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreo e histología

Se utilizaron muestras de peces e información biológica de tres diferentes fuentes: (a) muestras recolectadas quincenalmente en los principales puertos de desembarque de la flota cerquera (Matosinhos, Peniche, Portimão); (b) peces recolectados durante las campañas del DEPM realizadas cada tres años en aguas portuguesas y del Golfo de Cádiz, cerca del pico del periodo de desove (enero a febrero); y (c) datos obtenidos durante muestreos acústicos realizados en otoño y primavera. En la tabla 1 se presenta información sobre el periodo de recolección de las muestras, el diseño de muestreo, y los datos biológicos y demográficos obtenidos de estas muestras.

Se determinó la fase de madurez macroscópica para cada ejemplar con base en una clave de cinco fases: 1, inmadura/en regeneración; 2, en desarrollo; 3, con capacidad de desovar; 4, desovando; 5, en regresión (Afonso-Dias *et al.* 2007). Se calcularon el índice gonadosomático (GSI)—i.e., la proporción (en porcentaje) entre el peso gonadal y el peso eviscerado de hembras—y el peso relativo (Wege y Anderson 1978) para servir como un índice de la condición reproductiva y somática, respectivamente.

Durante las campañas del DEPM, las gónadas de hembras se preservaron en una solución de formaldehído al 4%, se

**Table 1.** *Sardina pilchardus*. Summary of the characteristics of the samples used in the present study (DEPM: Daily Egg Production Method).  
**Tabla 1.** *Sardina pilchardus*. Resumen de las características de las muestras usadas en este estudio (DEPM: Método de la Producción Diaria de Huevos).

Source	Period of sampling	Sampling design	Biological or demographic properties	Reproductive parameters
<b>Individual</b>				
Commercial catch samples	2001, 2002, 2004, 2005, 2007, and 2008 (Jan.–Dec.)	One to two length-stratified samples of 100–150 fish per month	- Length (0.1 cm) - Gutted weight (0.1 g) - Sex - Macroscopic maturity phase - Gonad weight (0.01 g)	- Proportion of active females - Duration of reproductively active season
DEPM samples	2002, 2005, and 2008 DEPM surveys (Jan.–Feb.)	One random sample of 60–100 fish per fishing haul	- Length (0.1 cm) - Gutted weight (0.1 g) - Sex - Macroscopic maturity phase - Gonad weight (0.01 g) - Presence of hydrated oocytes - Presence of postovulatory oocytes (POFs)	- Batch fecundity - Spawning fraction - GSI <sub>50</sub>
<b>Population</b>				
Acoustic survey samples	2001 and 2007 autumn (Oct.–Nov.) surveys and 2002, 2005, and 2008 spring (Mar.–Apr.) surveys	One length-stratified sample of 100–150 fish per fishing haul	- Population abundance - Length (0.1 cm) (size-structure population) - Gutted weight (0.1 g) - Sex (sex ratio) - Macroscopic maturity phase (proportion of mature females)	- Annual population fecundity - Annual female fecundity

Three spawning seasons (2001/2002, 2004/2005, and 2007/2008) were considered in this study, as well as two distinct geographic areas: the west coast of Portugal and the south coast of Portugal, including the Gulf of Cadiz, Spain (fig. 1).

### Estimation of the annual fecundity

#### 1. Annual population fecundity

In an indeterminate spawner, like sardine, potential annual fecundity is not fixed prior to the beginning of the spawning season (Murua and Saborido-Rey 2003). Therefore, the realized annual population fecundity (*APF*) of these fish, i.e., the number of eggs that the population is able to produce over the entire spawning season, is related to the number of hydrated oocytes released at each spawning event (batch fecundity,  $F_b$ ) and the number of batches spawned in the reproductive season, which may be derived by multiplying the spawning fraction ( $S$ ) by the duration of the spawning season. Data on  $F_b$  and  $S$  variability within the spawning season were not available for this study, so these parameters

almacenaron en etanol al 70% y se procesaron en el laboratorio para su análisis histológico. Los ovarios se montaron en parafina, se cortaron en secciones de 3–5  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina y eosina amarilla (Kiernan 1999). La clasificación microscópica de los ovarios se basó en la fase de los ovocitos de la tanda más avanzada (Ganias *et al.* 2004). Se designó la edad de los folículos postovulatorios (POFs) en cinco clases diarias (día 0 a día 3+) de acuerdo con Ganias *et al.* (2007a), usando criterios tanto histomorfológicos (aspecto global de los POFs y grado de degeneración de las células granulosas) como métricos (sección transversal de los POFs).

En este estudio se consideraron tres temporadas de desove (2001/2002, 2004/2005 y 2007/2008) y dos zonas geográficas distintas: la costa oeste de Portugal y la costa sur de Portugal, incluyendo el Golfo de Cádiz, España (fig. 1).

### Estimación de la fecundidad anual

#### 1. Fecundidad anual de la población

En un desovador indeterminado, como la sardina, la fecundidad potencial anual no está fijada antes del comienzo

were assumed constant over the reproductive period and equal to values estimated from the relationships established at the peak spawning period (from the DEPM surveys).

The *APF* was calculated as:

$$APF = \frac{P_d \times n}{Isp} \quad (1)$$

where  $P_d$  is the population daily egg production,  $n$  is the number of days that females are reproductively active (duration of the spawning season), and  $Isp$  is the interspawning interval (i.e., the time elapsed between two consecutive spawning events). As  $Isp$  corresponds to the inverse of  $S$  (i.e., the daily fraction of mature spawning females), the expression used was:

$$APF = P_d \times n \times S \quad (2)$$

The spawning fractions used in the calculation of *APF* were the mean values estimated per year and geographic area for fish of all sizes pooled. Both  $P_d$  and  $n$  were determined first for fish of all sizes pooled, and then separately for four groups of fish length: length < 16 cm (mainly aged 0 in the

de la época de desove (Murua y Saborido-Rey 2003). Por tanto, la fecundidad anual de la población (*APF*) realizada, i.e., el número de huevos que puede producir la población durante toda la temporada de desove, está relacionada con el número de ovocitos hidratados liberados en cada evento de desove (fecundidad parcial,  $F_b$ ) y el número de puestas en el periodo reproductivo, que puede derivarse a partir de la multiplicación de la fracción desovante ( $S$ ) por la duración de la temporada de desove. En este estudio, debido a la carencia de datos sobre la variación de  $F_b$  y  $S$  durante la temporada de desove, estos parámetros se supusieron constantes a lo largo del periodo reproductivo e iguales a los valores estimados a partir de las relaciones establecidas durante el pico del periodo de desove (de las campañas del DEPM).

La *APF* se calculó como:

$$APF = \frac{P_d \times n}{Isp} \quad (1)$$

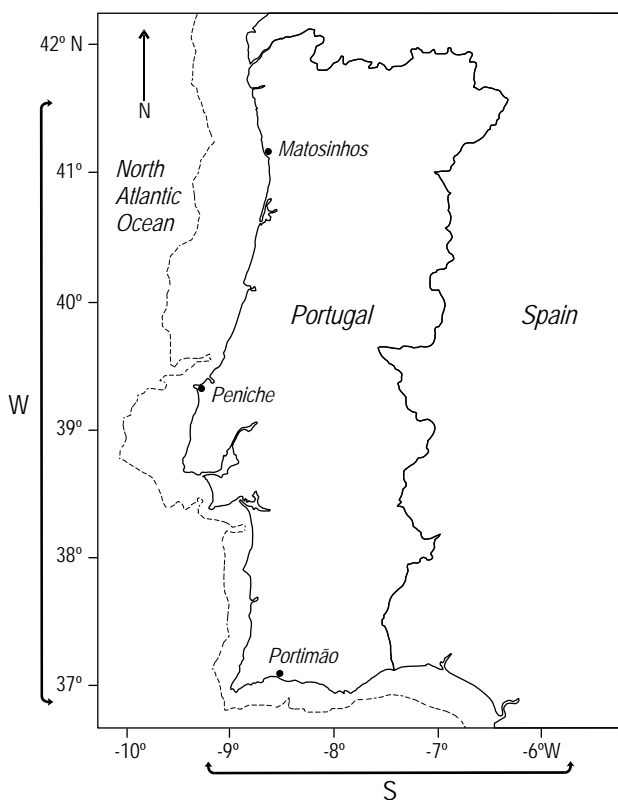
donde  $P_d$  es la producción diaria de huevos de la población,  $n$  es el número de días que las hembras están reproductivamente activas (duración de la temporada de desove) e  $Isp$  es el intervalo entre desoves (i.e., el tiempo entre dos eventos consecutivos de desove). Como  $Isp$  corresponde al inverso de  $S$  (i.e., la fracción diaria de hembras maduras desovantes), se utilizó la expresión:

$$APF = P_d \times n \times S \quad (2)$$

Las fracciones de desove usadas para calcular la *APF* fueron los valores medios estimados por año y área geográfica para los peces de todas las tallas combinadas. Tanto  $P_d$  como  $n$  se determinaron primero para los peces de todas las tallas combinadas y luego de forma separada para cuatro clases de talla: longitud < 16 cm (principalmente de edad 0 en el último trimestre del año y de 1 año de edad en el primer trimestre del año siguiente),  $16 \leq$  longitud < 19 cm (principalmente de 1 a 2 años de edad),  $19 \leq$  longitud < 22 cm (principalmente de 2 a 4 años de edad), longitud  $\geq$  22 cm (principalmente de 5+ años de edad). Estos grupos se definieron con base en claves edad-longitud y con el objetivo de evaluar de forma independiente los peces más jóvenes desovando por primera vez, los que ya habían desovado y los más viejos de la población. Las claves edad-longitud se obtuvieron cada año de los muestreos acústicos de primavera, con los sexos combinados (las diferencias en las trayectorias de crecimiento de machos y hembras son pequeñas: Silva *et al.* 2008), y la edad se determinó a partir del análisis de 10–20 otolitos por clase de talla y por área geográfica (Soares *et al.* 2007).

### 1.1 Producción diaria de huevos de la población

La producción diaria de huevos de la población ( $P_d$ ) se estimó de la siguiente manera: las fecundidades parciales



**Figure 1.** Map of the study region showing the location of the two geographic areas considered: west (W) and south (S) coasts. **Figura 1.** Mapa del área de estudio mostrando la localización de las dos áreas geográficas consideradas: costas oeste (W) y sur (S).

last quarter of the year and aged 1 in the first quarter of the following year),  $16 \leq \text{length} < 19$  cm (mainly 1 to 2 years old),  $19 \leq \text{length} < 22$  cm (mainly 2 to 4 years old),  $\text{length} \geq 22$  cm (mainly aged 5 and above). These groups were broadly defined based on age-length keys and with the objective of evaluating separately the youngest first-time spawners, the repeat spawners, and the oldest fish of the population. The age-length keys were obtained each year from the spring acoustic surveys, with sexes combined (differences in growth trajectories of males and females are small: Silva *et al.* 2008), and age was determined based on the analysis of 10–20 otoliths per length class and per geographic area (Soares *et al.* 2007).

### 1.1 Population daily egg production

The population daily egg production ( $P_d$ ) was estimated as follows: individual batch fecundities per length class ( $F_{b,l}$ ) were predicted from the batch fecundity model; for this, mean values of gutted weight and relative weight were estimated for each length class from the biological data collected during the autumn and spring acoustic surveys (corresponding, respectively, to the first and second halves of the spawning season). These individual batch fecundities were then multiplied by the number of mature females per length class within the population ( $N_{m,l}$ ). The result of the sum of all these  $F_{b,l}$  corresponded to the number of eggs produced by the population per day ( $P_d$ , assuming that 100% of the mature females would spawn every day), following the equation:

$$P_d = \sum_1^l F_{b,l} \times N_{m,l} \quad (3)$$

#### 1.1.1. Batch fecundity

Individual batch fecundity ( $F_d$ ) was estimated from the analysis of the hydrated ovaries collected during the DEPM surveys (excluding those with POFs to avoid underestimating fecundity). A total of 343 ovaries were analyzed. The  $F_d$  was measured by the gravimetric method applied to the hydrated oocytes, on one to three whole mount subsamples per ovary, weighing on average 50–200 mg (0.1 mg) each: the number of hydrated oocytes was counted in these subsamples and then extrapolated to the entire ovary weight (Hunter *et al.* 1985). The  $F_d$  estimates were then modelled against several covariates (continuous variables: gutted weight, relative weight; factorial variables: year, geographic area) using generalized linear models (GLM). A Spearman rank correlation test indicated that relative weight and gutted weight were independent ( $\rho = 0.039$ ,  $P < 0.01$ ), and could thus be both included as covariates in the model. For simplicity, only two-way interactions amongst the above variables were considered. The inspection of residual plots indicated that a GLM with a Gamma error distribution and an identity link

individuales por clase de talla ( $F_{b,l}$ ) se pronosticaron mediante un modelo de fecundidad parcial; para esto, se estimaron valores medios de peso eviscerado y peso relativo para cada clase de talla a partir de los datos biológicos recolectados durante los muestreos acústicos de otoño y primavera (correspondiendo a la primera mitad y a la segunda mitad, respectivamente, del periodo de desove). Estas fecundidades parciales individuales se multiplicaron por el número de hembras maduras por clase de talla en la población ( $N_{m,l}$ ). El resultado de la suma de todas estas  $F_{b,l}$  correspondieron al número de huevos producidos por la población por día ( $P_d$ , suponiendo que 100% de las hembras maduras desovarían cada día), según la ecuación:

$$P_d = \sum_1^l F_{b,l} \times N_{m,l} \quad (3)$$

#### 1.1.1. Fecundidad parcial

La fecundidad parcial individual ( $F_d$ ) se estimó mediante el análisis de los ovarios hidratados recolectados durante las campañas del DEPM (excluyendo los que contenían POFs para evitar una subestimación de la fecundidad). Se analizaron un total de 343 ovarios. La  $F_d$  se midió aplicando el método gravimétrico a los ovocitos hidratados, en una a tres submuestras recogidas en cada ovario, pesando en promedio 50–200 mg (0.1 mg) cada una: el número de ovocitos hidratados en estas submuestras se contó y luego se extrapoló a todo el peso ovárico (Hunter *et al.* 1985). Las estimaciones de  $F_d$  se modelaron contra varias covariantes (variables continuas: peso eviscerado, peso relativo; variables factoriales: año, área geográfica) usando modelos lineales generalizados (GLM). Una prueba de correlación por rangos de Spearman mostró que el peso relativo y el peso eviscerado eran independientes ( $\rho = 0.039$ ,  $P < 0.01$ ) y, por lo tanto, se podían incluir como covariantes en el modelo. Para simplificar, sólo se consideraron interacciones de dos vías entre las variables mencionadas. Las gráficas residuales indicaron que un GLM con una distribución de error Gamma y una función de enlace identidad resultaba adecuado para el análisis de los datos de  $F_d$ . Se realizó un análisis del criterio de información de Akaike por pasos hacia atrás/prueba de razón de verosimilitud (prueba  $F$ ) para seleccionar las covariantes del modelo y determinar cuáles eran significativas así como su contribución relativa a la desviación explicada por el modelo (Wood 2006). El modelo seleccionado se aplicó para predecir la fecundidad parcial individual por clase de talla ( $F_{b,l}$ ).

#### 1.1.2. Número de hembras maduras

Se obtuvieron datos de abundancia y biológicos por clase de talla de los muestreos acústicos de otoño y primavera, los cuales se consideraron representativos de la condición de la población en la primera mitad y la segunda mitad,

function was appropriate for the analysis of the  $F_d$  data. A backward stepwise AIC/likelihood ratio test analysis ( $F$ -test) was performed to select the model covariates and to determine which ones were significant and their relative contribution to the deviance explained by the model (Wood 2006). The selected model was subsequently applied to predict the individual batch fecundities per length class ( $F_{b,l}$ ).

### 1.1.2. Number of mature females

Abundances and biological information per length class were obtained from the autumn and spring acoustic surveys, these data being considered representative of the population status for the first and second halves, respectively, of the spawning season. The number of mature females ( $N_{m,l}$ ) per length class in the population was estimated as follows:

$$N_{m,l} = N_{t,l} \times S_{r,l} \times P_{m,l} \quad (4)$$

where  $N_{t,l}$  is the total number of fish per length class in the population,  $S_{r,l}$  is the sex ratio for each length class, and  $P_{m,l}$  is the percentage of mature females (with macroscopic maturity phases 2 and above) for each length class within the samples.

### 1.2 Duration of the reproductively active period

The estimation of the duration of the spawning season ( $n$ ) was based on the proportion of reproductively active females in the commercial samples. The gonads of fish obtained from the purse-seine fleet are not normally processed histologically, so the reproductive activity cannot be confirmed microscopically for these individuals. Their reproductive activity was thus assessed by means of the GSI, using the relationship between GSI and gonad activity, previously validated with the histological samples collected during the DEPM surveys ( $n = 2982$ ). A GLM with a binomial distribution of the errors and a logit link function was fitted to the proportion of active females by GSI to identify a  $GSI_{50}$ , i.e., the value of GSI for which 50% of the females were reproductively active (whose ovaries contained healthy vitellogenic oocytes) (Ganias *et al.* 2007b). A single  $GSI_{50}$  value was estimated for the two geographic areas considered. The  $GSI_{50}$  value was then applied to the individual GSI data in order to estimate the monthly proportion of reproductively active females (those with higher GSI than  $GSI_{50}$ ). Assuming that this proportion remains constant for all the days in a given month, each monthly proportion of active females was multiplied by the number of days in a month (an average value of 30 days) to obtain the monthly number of female active days (it is considered that the 30 days during which this proportion of females are active is equivalent to the number of days ( $n$ ) during which 100% of the females would have been active). These products were then summed up to obtain the annual

respectivamente, del periodo de desove. El número de hembras maduras ( $N_{m,l}$ ) por clase de talla en la población se estimó de la siguiente manera:

$$N_{m,l} = N_{t,l} \times S_{r,l} \times P_{m,l} \quad (4)$$

donde  $N_{t,l}$  es el número total de peces por clase de talla en la población,  $S_{r,l}$  es la razón de sexos para cada clase de talla y  $P_{m,l}$  es el porcentaje de hembras maduras (con fases de madurez macroscópica 2 y mayor) para cada clase de talla en las muestras.

### 1.2 Duración del periodo de reproducción activa

La estimación de la duración del periodo de desove ( $n$ ) se basó en la proporción de hembras reproductivamente activas en las muestras comerciales. Las gónadas de los peces obtenidos de la flota cerquera normalmente no se procesan histológicamente, por lo que la actividad reproductiva de estos individuos no se puede confirmar microscópicamente. Por tanto, su actividad reproductiva se evaluó mediante el GSI, usando la relación entre el GSI y la actividad gonadal, previamente validada con las muestras histológicas recolectadas durante las campañas del DEPM ( $n = 2982$ ). Un GLM con una distribución binomial de los errores y una función de enlace logit se ajustó a la proporción de hembras activas mediante el GSI para identificar un  $GSI_{50}$ , i.e., el valor del GSI para el cual 50% de las hembras estaban reproductivamente activas (cuyos ovarios contenían ovocitos vitelo-génicos saludables) (Ganias *et al.* 2007b). Se estimó un solo valor de  $GSI_{50}$  para las dos áreas geográficas consideradas, el cual se aplicó a los datos individuales del GSI para estimar la proporción mensual de hembras reproductivamente activas (con un mayor GSI que  $GSI_{50}$ ). Suponiendo que esta proporción permanece constante para todos los días en un mes dado, cada proporción mensual de hembras activas se multiplicó por el número de días en un mes (un valor promedio de 30 días) para obtener el número mensual de días que las hembras fueron activas (se considera que los 30 días durante los cuales las hembras son activas es equivalente al número de días ( $n$ ) durante los cuales el 100% de las hembras hubieran estado activas). Estos productos se sumaron para obtener el número anual de días que las hembras fueron activas (i.e., la duración del periodo de desove); el objetivo de este parámetro es obtener una estimación general del periodo durante el cual las hembras en la población podrían potencialmente desovar. Esta duración del periodo de desove se estimó primero para el total de peces (todas las tallas combinadas) y luego por separado para las diferentes clases de talla.

### 1.3 Fracción desovante

La fracción desovante ( $S$ ) se estimó mediante el método de POFs, como el número promedio de hembras con POFs de

number of female active days (i.e., the duration of the spawning season), this parameter aiming to be a broad estimate of the period during which the females within the population could potentially spawn. This duration of the spawning season was first estimated for all fish (all lengths pooled) and then separately for the different groups of fish length.

### 1.3 Spawning fraction

The spawning fraction ( $S$ ) was estimated by the POFs method, as the average number of females with day 1 or day 2 POFs divided by the total number of active females (Stratoudakis *et al.* 2006). The sample  $S$  estimates ( $n = 167$ ) were modelled using a GLM against the covariates fish mean length and mean relative weight (continuous variables), and year and geographic area (factorial variables), and their two-way interactions. Similarly, a Spearman rank correlation test was performed to confirm the independence between fish length and relative weight. A small but significant correlation was obtained ( $\rho = -0.12$ ,  $P < 0.01$ ), and the replacement of the fish relative weights by the residuals of a length-gutted weight relationship (results not shown), in order to remove the effect of length on the relative weight, barely reduced the correlation coefficient between the two variables ( $\rho = -0.11$ ,  $P < 0.01$ ). The model that better fit the data was characterized by a quasibinomial error distribution and a logit link function, the use of the quasibinomial family being an adjustment for the existing over-dispersion of the present data (Venables and Ripley 2002). The selection of the suitable covariates and the determination of their relative contribution to the deviance explained by the model were performed by a generalized likelihood ratio test ( $F$ -test) (Wood 2006).

## 2. Annual female fecundity

The annual fecundity per female ( $AFF$ ) was estimated as the ratio between the annual population fecundity ( $APF$ ) and the number of mature females in the population ( $N_{tmf}$ , obtained from the acoustic surveys), according to the expression:

$$AFF = \frac{APF}{N_{tmf}} \quad (5)$$

Confidence limits of the  $APF$  and  $AFF$  estimates were not calculated in this study. It should be noted that the methodology applied here to estimate batch fecundity and the spawning fraction differed slightly from the standard procedure used in DEPM, and the values obtained in this study should thus not be considered alternative or revised estimates (ICES 2009b).

All calculations and statistical analyses were carried out with the software R (version 2.8.1, R Development Core Team 2008).

1 ó 2 días dividido por el número total de hembras activas (Stratoudakis *et al.* 2006). Se modelaron las estimaciones de  $S$  ( $n = 167$ ) usando un GLM contra las covariantes longitud media y peso relativo medio de los peces (variables continuas), y año y área geográfica (variables factoriales), y sus interacciones de dos vías. Asimismo, se realizó una prueba de correlación por rangos de Spearman para confirmar la independencia entre la longitud y el peso relativo. Se obtuvo una correlación pequeña pero significativa ( $\rho = -0.12$ ,  $P < 0.01$ ), y la sustitución de los pesos relativos por los residuales de una relación longitud-peso eviscerado (no se muestran los resultados)—para eliminar el efecto de la longitud sobre el peso relativo—apenas redujo el coeficiente de correlación entre las dos variables ( $\rho = -0.11$ ,  $P < 0.01$ ). El modelo que mejor se ajustó a los datos se caracterizó por una distribución de error cuasibinomial y una función de enlace logit, el uso de la familia tipo cuasibinomial siendo un ajuste por la sobre-dispersión existente de los datos (Venables y Ripley 2002). La selección de las covariantes adecuadas y la determinación de su contribución relativa a la desviación explicada por el modelo se realizaron mediante una prueba de razón de verosimilitud generalizada (prueba  $F$ ) (Wood 2006).

### 2. Fecundidad anual de hembras

La fecundidad anual por hembra ( $AFF$ ) se estimó como la razón entre la fecundidad anual de la población ( $APF$ ) y el número de hembras maduras en la población ( $N_{tmf}$ , obtenido de los muestreos acústicos), según la expresión:

$$AFF = \frac{APF}{N_{tmf}} \quad (5)$$

En este estudio no se calcularon los límites de confianza de las estimaciones de  $APF$  y  $AFF$ . Es importante mencionar que la metodología aplicada en el presente trabajo para estimar la fecundidad parcial y la fracción desovante difiere ligeramente del procedimiento estándar utilizado en el DEPM; por lo tanto, los valores obtenidos en este estudio no deberían considerarse como estimaciones alternativas o revisadas (ICES 2009b).

Todos los cálculos y análisis estadísticos se realizaron con la paquetería R (versión 2.8.1, R Development Core Team 2008).

## RESULTADOS

### Proporción de hembras activas y duración del periodo reproductivo

El  $GSI_{50}$  se estimó en 2.07 (error estándar = 0.094). El periodo de reproducción activa duró, en promedio, de seis a siete meses y fue relativamente constante para las tres temporadas de desove consideradas y entre las dos áreas geográficas (tabla 2). Considerando cada clase de talla por



## RESULTS

### Proportion of active females and duration of the reproductively active season

The  $GSI_{50}$  was estimated to be 2.07 (SE = 0.094). The reproductively active season lasted, on average, six to seven months and was relatively constant for the three spawning seasons considered and between the two geographic areas (table 2). Considering each group of fish length separately, in general larger fish showed longer reproductively active periods than smaller fish (fig. 2). Smaller sardines (<16 cm) spawned mainly from November/December to February/March. The spawning season of sardines 16–19 cm in length extended mainly from October/November to March/April.

separado, en general, los peces de mayor tamaño mostraron periodos reproductivamente activos más largos que los peces más pequeños (fig. 2). Las sardinas de menor longitud (<16 cm) desovaron principalmente de noviembre/diciembre a febrero/marzo. La temporada de desove de las sardinas de 16 a 19 cm de longitud se extendió de octubre/noviembre a marzo/abril. Las sardinas de mayor longitud (>19 cm) fueron reproductivamente activas de septiembre/octubre a abril/mayo.

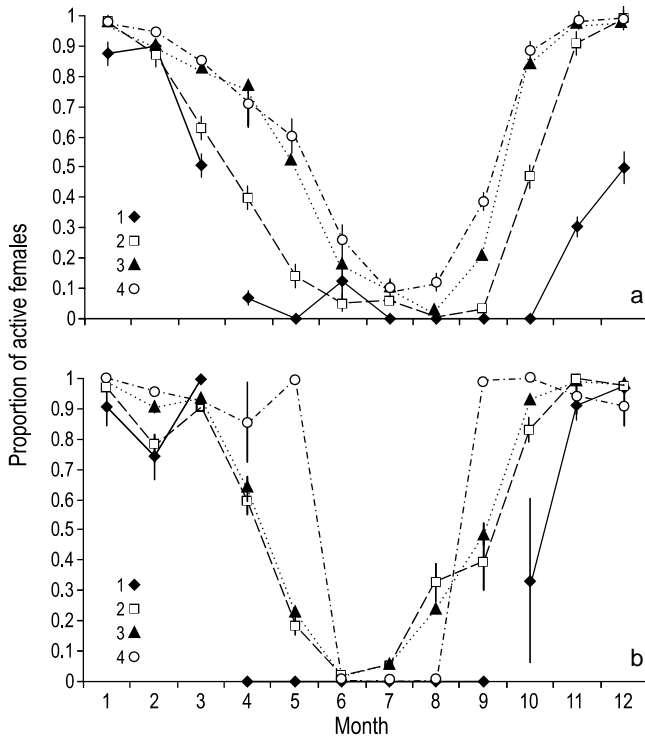
### Fecundidad parcial

Todas las covariantes analizadas (peso eviscerado ( $W_{gu}$ ), peso relativo ( $W_r$ ), área geográfica y año) afectaron significativamente la fecundidad parcial individual ( $F_b$ ). Entre las interacciones de dos vías analizadas, las interacciones entre

**Table 2.** *Sardina pilchardus*. Summary of the characteristics of the population during the spawning seasons considered in this study (corresponding approximately to the fourth quarter of one year and the first quarter of the subsequent year) for each geographic area (W: west coast; S: south coast). The duration of the reproductive activity was determined from the commercial samples. Sardine abundance, proportion of sardines with length  $\leq 16$  cm, proportion of mature females, and mean female weight were obtained from the corresponding autumn (fourth quarter) and spring (first quarter) acoustic surveys. The relative batch fecundity (number of hydrated oocytes per gram of mature female) and mean spawning fraction values were estimated from the Daily Egg Production Method surveys (January–February). Values between brackets correspond to standard deviation.

**Tabla 2.** *Sardina pilchardus*. Resumen de las características de la población durante las temporadas de desove consideradas en este estudio (correspondiendo aproximadamente al cuarto trimestre de un año y al primer trimestre del año subsiguiente) para cada área geográfica (W: costa oeste; S: costa sur). La duración de la actividad reproductiva se determinó a partir de las muestras comerciales. La abundancia de sardinas, la proporción de sardinas de longitud  $\leq 16$  cm, la proporción de hembras maduras y el peso medio de las hembras se obtuvieron de los muestreos acústicos de otoño (cuarto trimestre) y primavera (primer trimestre). La fecundidad parcial relativa (número de ovocitos por gramo de hembra madura) y los valores medios de la fracción desovante se estimaron a partir de los muestreos del Método de Producción Diaria de Huevos (enero a febrero). Los valores en paréntesis indican la desviación estándar.

Characteristic	Area	2001	2002	2004	2005	2007	2008
		4th quarter	1st quarter	4th quarter	1st quarter	4th quarter	1st quarter
Duration of spawning activity (days)	W	111	97	100	112	100	119
	S	77	116	84	103	95	116
Sardine total abundance ( $\times 10^9$ )	W	14.31	11.59	–	22.84	6.77	4.80
	S	10.95	9.13	–	2.39	2.91	2.24
Proportion of sardines of length $\leq 16$ cm	W	0.55	0.52	–	0.88	0.38	0.37
	S	0.68	0.58	–	0.23	0.33	0.58
Proportion of mature females	W	0.63	0.67	–	0.21	0.68	0.86
	S	0.87	0.96	–	1.00	0.98	0.38
Mean female weight (g)	W	45.2 (14.0)	37.0 (11.2)	–	38.8 (21.6)	77.3 (15.7)	55.7 (13.8)
	S	36.1 (18.2)	33.2 (11.1)	–	50.6 (13.1)	52.4 (19.1)	54.9 (11.3)
Relative batch fecundity	W	–	399 (64)	–	–	–	462 (108)
	S	–	336 (78)	–	371 (92)	–	423 (95)
Spawning fraction	W	–	0.056 (0.010)	–	0.064 (0.010)	–	0.077 (0.010)
	S	–	0.048 (0.009)	–	0.139 (0.017)	–	0.086 (0.015)
Annual population fecundity ( $\times 10^{14}$ )	W	4.38	2.64	–	2.60	6.60	3.29
	S	1.94	2.45	–	2.77	2.60	0.99
Annual female fecundity ( $\times 10^4$ )	W	10.25	7.15	–	10.28	24.79	21.22
	S	4.12	5.63	–	24.44	15.90	19.96



**Figure 2.** *Sardina pilchardus*. Monthly evolution of the proportion of active females for each group of fish length (1: length < 16 cm, 2: 16 ≤ length < 19 cm, 3: 19 ≤ length < 22 cm, 4: length ≥ 22 cm) and for each geographic area: (a) west coast and (b) south coast. Mean values (for the years 2001, 2002, 2004, 2005, 2007, and 2008) ± standard deviation (considering the methodology used to obtain these proportions [see Material and Methods], the standard deviations may not represent all the variability of the estimates); 1 to 12 correspond to the months of January to December.

**Figura 2.** *Sardina pilchardus*. Evolución mensual de la proporción de hembras activas para cada clase de talla (1: longitud < 16 cm, 2: 16 ≤ longitud < 19 cm, 3: 19 ≤ longitud < 22 cm, 4: longitud ≥ 22 cm) y para cada área geográfica: (a) costa oeste y (b) costa sur. Valores medios (para los años 2001, 2002, 2004, 2005, 2007 y 2008) ± desviación estándar (considerando la metodología empleada para obtener estas proporciones [ver Materiales y Métodos], las desviaciones estándares podrían no representar toda la variabilidad de las estimaciones); 1 a 12 corresponden a los meses de enero a diciembre.

Larger sardines (>19 cm) were reproductively active from September/October to April/May.

### Batch fecundity

All covariates tested (gutted weight ( $W_{gu}$ ), relative weight ( $W_r$ ), geographic area, year) significantly affected the individual batch fecundity ( $F_b$ ). Among the two-way interactions tested, the ones between  $W_r$  and year or area, and between  $W_{gu}$  and year were not significant, suggesting that the effect of condition on  $F_b$  was similar for all years and areas, and that the effect of  $W_{gu}$  on  $F_b$  was similar between years. The model

**Table 3.** *Sardina pilchardus*. Results of the model used to analyze the relationship between individual batch fecundity ( $F_b$ ) and gutted weight ( $W_{gu}$ ), relative weight ( $W_r$ ), geographic area, and year:  $F_b \sim W_{gu} + \text{area} + \text{year} + W_r + W_{gu} \times \text{area}$ .

**Tabla 3.** *Sardina pilchardus*. Resultados del modelo usado para analizar la relación entre la fecundidad parcial individual ( $F_b$ ) y el peso eviscerado ( $W_{gu}$ ), el peso relativo ( $W_r$ ), el área geográfica y el año:  $F_b \sim W_{gu} + \text{área} + \text{año} + W_r + W_{gu} \times \text{área}$ .

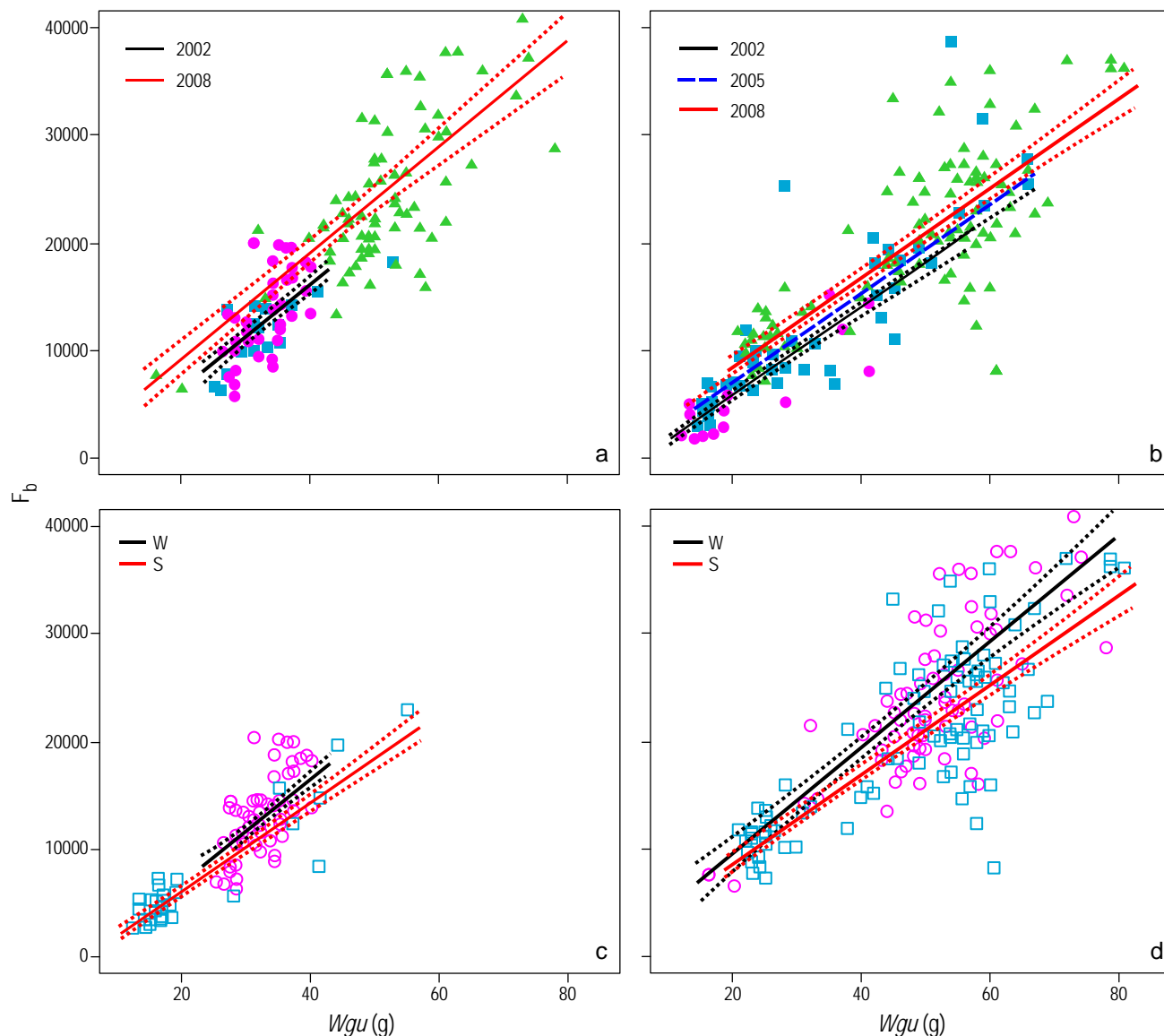
	Estimate	Standard error	% Deviance
$F_b \sim W_{gu} + \text{area} + \text{year} + W_r + W_{gu} \times \text{area}$			85.3
(Intercept)	1110.40	1681.42	
$W_{gu}$	413.96	17.53	69.6
$W_{gu} \cdot \text{Area}$	76.41	34.10	
Area W	-721.58	1160.26	6.1
Year 2005	1225.77	371.36	
Year 2008	2859.17	462.83	12.7
$W_r$	-3633.65	1663.39	1.6
			AIC: 6528

$W_r$  and año o área, y entre  $W_{gu}$  y año no fueron significativas, lo cual sugiere que el efecto de condición sobre  $F_b$  fue similar para todos los años y las áreas, y que el efecto de  $W_{gu}$  sobre  $F_b$  fue similar entre años. El modelo que explicó 85.3% de la variabilidad observada y que mejor se ajustó a los datos fue:

$$F_b \sim W_{gu} + \text{área} + \text{año} + W_r + W_{gu} \times \text{área} \quad (6)$$

No obstante, la contribución de cada covariante a la desviación explicada por el modelo fue diferente:  $W_{gu}$  (y su interacción de dos vías con el área) es el factor que más afectó  $F_b$ , contribuyendo 69.6% de la variabilidad (tabla 3);  $F_b$  también varió significativamente entre años, pero la contribución del factor año a la desviación explicada por el modelo fue menor (12.7%). La condición ( $W_r$ ), aunque significativa, parece haber afectado  $F_b$  sólo marginalmente y de forma negativa, contribuyendo <2% de la desviación explicada por el modelo.

Los valores observados y los predichos por el modelo de  $F_b$  se graficaron contra  $W_{gu}$  por área geográfica y por año analizado (en el modelo de predicción se utilizaron valores medios de  $W_r$  por año y por área) (fig. 3). Las gráficas muestran cómo la relación positiva entre  $F_b$  y  $W_{gu}$  varió geográficamente: en 2002 y 2008 (no hay datos disponibles para la costa oeste en 2005),  $F_b$  fue mayor en la costa oeste que en la costa sur para la mayor parte del intervalo de peso corporal (excepto para los peces de menor tamaño). La  $F_b$  también cambió interanualmente, siendo menor en 2002 que en 2008 para todo el intervalo de peso corporal de los peces analizados.



**Figure 3.** *Sardina pilchardus*. Plot of the observed and model-predicted values of individual batch fecundity ( $F_b$ ) against gutted weight ( $W_{gu}$ ) for the (a) west coast and (b) south coast (●: 2002, ■: 2005, ▲: 2008), and for (c) 2002 and (d) 2008 (○: west coast, □: south coast); no comparative analysis for 2005 was possible. Full or dashed lines: model-predicted curves; dotted lines:  $\pm$  two standard errors.

**Figura 3.** *Sardina pilchardus*. Gráfica de los valores observados y predichos por el modelo de la fecundidad parcial individual ( $F_b$ ) contra el peso viscerado ( $W_{gu}$ ) para (a) la costa oeste y (b) la costa sur (●: 2002, ■: 2005, ▲: 2008), y para (c) 2002 y (d) 2008 (○: costa oeste, □: costa sur); no fue posible realizar un análisis comparativo para 2005. Líneas continuas o discontinuas: curvas predichas por el modelo; líneas punteadas:  $\pm$  dos errores estándar.

that explained 85.3% of the observed variability and better fit the data set was:

$$F_b \sim W_{gu} + \text{area} + \text{year} + W_r + W_{gu} \times \text{area} \quad (6)$$

However, the contribution of each of the covariates to the deviance explained by the model was different:  $W_{gu}$  (and its two-way interaction with the area) is the factor that most affected  $F_b$ , accounting for 69.6% of the variability (table 3);

### Fracción desovante

Todos los efectos principales y las interacciones de dos vías entre longitud media ( $L_m$ ) y año, y entre peso relativo medio ( $W_m$ ) y área afectaron significativamente la fracción desovante ( $S$ ). El modelo que mejor se ajustó a los datos fue:

$$S \sim L_m + W_{rm} + \text{año} + \text{área} + L_m \times \text{año} + W_{rm} \times \text{área} \quad (7)$$

$F_b$  also varied significantly between years, but the contribution of this factor to the deviance explained by the model was lower (12.7%). As for condition ( $W_r$ ), though significant, it appeared to affect  $F_b$  only marginally and negatively, accounting for less than 2% of the deviance explained by the model.

The observed and model-predicted values of  $F_b$  were plotted against  $W_{gu}$ , separately for each geographic area and year studied (mean values of  $W_r$  per year and per area were used in the model prediction) (fig. 3). The plots showed how the positive relationship between  $F_b$  and  $W_{gu}$  varied geographically: in 2002 and 2008 (data not available for the west coast in 2005),  $F_b$  was higher on the west than on the south coast for most of the fish weight range (except for the smaller fish).  $F_b$  also changed interannually, being lower in 2002 compared to 2008 for the whole range of sampled fish weights.

### Spawning fraction

All main effects and the two-way interactions between mean fish length ( $L_m$ ) and year, and between mean relative weight ( $W_{rm}$ ) and area significantly affected the spawning fraction ( $S$ ) estimate. The model that best fit the data set was:

$$S \sim L_m + W_{rm} + \text{year} + \text{area} + L_m \times \text{year} + W_{rm} \times \text{area} \quad (7)$$

The results of this GLM are summarized in table 4. The model explained a very low percentage of the deviance (18.4%), which prevents a reliable and conclusive determination of the relationship between this parameter and the covariates (especially  $L_m$  and  $W_{rm}$ ). Consequently, for the estimation of the annual population fecundity, only the mean  $S$  values estimated for each year and geographic area (west and south coasts) were subsequently used (table 2). The lowest  $S$  was obtained for 2002 and the estimated means were similar between areas, except for 2005 when  $S$  was half the value on the west coast compared to the south coast (table 2).

### Estimation of the annual population fecundity

The estimates of annual population fecundity obtained for each half of the spawning seasons and for each area were higher for the west coast in the 2001/2002 and 2007/2008 spawning seasons, the population having produced two to three times more eggs on the west coast than on the south coast, whereas in 2005 the estimates were very similar (table 2).

The first time spawners (<16 cm) and the oldest fish (>22 cm) produced proportionally less eggs (<10%) than the other groups, except on the south coast in 2001/2002 when sardines <16 cm produced ca 20–30% of the total number of eggs (fig. 4a, b). The 16–19-cm group accounted commonly for ca 20–30% of the annual population fecundity, except in

Los resultados de este GLM se resumen en la tabla 4. El modelo explicó un porcentaje bajo de la desviación (18.4%), lo cual impide una determinación confiable y concluyente sobre la relación entre este parámetro y las covariantes (especialmente  $L_m$  y  $W_{rm}$ ). Consecuentemente, para la estimación de la fecundidad anual de la población, sólo se utilizaron los valores medios de  $S$  estimados para cada área geográfica (costas oeste y sur) y año (tabla 2). El menor valor de  $S$  se obtuvo para 2002 y las medias estimadas fueron similares entre áreas, excepto para 2005, cuando el valor de  $S$  de la costa oeste fue la mitad del de la costa sur (tabla 2).

### Estimación de la fecundidad anual de la población

Las estimaciones de la fecundidad anual de la población obtenidas para cada mitad de los periodos de desove y para cada área fueron mayores para la costa oeste en las temporadas de 2001/2002 y 2007/2008, produciendo la población de dos a tres veces más huevos en la costa oeste que en la costa sur; sin embargo, en 2005 las estimaciones fueron muy similares (tabla 2).

Los individuos que desovaron por primera vez (<16 cm) y los de mayor tamaño (>22 cm) produjeron proporcionalmente menos huevos (<10%) que los otros grupos, excepto en la costa sur en 2001/2002 cuando las sardinas <16 cm produjeron alrededor de 20–30% del número total de huevos (fig. 4a, b). El grupo de 16–19 cm produjo alrededor de 20–30% de la fecundidad anual, excepto en 2001/2002 cuando en la costa oeste contribuyeron a más de la mitad de la producción total de huevos. En 2005 y 2007/2008, las sardinas de 19–22 cm fueron las que más contribuyeron a la fecundidad anual, produciendo hasta 80% del número total de huevos en la costa oeste y alrededor de 60–70% en la costa sur.

Las estimaciones de la fecundidad anual de hembras fueron alrededor de tres veces mayores en 2007/2008 que en los periodos reproductivos anteriores, mientras que las diferencias geográficas se observaron principalmente en 2005, cuando las hembras de la costa sur produjeron casi tres veces más huevos que las de la costa oeste (tabla 2). También se observó una tendencia al aumento durante las tres temporadas de desove analizadas en las cuatro clases de talla. Además, la producción de huevos por hembra madura incrementó con la talla, las sardinas de menor (<16 cm) y mayor (>22 cm) longitud siendo, respectivamente, las menos y más productivas (fig. 5a, b).

### DISCUSIÓN

Para estimar la fecundidad anual de la población, la primera tarea de este trabajo fue examinar la relación entre los parámetros reproductivos y las características biológicas de *S. pilchardus*, como talla y condición. Nuestros resultados concuerdan con la noción generalizada de que el tamaño es la característica que más afecta la actividad reproductiva

**Table 4.** *Sardina pilchardus*. Results of the model used to analyze the relationship between spawning fraction ( $S$ ) and mean fish length ( $L_m$ ), mean relative weight ( $W_m$ ), geographic area, and year:  $S \sim L_m + W_m + \text{year} + \text{area} + L_m \times \text{year} + W_m \times \text{area}$ .

**Tabla 4.** *Sardina pilchardus*. Resultados del modelo usado para analizar la relación entre la fracción desovante ( $S$ ) y la talla (longitud) media ( $L_m$ ), el peso relativo medio ( $W_m$ ), el área geográfica y el año:  $S \sim L_m + W_m + \text{año} + \text{área} + L_m \times \text{año} + W_m \times \text{área}$ .

	Estimate	Standard error	% Deviance
$S \sim L_m + W_m + \text{year} + \text{area} + L_m \times \text{year} + W_m \times \text{area}$			18.4
(Intercept)	4.80999	4.22591	
$L_m$	-0.15856	0.08351	
$L_m$ : Year 2005	0.25294	0.09425	4.6
$L_m$ : Year 2008	0.18892	0.11046	
$W_m$	-4.94631	3.74009	4.3
$W_m$ : Area W	9.22377	3.89415	3.2
Area W	-9.60498	3.88770	3.5
Year 2005	-3.61789	1.66762	2.6
Year 2008	-2.67182	2.02453	

AIC: na

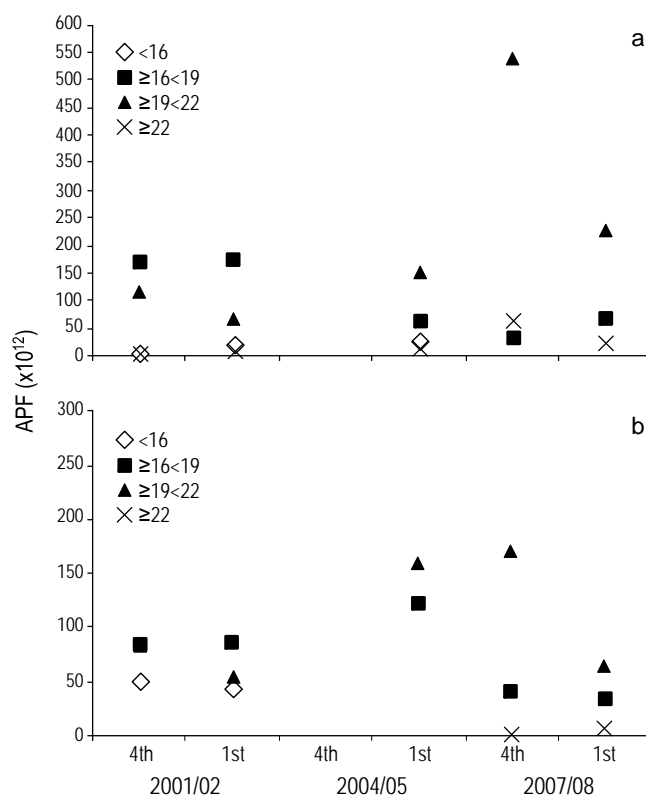
2001/2002 when on the west coast they contributed to more than half of the total egg production. In 2005 and 2007/2008, sardines measuring 19–22 cm were the group that mostly contributed to the annual population fecundity, these fish having produced up to 80% on the west coast and *ca* 60–70% on the south coast of the total number of eggs.

The annual female fecundity estimates were about three times higher in 2007/2008 compared with the previous reproductive periods, whereas geographic differences were mainly observed in 2005 when females from the south produced almost three times more eggs than the ones from the west (table 2). An increasing trend throughout the three spawning seasons studied was also noticeable in the four groups of fish length taken separately. Moreover, egg production per mature female increased with the size of the fish, the smaller (<16 cm) and larger (>22 cm) sardines being, respectively, the less and most productive ones (fig. 5a, b).

## DISCUSSION

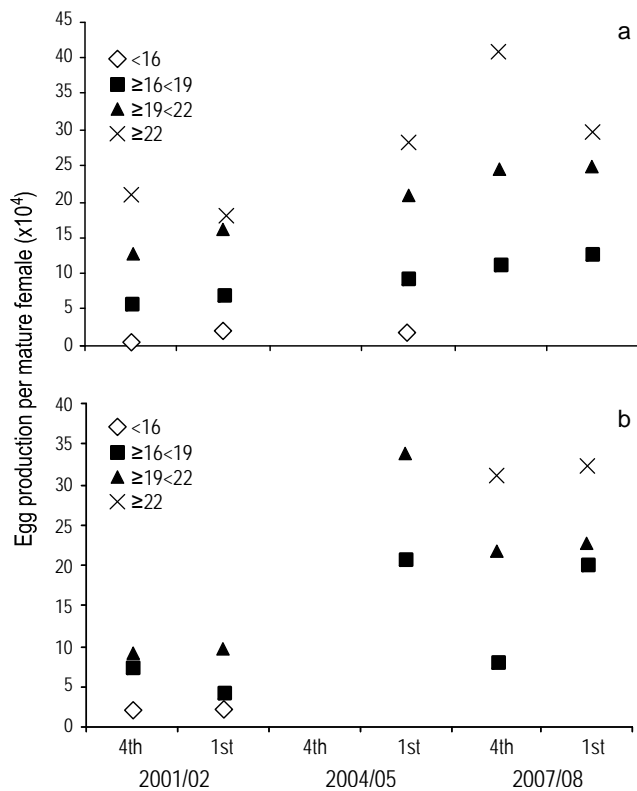
To estimate the annual population fecundity, the first task of this study was to explore the relationship between the reproductive parameters and the individual biological characteristics of *S. pilchardus*, such as size and condition. The present results are in line with the generalized notion that fish size is the characteristic that mostly affects reproductive activity (Wootton 1998). The spawning season depended on fish length, with larger sardines starting the reproductively active period earlier and ending later than smaller ones,

(Wootton 1998). La temporada de desove dependió de la talla, con los individuos de mayor longitud iniciando su periodo de reproducción activa más temprano y finalizando más tarde que los de menor longitud, aunque ambos grupos presentaron un pico de desove coincidente, corroborando resultados anteriores para la sardina (Amenzoui *et al.* 2006, Ganias *et al.* 2007b, Silva *et al.* 2006) y otras especies de clupeidos (Parrish *et al.* 1986, Lambert 1990, Cubillos y Claramunt 2009). Los peces jóvenes utilizan más energía para crecimiento, mientras que la canalización hacia reproducción incrementa con la edad (Lambert *et al.* 2003). El proceso de maduración es sensible al crecimiento y la condición energética de los peces en ciertas épocas del año;



**Figure 4.** *Sardina pilchardus*. Annual population fecundity (APF) estimated for each half of the 2001/2002, 2004/2005, and 2007/2008 spawning seasons (corresponding, respectively, to the 4th quarter of one year and the 1st quarter of the following year) and for each group of fish length (length < 16 cm,  $16 \leq \text{length} < 19$  cm,  $19 \leq \text{length} < 22$  cm, length  $\geq 22$  cm) off the (a) west and (b) south coasts; estimates not available for the fourth quarter of 2004 as the autumn acoustic survey did not occur.

**Figura 4.** *Sardina pilchardus*. Fecundidad anual de la población (APF) estimada para cada mitad de las temporadas de desove de 2001/2002, 2004/2005 y 2007/2008 (que corresponden, respectivamente, al cuarto trimestre de un año y al primer trimestre del siguiente año) y para cada clase de talla (longitud < 16 cm,  $16 \leq \text{longitud} < 19$  cm,  $19 \leq \text{longitud} < 22$  cm, longitud  $\geq 22$  cm) en las costas (a) oeste y (b) sur; se carecen de estimaciones para el cuarto trimestre de 2004 ya que no se realizó el muestreo acústico de otoño.



**Figure 5.** *Sardina pilchardus*. Female fecundity estimated for each half of the 2001/2002, 2004/2005, and 2007/2008 spawning seasons (corresponding, respectively, to the 4th quarter of one year and the 1st quarter of the following year) and for each group of fish length (length < 16 cm, 16 ≤ length < 19 cm, 19 ≤ length < 22 cm, length ≥ 22 cm) off the (a) west and (b) south coasts; estimates not available for the fourth quarter of 2004 as the autumn acoustic survey did not occur.

**Figura 5.** *Sardina pilchardus*. Fecundidad de las hembras estimada para cada mitad de las temporadas de desove de 2001/2002, 2004/2005 y 2007/2008 (que corresponden, respectivamente, al cuarto trimestre de un año y al primer trimestre del siguiente año) y para cada clase de talla (longitud < 16 cm, 16 ≤ longitud < 19 cm, 19 ≤ longitud < 22 cm, longitud ≥ 22 cm) en las costas (a) oeste y (b) sur; se carecen de estimaciones para el cuarto trimestre de 2004 ya que no se realizó el muestreo acústico de otoño.

though both had a coincident spawning peak, corroborating earlier results for this (Amenzoui *et al.* 2006, Ganas *et al.* 2007b, Silva *et al.* 2006) and other clupeid species (Parrish *et al.* 1986, Lambert 1990, Cubillos and Claramunt 2009). Young fish expend more energy on growth, while investment in reproduction increases with age (Lambert *et al.* 2003). The maturation process is sensitive to the fish growth and energetic status at particular times of the year; maturation likely depends on several biological and/or environmental factors that determine the energy available to the fish and the resource allocation strategy between growth and reproduction (Wright 2007).

es probable que la maduración dependa de varios factores biológicos y/o ambientales que determinan la energía disponible para el pez y la estrategia de la asignación de recursos entre crecimiento y reproducción (Wright 2007).

En el caso de la mayoría de los teleósteos, la fecundidad parcial también está en función de la talla ya que está ligada al volumen de la cavidad corporal disponible para acomodar ovocitos maduros (Wootton 1998). Las relaciones entre la fecundidad parcial y el peso de las hembras normalmente son lineales, aunque recientemente se registró un aumento en la fecundidad relativa (número de huevos producidos por unidad de peso de la hembra) con longitud para el arenque islándico y la merluza europea (Óskarsson y Taggart 2006, Mehault *et al.* 2010). La fecundidad parcial de la sardina estuvo linealmente relacionada con el peso corporal, lo que significa que la fecundidad relativa se mantuvo constante con la talla corporal.

Se ha observado que la fracción desovante está relacionada con las tallas de hembras de varios peces teleósteos (Parrish *et al.* 1986, Claramunt *et al.* 2007, Mehault *et al.* 2010). En el caso del presente estudio, los menores valores medios de la fracción desovante se registraron en los años cuando los valores medios de peso también eran menores (2001/2002 para toda el área muestreada y 2005 en la costa oeste), lo que sugiere que la actividad desovante de la sardina puede, hasta cierto grado, estar relacionada con la composición de tallas de las hembras de la población; sin embargo, el modelo que se ajustó no indica claramente la existencia de una relación entre la fracción desovante y la longitud corporal de hembras. Una posible razón para el enmascaramiento de tal efecto es el hecho de que la fracción desovante es un parámetro poblacional mientras que la longitud corporal es un parámetro individual. Los valores de longitud empleados en el modelo fueron estimaciones medias que pueden no representar la variabilidad del amplio intervalo de longitudes en la población. La posibilidad de estimar el intervalo entre desoves para cada hembra madura (y por ende la fracción desovante a nivel poblacional) sería de mucha utilidad en la evaluación de la relación entre este parámetro y la talla individual.

Los parámetros reproductivos, y en particular la fecundidad parcial, también pueden resultar indirectamente afectados por otros factores debido a diferencias en las estrategias de asignación de energía y a la influencia sobre talla/peso corporal de (1) los factores ambientales que afectan la condición (como la disponibilidad de alimento y la temperatura), (2) la actividad desovante previa, y/o (3) los efectos dependientes de la densidad (Claramunt *et al.* 1994, Kjesbu *et al.* 1998, Plaza *et al.* 2002, Kurita *et al.* 2003, Takasuka *et al.* 2005, Kim *et al.* 2006). Nuestros resultados indican, al contrario, un menor efecto de la condición corporal en la fecundidad parcial. Al recolectarse los datos durante las campañas del DEPM en enero y febrero, la condición de la sardina en general está a un nivel mínimo (Figueiredo y Santos 1988, Silva *et al.* 2008); no es posible descartar la

For most teleosts, batch fecundity is also a function of fish size as it is linked to the volume of the body cavity available to accommodate the mature oocytes (Wootton 1998). Relationships between batch fecundity and female weight are usually linear, although an increasing relative fecundity (number of eggs produced per unit of female weight) with length was recently reported for Icelandic summer-spawning herring and European hake (Óskarsson and Taggart 2006, Mehault *et al.* 2010). Sardine batch fecundity was linearly related to body weight, which means that relative fecundity remained constant with body size.

Spawning fraction is reported to be related to female sizes in several teleost fish (Parrish *et al.* 1986, Claramunt *et al.* 2007, Mehault *et al.* 2010). In the case of the present study, lower values of mean spawning fraction were observed in years when mean female weights were also lower (2001/2002 for the whole sampled area and in 2005 off the west coast), suggesting that sardine spawning activity may, to some extent, be related to the population female size composition. However, the model fitted to the present data was not able to clearly indicate the existence of a relationship between spawning fraction and female body length. One possible reason for the masking of such effect is the fact that spawning fraction is a population parameter while body length is an individual parameter. The length values used in the model were mean estimates that may not represent the variability of the wide range of lengths in the population. The possibility of estimating the interspawning interval for each mature female (and thus the spawning fraction at population level) would undoubtedly help in evaluating the relationship between this parameter and the individual fish size.

Reproductive parameters, and in particular batch fecundity, may also be affected indirectly by other factors through differences in energy allocation strategies and the influence on fish body size/weight of (1) environmental factors affecting condition (such as food availability and temperature), (2) previous spawning activity, and/or (3) density-dependent effects (Claramunt *et al.* 1994, Kjesbu *et al.* 1998, Plaza *et al.* 2002, Kurita *et al.* 2003, Takasuka *et al.* 2005, Kim *et al.* 2006). The present results indicated, on the contrary, a minor effect of body condition on batch fecundity. When fecundity data are collected during the DEPM surveys in January and February, sardine condition is commonly at a minimum level (Figueiredo and Santos 1988, Silva *et al.* 2008); one cannot rule out the possibility that a stronger relationship would exist between batch fecundity and sardine body condition at the beginning of the spawning season when condition is usually maximal. On the other hand, it has been suggested that the sardine uses not only capitalized (stored) energy to support egg production, but as the reproductive season progresses it could also rely directly on current income (from food) (Ganias 2009), the relationship between body condition and reproductive investment (fecundity) becoming weaker. Additionally, though weak, the relationship obtained between batch fecundity and body condition was negative (*i.e.*,

posibilidad de que existiera una relación más fuerte entre la fecundidad parcial y la condición corporal a principios de la temporada de desove cuando la condición es normalmente máxima. Por otro lado, se ha sugerido que la sardina no sólo utiliza energía capitalizada (almacenada) para apoyar la producción de huevos, sino que al progresar la temporada de desove, también puede depender directamente de la energía entrante (del alimento) (Ganias 2009), debilitándose la relación entre la inversión en la reproducción (fecundidad) y la condición corporal. Además, aunque débil, la relación obtenida entre la fecundidad parcial y la condición corporal fue negativa (*i.e.*, las hembras con mayor fecundidad parcial tendrían una menor condición corporal), posiblemente reflejando la inversión energética en la producción de huevos. Alternativamente, las hembras de mayor tamaño (con mayor fecundidad parcial) usualmente inician la actividad reproductiva antes que las de menor tamaño, y es posible que para enero y febrero ya hayan puesto más tandas y consecuentemente quemado más energía, resultando en una menor condición corporal.

En el presente trabajo los parámetros reproductivos también mostraron variaciones espaciales y temporales. Tal variabilidad ha sido registrada para peces teleósteos, probablemente relacionada con el efecto que tienen las condiciones ambientales fluctuantes en el tiempo y espacio sobre la condición de los individuos, la energía canalizada a reproducción y, por ende, la fecundidad (Blanchard *et al.* 2003, Takasuka *et al.* 2005, Leal *et al.* 2009). La fecundidad parcial difiere significativamente entre años y áreas, con valores generalmente mayores en la costa oeste que en la costa sur y una tendencia al aumento hacia la temporada de desove de 2007/2008. Además, estas diferencias fueron consistentes en todos los intervalos de peso corporal analizados, lo que sugiere que para la misma talla, las hembras produjeron más huevos en la costa oeste que en la costa sur en 2008 que en 2002. Por tanto, hipotetizamos que las sardinas hembras estuvieron expuestas a mejores condiciones de alimentación o crecimiento en la costa oeste en comparación con la costa sur. En aguas ibéricas occidentales, los eventos intensos y persistentes de surgencia mantienen una producción de plancton considerable en primavera y verano, las principales épocas de crecimiento y almacenamiento de energía de la sardina. En invierno, el aporte de nutrientes por un aumento en los escurrimientos fluviales en la costa oeste de Portugal también puede promover, en ciertos años, una productividad de plancton significativa, cuando la actividad reproductiva de la sardina es máxima (Santos *et al.* 2007).

Las estimaciones de la fracción desovante media fueron particularmente bajas en 2002, y en 2005 estos valores fueron sustancialmente diferentes entre las dos áreas geográficas (mitad del valor para la costa oeste en comparación con la costa sur). Tales diferencias han sido descritas en la literatura para otros peces teleósteos y normalmente se relacionan con la condición y talla corporal del pez en una zona o año dado (Alheit 1989, Korta *et al.* 2010). En el presente caso, la pobre

females with higher batch fecundity would have a lower body condition), perhaps reflecting the energetic investment in the production of the eggs. Alternatively, larger females (that have higher batch fecundity) usually start reproducing earlier than smaller ones, and in January and February may thus have already released more batches and consequently burnt up more energy, resulting in a lower body condition.

The present study also showed spatial and temporal variations of the reproductive parameters. Such variability is commonly reported among teleost fish, most probably related to the effect that fluctuating environmental conditions in time and space have on the individual's condition, energy allocated to reproduction, and thus fecundity (Blanchard *et al.* 2003, Takasuka *et al.* 2005, Leal *et al.* 2009). Batch fecundity differed significantly between years and areas, with generally higher values on the west coast than on the south coast and an increasing trend towards the 2007/2008 spawning season. Moreover, these differences were consistent across the range of female body weights sampled, suggesting that for the same size, females produced more eggs off the west than the south coast in 2008 compared to 2002. We thus hypothesize that female sardines have been exposed to better feeding or growth conditions on the west coast compared to the south coast. In western Iberian waters, an intense and persistent upwelling sustains considerable plankton production in spring and summer, the main growth and energy storage seasons for sardine. Moreover, in winter, nutrient input by increasing river runoff on the west coast of Portugal can also promote, in certain years, significant plankton productivity in winter, when sardine reproductive activity peaks (Santos *et al.* 2007).

Mean spawning fraction estimates were particularly low in 2002, and in 2005 these values were substantially different between the two geographic areas (half the value on the west coast compared to the south coast). Such differences have already been described in the literature for other teleost fish, and are usually related to fish size and condition in a given area or year (Alheit 1989, Korta *et al.* 2010). In the present case, the poor explanatory relationship obtained between the spawning fraction and the individual biological characteristics makes it difficult to attempt to elucidate which factors could affect sardine spawning activity and thus explain the differences observed. If, however, we do not reject the hypothesis of sardine spawning activity being to some extent related to the population length structure (as referred previously), this could be a possible explanation for the differences observed: important recruitment levels were reported for the Atlanto-Iberian sardine stock in 2000 and 2004 (off the west coast), and in 2001 (off the south coast) (Silva *et al.* 2009), which resulted in an increase of the population's proportion of first time (recruit) spawners and consequently a lower spawning activity for these spawning seasons and areas.

In this first attempt to estimate sardine population annual fecundity, relative fecundity and spawning fraction were

relación explicativa obtenida entre la fracción desovante y las características biológicas individuales dificulta la dilucidación de cuáles factores podrían afectar la actividad desovante de la sardina y poder explicar las diferencias observadas; sin embargo, si no se rechaza la hipótesis de que la actividad desovante se relaciona hasta cierto punto con la estructura de tallas de la población (como ya se mencionó), esto podría ser una explicación para las diferencias observadas: se registraron niveles de reclutamiento importantes para la población de sardina iberoatlántica en 2000 y 2004 (en la costa oeste) y en 2001 (en la costa sur) (Silva *et al.* 2009), lo que produjo un incremento en la proporción de reclutas de la población y consecuentemente una menor actividad desovante para estas áreas y temporadas de desove.

En este primer intento para estimar la fecundidad anual de la población de sardina, se consideró que la fecundidad relativa y la fracción desovante permanecían constantes durante todo el periodo de reproducción activa, y que eran equivalentes a los valores obtenidos durante el pico del periodo de desove (cuando se realizan las campañas del DEPM). Sin embargo, es bien conocido que estos parámetros reproductivos también varían estacionalmente para muchas especies, el patrón estacional frecuentemente presentando una forma de domo, primero incrementando al principio de la temporada de desove hasta alcanzar el pico de actividad máxima y luego decreciendo hacia el final de la temporada (Hunter y Leong 1981, Alheit 1989, Claramunt *et al.* 1994, Macchi *et al.* 2004, Claramunt *et al.* 2007, Korta *et al.* 2010, Mehault *et al.* 2010). Se carece de información sobre la variabilidad estacional de la fracción desovante para la sardina iberoatlántica, pero ya se ha mostrado que la fecundidad relativa presenta el patrón temporal mencionado arriba (Zwolinski *et al.* 2001). Por lo tanto, lo más probable es que las fecundidades anuales de la población sean valores sobreestimados.

Las estimaciones de la fecundidad anual de las hembras por clase de talla mostraron que la producción de huevos incrementó con el tamaño, las sardinas de menor (<16 cm) y mayor (>22 cm) longitud contribuyendo, respectivamente, a la menor y mayor proporción de la producción anual de huevos. Varios reportes en la literatura han indicado que las hembras de mayor tamaño y edad contribuyen relativamente más a la productividad de la población—debido a una mayor fecundidad, un periodo reproductivo más largo o desoves más frecuentes, o una combinación de estas características (Gundersen *et al.* 2000, Macchi *et al.* 2004, Mehault *et al.* 2010)—y a la supervivencia de los neonatos (Carr y Kaufman 2008) que las hembras más pequeñas y jóvenes. Además, hay evidencia de que en varias poblaciones sobreexplotadas el haber retirado los individuos mayores podría haber causado un decremento del potencial reproductivo de la población, probablemente obstaculizando su recuperación (Birkeland y Dayton 2005).

A nivel poblacional, tanto la abundancia como la estructura de tallas de la población influyen su potencial reproductivo. El grupo de longitud corporal que contribuyó



considered to remain constant during the whole reproductively active season, and to equal the values obtained at the peak spawning period (when the DEPM surveys are carried out). Yet it is well known that these reproductive parameters also vary seasonally for many species, the seasonal pattern often presenting a dome shape: first increasing from the beginning of the spawning season to a maximum activity peak, and then decreasing towards the end of the season (Hunter and Leong 1981, Alheit 1989, Claramunt *et al.* 1994, Macchi *et al.* 2004, Claramunt *et al.* 2007, Korta *et al.* 2010, Mehault *et al.* 2010). Information on the seasonal variability of the spawning fraction is lacking for the Atlanto-Iberian sardine, but relative fecundity has already been shown to present the above temporal pattern (Zwolinski *et al.* 2001). The annual population fecundities obtained are thus most likely overestimated values.

Female annual fecundity estimates per length group showed that egg production increased with fish size, the smaller (<16 cm) and larger (>22 cm) sardines contributing, respectively, to the smallest and the largest proportion of the annual egg production. Numerous reports in the literature have indicated that larger/older females contribute relatively more to the stock productivity—through higher fecundity, longer reproductive season or more frequent spawning, or a combination of these characteristics (Gundersen *et al.* 2000, Macchi *et al.* 2004, Mehault *et al.* 2010)—and to offspring survival (Carr and Kaufman 2008) than smaller/younger ones. Moreover, there is increasing evidence that in several overexploited stocks the removal of these oldest/largest individuals could have led to a decrease in the stock's reproductive potential, likely hampering their recovery (Birkeland and Dayton 2005).

At the population level, both abundance and size structure of the population will influence its reproductive potential. The length group that showed the highest contribution to egg production was the one comprising sardines from 19 to 22 cm, despite not being the most productive at the individual level. This is explained by their relatively high abundance in the population; for example, in 2007/2008, females of this length group represented half of the population abundance (V Marques, unpubl. results). In 2001 and 2007/2008, the point estimates of population egg production were higher for the west coast than for the south coast: the population abundances were of the same order of magnitude, the reproductively active period and the spawning fraction estimates were similar for the two areas, but the impact of higher individual relative batch fecundity off the west coast seemed to have dominated, resulting in higher annual fecundities in this area. On the contrary, in 2005, though population abundance was one order of magnitude higher off the west coast, the annual population fecundity estimates were similar for the two areas: the higher spawning fraction in the south coast partly accounted for this difference (no spatial comparisons were possible for batch fecundity); additionally, the west coast population was mainly composed of young individuals,

mayormente a la producción de huevos fue el que incluía los ejemplares de 19 a 22 cm, a pesar de no ser el más reproductivo a nivel individual. Esto se atribuye a su abundancia relativamente alta en la población; por ejemplo, en 2007/2008, las hembras de este grupo representaron la mitad de la abundancia poblacional (V Marques, datos no publicados). En 2001 y 2007/2008, las estimaciones para la producción de huevos de la población fueron mayores para la costa oeste que para la costa sur: las abundancias poblacionales fueron del mismo orden de magnitud, las estimaciones de la fracción desovante y el periodo de reproducción activa fueron similares para las dos áreas, pero el impacto de la mayor fecundidad parcial individual relativa en la costa oeste parece haber dominado, resultando en mayores fecundidades anuales en esta zona. Al contrario, en 2005, aunque la abundancia poblacional fue un orden de magnitud mayor en la costa oeste, las estimaciones de la fecundidad anual poblacional fueron similares para las dos áreas: la mayor fracción desovante en la costa sur explica parcialmente esta diferencia (no fue posible realizar comparaciones espaciales para la fecundidad parcial); además, la población de la costa oeste estuvo compuesta principalmente por individuos jóvenes, que proporcionalmente producen menos huevos. Se han encontrado tendencias similares para el arenque *Clupea harengus* que desova en primavera, para el cual se sobreestimó la producción de huevos total en relación con el número de desovantes cuando reclutas predominaban en la población (Ndjaula *et al.* 2010). Parrish *et al.* (1986) también mostraron que, en la costa de California, el potencial reproductivo de una tonelada de anchovetas *Engraulis mordax* de cuatro y más años de edad era 7.3 veces mayor que el de una tonelada de anchovetas de un año de edad.

En general, estos resultados corroboran la noción de que cambios en la estructura de tallas y edad de la población (hembras más jóvenes tienen una fecundidad proporcionalmente menor, una temporada de desove más corta y probablemente desovan con menor frecuencia), así como cambios espaciales y temporales de las condiciones ambientales (afectando la condición corporal de los peces y consecuentemente su fecundidad, la duración del periodo reproductivo, etc.) pueden alterar la productividad de la población y provocar una ausencia de proporcionalidad entre la biomasa desovante, el potencial reproductivo y el reclutamiento (Marteinsdottir y Thorarinnsson 1998, Marshall *et al.* 2003, Scott *et al.* 2006, Morgan 2008). Además, en peces clupeidos pequeños como la sardina, se considera que los factores ambientales juegan un papel importante en el éxito del reclutamiento (Cole y McGlade 1998, Borges *et al.* 2003), y consecuentemente esto último depende no sólo del potencial reproductivo de la población sino también de las condiciones ambientales prevalecientes en las primeras etapas de sus vidas que afectan la supervivencia de los huevos y las larvas. No obstante, el potencial reproductivo indudablemente representa el vínculo inicial entre biomasa desovante y reclutamiento; de hecho, cuando una abundancia poblacional

which proportionally produced fewer eggs. Similar trends were reported for the Norwegian spring-spawning herring, for which total egg productions were overestimated in relation to spawning stock numbers at times when the stock was dominated by recruit spawners (Ndjaula *et al.* 2010). Parrish *et al.* (1986) also demonstrated that one ton of four-year-old (and older) northern anchovies off California had a reproductive potential 7.3 times higher than one ton of one-year-old anchovies.

Overall, these results corroborate the notion that changes in the age/size structure of the population (younger females have a proportionally lower fecundity, shorter spawning season, and probably spawn less frequently) as well as changes in time and space of the environmental conditions (affecting the body condition of the fish and consequently also the fecundity, the duration of the reproductive season, etc.) can alter the population productivity and result in an absence of proportionality between the spawning stock biomass, the reproductive potential, and the subsequent recruitment (Marteinsdottir and Thorarinsson 1998, Marshall *et al.* 2003, Scott *et al.* 2006, Morgan 2008). Moreover, in small clupeid fish like sardine, environmental factors are also believed to play an important role in determining the recruitment success (Cole and McGlade 1998, Borges *et al.* 2003), and consequently the latter is not only dependent on the population's reproductive potential but also on the environmental conditions prevailing during early-life history and that will affect egg and larval survival. Nevertheless, the reproductive potential undoubtedly represents the initial link between spawning stock biomass and recruitment; indeed, when a given population abundance falls under critical levels, causing the stock fecundity to decrease to very low numbers, recruitment may fail even under the most favourable environmental conditions, as observed for the Norwegian spring-spawning herring during the 1970s (Serebryakov 1990).

The present work presented a first attempt to estimate the annual population fecundity after having evaluated the spatial and temporal variability of the reproductive parameters of *S. pilchardus* in Atlantic Iberian waters. Future studies should examine the seasonal variability of batch fecundity and spawning fraction to correctly integrate egg production to the entire reproductive season. Age-length keys could be used to convert female lengths to ages and thus estimate the contribution of each age/cohort to the population egg production. Finally, this work did not include an estimation of the annual fecundity variance/uncertainty that should be quantified in order to allow comparative tests between the estimates and thus better assess interannual and spatial changes in the population reproductive potential.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The first author was supported by a postdoctoral scholarship from the Portuguese Foundation of Science and Technology (FCT, SFRH/BPD/46349/2008). The authors

dada cae por debajo de niveles críticos, provocando que la fecundidad poblacional disminuya a números muy bajos, el reclutamiento puede fallar aun bajo las condiciones ambientales más favorables, como se observó para *C. harengus* en la década de los setenta (Serebryakov 1990).

El presente trabajo presentó un primer intento para estimar la fecundidad anual de la población, después de evaluar la variabilidad espacial y temporal de los parámetros reproductivos de *S. pilchardus* en aguas iberoatlánticas. Estudios futuros deberían examinar la variabilidad estacional de la fecundidad parcial y la fracción desovante para extrapolar la producción de huevos a todo el periodo reproductivo. Se podrían usar claves edad-talla para convertir las longitudes corporales de las hembras a edades y estimar la contribución de cada edad/cohorta a la producción de huevos de la población. Finalmente, en este trabajo no se estimó la varianza (incertidumbre) de la fecundidad anual, lo cual debería cuantificarse para permitir pruebas comparativas entre las estimaciones y poder evaluar mejor los cambios interanuales y espaciales en el potencial reproductivo de la población.

#### AGRADECIMIENTOS

El primer autor fue apoyado con un beca postdoctoral de la Fundación de Ciencia y Tecnología de Portugal (FCT, SFRH/BPD/46349/2008). Los autores agradecen a E Soares y el personal técnico su apoyo en la recolección de datos en INRB-IPIMAR, a bordo del buque de investigación y en los diferentes puertos de desembarque. La recolección de las muestras de sardina de la flota cerquera, así como las campañas acústicas y del DEPM se realizaron con apoyo del programa de muestreo portugués integrado al Programa Europeo de Recolección de Datos. Los autores agradecen a Y Stratoudakis sus comentarios valiosos durante el desarrollo de este trabajo y la preparación del manuscrito; a MC Nunes, J Oliveira y P Abreu el procesamiento histológico de las gónadas; a R Domínguez la traducción al español del resumen; y a un revisor anónimo sus comentarios y sugerencias que ayudaron a mejorar el manuscrito. Finalmente, se agradece a COST Action FA0601 ("Fish Reproduction and Fisheries", FRESH).

Traducido al español por Christine Harris.

---

wish to thank E Soares and the technical staff for the collection of data at INRB-IPIMAR, onboard the research vessel and at the different landing harbours. The collection of the sardine samples from the purse-seine fisheries as well as the DEPM and acoustic surveys were supported by the Portuguese sampling program integrated in the EU Data Collection Regulation. The authors are grateful to Y Stratoudakis for helpful comments during the development of the study and manuscript preparation. The authors also thank MC Nunes, J Oliveira, and P Abreu for the histological processing of the

gonads; R Domínguez for the translation of the abstract into Spanish; and one anonymous reviewer for the comments and suggestions that helped to improve the manuscript. Thanks are due to COST Action FA0601, “Fish Reproduction and Fisheries” (FRESH).

## REFERENCES

- Afonso-Dias I, Amorim P, Silva A. 2007. Problems with assigning the ovaries of sardine (*Sardina pilchardus*) to the appropriate macroscopic maturity stage. *JMBA2 Biodiversity Records* No. 5190: 4 pp. Published on-line.
- Alheit J. 1989. Comparative spawning biology of anchovies, sardines, and sprats. *Rapp. P.-v. Réun. Cons. Perm. Int. Explor. Mer* 191: 7–14.
- Amenzoui K, Ferhan-Tachinante F, Yahyaoui A, Kifani S, Mesfioui AH. 2006. Analysis of the cycle of reproduction of *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) off the Moroccan Atlantic coast. *C. R. Biol.* 329: 892–901.
- Birkeland C, Dayton PK. 2005. The importance in fishery management of leaving the big ones. *Trends Ecol. Evol.* 20: 356.
- Blanchard JL, Frank KT, Simon JE. 2003. Effects of condition on fecundity and total egg production of eastern Scotian Shelf haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60: 321–332.
- Borges MF, Santos AMP, Crato N, Mendes H, Mota B. 2003. Sardine regime shifts off Portugal: A time series analysis of catches and wind conditions. *Sci. Mar.* 67 (Suppl. 1): 235–244.
- Carr JP, Kaufman L. 2008. Estimating the importance of maternal age, size, and spawning experience to recruitment of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Biol. Conserv.* 142: 477–487.
- Claramunt G, Herrera G, Pizarro P. 1994. Producción potencial anual de huevos por tallas en *Sardinops sagax* (Jenyns 1842) del norte de Chile. *Rev. Biol. Mar. Valparaíso* 29: 211–233.
- Claramunt G, Serra R, Castro LR, Cubillos L. 2007. Is the spawning frequency dependent on female size? Empirical evidence in *Sardinops sagax* and *Engraulis ringens* off northern Chile. *Fish. Res.* 85: 248–257.
- Cole J, McGlade J. 1998. Clupeoid population variability, the environment and satellite imagery in coastal upwelling systems. *Rev. Fish Biol. Fish.* 8: 445–471.
- Cubillos LA, Claramunt G. 2009. Length-structured analysis of the reproductive season of anchovy and common sardine off central southern Chile. *Mar. Biol.* 156: 1673–1680.
- Figueiredo I, Santos M. 1988. On sexual maturation, condition factor and gonosomatic index of *Sardina pilchardus* off Portugal (1986/1987). *ICES C/M* 1988/H:70, 27 pp.
- Ganias K. 2009. Linking sardine spawning dynamics to environmental variability. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 84: 402–408.
- Ganias K, Somarakis S, Machias A, Theodorou A. 2004. Pattern of oocyte development and batch fecundity in the Mediterranean sardine. *Fish. Res.* 67: 13–23.
- Ganias K, Nunes C, Stratoudakis Y. 2007a. Degeneration of sardine (*Sardina pilchardus*) postovulatory follicles: Structural changes and factors affecting resorption. *Fish. Bull.* 105: 131–139.
- Ganias K, Somarakis S, Koutsikopoulos C, Machias A. 2007b. Factors affecting the spawning period of sardine in two highly oligotrophic Seas. *Mar. Biol.* 151: 1559–1569.
- Gundersen AC, Nedreaas KH, Kjesbu OS, Albert OT. 2000. Fecundity and recruitment variability of Northeast Arctic Greenland halibut during 1980–1998, with emphasis on 1996–1998. *J. Sea Res.* 44: 45–54.
- Hilborn R, Walters CJ. 1992. *Quantitative Fisheries Stock Assessment: Choice, Dynamics and Uncertainty*. Chapman and Hall, UK, 570 pp.
- Hunter JR, Leong R. 1981. The spawning energetics of female northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull.* 79: 215–230.
- Hunter JR, Lo NCH, Leong RJH. 1985. Batch fecundity in multiple spawning fishes. In: Lasker (ed.), *An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, Engraulis mordax*. NOAA Tech. Rep. NMFS 36: 66–77.
- ICES (International Council for the Exploration of the Sea). 2009a. Report of the Working Group on Anchovy and Sardine (WGANSAs). 15–20 June 2009, ICES Headquarters, Copenhagen. *ICES CM* 2009/ACOM:13.
- ICES (International Council for the Exploration of the Sea). 2009b. Report of the Working Group on Acoustic and Egg Surveys for Sardine and Anchovy in ICES Areas VIII and IX (WGACEGG). 16–20 November 2009, Lisbon, Portugal. *ICES CM* 2009/LRC:20.
- Kiernan JA. 1999. *Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice*. 3rd ed. Hodder Arnold, London, 502 pp.
- Kim JY, Kim S, Choi YM, Lee JB. 2006. Evidence of density-dependent effects on population variation of Japanese sardine (*Sardinops melanosticta*) off Korea. *Fish. Oceanogr.* 15: 345–349.
- Kjesbu OS, Whitthames PR, Solemdal P, Greer Walker M. 1998. Temporal variations in the fecundity of Arcto-Norwegian cod (*Gadus morhua*) in response to natural changes in food and temperature. *J. Sea Res.* 40: 303–321.
- Korta M, Dominguez-Petit R, Murua H, Saborido-Rey F. 2010. Regional variability in reproductive traits of European hake *Merluccius merluccius* L. populations. *Fish. Res.* 104 (1–3): 64–72.
- Kurita Y, Meier S, Kjesbu OS. 2003. Oocyte growth and fecundity regulation by atresia of Atlantic herring (*Clupea harengus*) in relation to body condition throughout the maturation cycle. *J. Sea Res.* 49: 203–219.
- Lambert TC. 1990. Duration and intensity of spawning in herring *Clupea harengus* as related to the age structure of the mature population. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 39: 209–220.
- Lambert Y, Yaragina NA, Kraus G, Marteinsdottir G, Wright PJ. 2003. Using environmental and biological indices as proxies for egg and larval production of marine fish. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* 33: 115–159.
- Leal EM, Castro LR, Claramunt G. 2009. Variability in oocyte size and batch fecundity in anchoveta (*Engraulis ringens*, Jenyns 1842) from two spawning areas off the Chilean coast. *Sci. Mar.* 73: 59–66.
- Macchi GJ, Pájaro M, Ehrlich M. 2004. Seasonal egg production pattern of the Patagonian stock of Argentine hake (*Merluccius hubbsi*). *Fish. Res.* 67: 25–38.
- Marshall CT, O’Brien L, Tomkiewicz J, Köster FW, Kraus G, Marteinsdottir G, Morgan MJ, Saborido-Rey F, Blanchard JL, Secor DH, Wright PJ, Mukhina NV, Björnsson H. 2003. Developing alternative indices of reproductive potential for use in fisheries management: Case studies for stocks spanning an information gradient. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* 33: 161–190.
- Marteinsdottir G, Thorarinsson K. 1998. Improving the stock-recruitment relationship in Icelandic cod (*Gadus morhua*) by including age diversity of spawners. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55: 1372–1377.
- Marteinsdottir G, Begg GA. 2002. Essential relationships incorporating the influence of age, size and condition on variables required for estimation of reproductive potential in

- Atlantic cod *Gadus morhua*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 235: 235–256.
- Mehault S, Dominguez-Petit R, Cerviño S, Saborido-Rey F. 2010. Variability in total egg production and implications for management of the southern stock of European hake. Fish. Res. 104 (1–3): 111–122.
- Morgan MJ. 2008. Integrating reproductive biology into scientific advice for fisheries management. J. Northwest Atl. Fish. Sci. 41: 37–51.
- Murua H, Saborido-Rey F. 2003. Female reproductive strategies of marine fish species of the North Atlantic. J. Northwest Atl. Fish. Sci. 33: 23–31.
- Ndjaula HON, Nash RDM, Slotte A, Johannessen A, Kjesbu OS. 2010. Long-term changes in the total egg production of Norwegian spring-spawning herring *Clupea harengus* (L.): Implications of variations in population structure and condition factor. Fish. Res. 104 (1–3): 19–26.
- Óskarsson GJ, Taggart CT. 2006. Fecundity variation in Icelandic summer-spawning herring and implications for reproductive potential. ICES J. Mar. Sci. 63: 493–503.
- Parrish RH, Mallicoate DL, Klingbeil RA. 1986. Age dependent fecundity, number of spawnings per year, sex ratio, and maturation stages in northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish. Bull. US 84:503–517.
- Plaza G, Claramunt G, Herrera G. 2002. An intra-annual analysis of intermediate fecundity, batch fecundity and oocyte size of ripening ovaries of Pacific sardine *Sardinops sagax* in northern Chile. Fish. Sci. 68: 95–103.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, <http://www.R-project.org>.
- Santos AMP, Chicharo A, dos Santos A, Moita T, Oliveira PB, Peliz A, Ré P. 2007. Physical-biological interactions in the life history of small pelagic fish in the western Iberia upwelling ecosystem. Prog. Oceanogr. 74: 192–209.
- Scott BE, Marteinsdottir G, Begg GA, Wright PJ, Kjesbu OS. 2006. Effects of population size/age structure, condition and temporal dynamics of spawning on reproductive output in Atlantic cod (*Gadus morhua*). Ecol. Model. 191: 383–415.
- Serebryakov VP. 1990. Population fecundity and reproductive capacity of some food fishes in relation to year-class-strength fluctuations. J. Cons. Int. Explor. Mer 47: 267–272.
- Silva A, Santos MB, Caneco B, Pestana G, Porteiro C, Carrera P, Stratoudakis Y. 2006. Temporal and geographic variability of sardine maturity at length in the northeastern Atlantic and the western Mediterranean. ICES J. Mar. Sci. 63: 663–676.
- Silva A, Carrera P, Massé J, Uriarte AD, Santos MB, Oliveira PB, Soares E, Porteiro C, Stratoudakis Y. 2008. Geographic variability of sardine growth across the northeastern Atlantic and the Mediterranean Sea. Fish. Res. 90: 56–69.
- Silva A, Skagen DW, Uriarte A, Massé J, Santos MB, Marques V, Carrera P, Beillois P, Pestana G, Porteiro C, Stratoudakis Y. 2009. Geographic variability of sardine dynamics in the Iberian Biscay region. ICES J. Mar. Sci. 66: 495–508.
- Soares E, Silva A, Morais A. 2007. Workshop on Sardine Otolith Age Reading and Biology. Relatórios Científicos e Técnicos do Instituto de Investigação das Pescas e do Mar Série Digital No. 42, 57 pp + Anexos (<http://ipimar.iniap.ipimar.pt>).
- Stratoudakis Y, Bernal M, Ganius K, Uriarte A. 2006. The daily egg production method: Recent advances, current applications and future challenges. Fish Fish. 7: 35–57.
- Stratoudakis Y, Coombs S, Lago de Lanzós A, Halliday N, Costas G, Caneco B, Franco C, Conway D, Santos MB, Silva A, Bernal M. 2007. Sardine (*Sardina pilchardus*) spawning seasonality in European waters of the northeast Atlantic. Mar. Biol. 152: 201–212.
- Takasuka A, Oozeki Y, Kubota H, Tsuruta Y, Funamoto T. 2005. Temperature impacts on reproductive parameters for Japanese anchovy: Comparison between inshore and offshore waters. Fish. Res. 76: 475–482.
- Trippel EA. 1999. Estimation of stock reproductive potential: History and challenges for Canadian Atlantic gadoid stock assessments. J. Northwest Atl. Fish. Sci. 25: 61–81.
- Venables WN, Ripley BD. 2002. Modern Applied Statistics with S. 4th ed. Springer-Verlag, New York, 495 pp.
- Wege GJ, Anderson RO. 1978. Relative weight ( $W_r$ ): A new index of condition for largemouth bass. In: Novinger GD, Dillard JG (eds.), New Approaches to the Management of Small Impoundments. North Central Division, American Fisheries Society, Spec. Publ. 5, Bethesda, Maryland, pp. 79–91.
- Wood S. 2006. Generalized Additive Models: An Introduction with R. Texts in Statistical Sciences. Chapman & Hall, London, 416 pp.
- Wootton RJ. 1998. Ecology of Teleost Fishes. Kluwer Academic Publishers, Fish and Fisheries Ser. 24, London, 386 pp.
- Wright PJ. 2007. Understanding the maturation process for field investigations of fisheries-induced evolution. Mar. Ecol. Prog. Ser. 335: 279–283.
- Zwolinski J, Stratoudakis Y, Soares E. 2001. Intra-annual variation in the batch fecundity of sardine off Portugal. J. Fish Biol. 58: 1633–1645.

Received May 2010;  
accepted October 2010.