

## Reproductive biology of the rock goby, *Gobius paganellus* (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae), on the southern Tunisian coast (Gulf of Gabes)

## Biología reproductiva del gobio de roca, *Gobius paganellus* (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae), en la costa del sur de Túnez (golfo de Gabes)

F Hajji\*, A Ouannes-Ghorbel, M Ghorbel, O Jarboui

Institut National des Sciences et Technologies de la Mer (INSTM), BP 1035, 3018 Sfax, Tunisia.

\* Corresponding author. E-mail: ferid.hajji@yahoo.fr

**ABSTRACT.** The rock goby *Gobius paganellus* is one of the most common gobiid fish on the southern Tunisian coast and this study provides the first detailed information on its reproductive biology in the Gulf of Gabes. A total of 356 males (8.9–14 cm total length, TL) and 273 females (9.1–14.3 cm TL) were analyzed. Specimens were dissected and their gonads and livers were removed. Mean size at sexual maturity ( $TL_{50}$ ; i.e., length at which 50% of the fish are mature) was estimated for males and females by fitting the logistic Gompertz function to the proportion of mature fish per centimeter size class. The gonadosomatic index, the seminal vesicle-somatic index (SVSI), the hepatosomatic index, and the condition index were calculated on a monthly basis. In the entire population, the sex ratio was unbalanced, males dominating among larger size classes. The reproductive period started in October and lasted until March, and the spawning season was between January and March. Monthly changes in the SVSI showed that during the pre-spawning period they have a proliferation phase, followed by a regressive phase during the post-spawning period. The use of lipid reserves, stored predominantly in the liver as well as in muscles, was important during the reproductive season. The estimated length at sexual maturity was  $11.44 \pm 0.25$  cm for males and  $10.37 \pm 0.23$  cm for females. Total fecundity ranged from 5280 to 14,320 eggs per fish, with an average of  $8565 \pm 608$  eggs per fish.

**Key words:** *Gobius paganellus*, reproduction, gonadosomatic index, size at maturity, fecundity.

**RESUMEN.** El gobio de roca *Gobius paganellus* es uno de los góbidos más comunes en la costa del sur de Túnez y este estudio proporciona la primera información detallada de su biología reproductiva en el golfo de Gabes. Se analizaron un total de 365 machos (8.9–14 cm de longitud total, LT) y 273 hembras (9.1–14.3 cm LT). Los peces fueron disecados y se retiraron las gónadas y el hígado. Se estimó la talla media de madurez sexual ( $LT_{50}$ ; i.e., la longitud a la cual el 50% de los individuos han alcanzado la madurez sexual) para machos y hembras mediante el ajuste de la función logística de Gompertz a la proporción de peces maduros en cada clase de talla. Se calcularon el índice gonadosomático, el índice somático de las vesículas seminales (SVSI), el índice hepatosomático y el índice de condición sobre una base mensual. En toda la población, la proporción de sexos fue desequilibrada, los machos dominando en las tallas mayores. El periodo de reproducción comenzó en octubre y duró hasta marzo y la temporada de desove fue de enero a marzo. Las variaciones mensuales del SVSI mostraron que tienen una fase de proliferación durante el periodo de pre-desove y una fase regresiva durante el periodo de posdesove. La utilización de reservas lipídicas, almacenadas principalmente en el hígado así como en los músculos, fue considerable durante la temporada de reproducción. La talla de madurez sexual se estimó en  $11.44 \pm 0.25$  cm para los machos y en  $10.37 \pm 0.23$  cm para las hembras. La fecundidad total varió de 5280 a 14,320 huevos por individuo, con un promedio de  $8565 \pm 608$  huevos por individuo.

**Palabras clave:** *Gobius paganellus*, reproducción, índice gonadosomático, madurez sexual, fertilidad.

### INTRODUCTION

The rock goby *Gobius paganellus* is a relatively large-goby inhabiting the coastal rocky shores of the Mediterranean Sea, the Black Sea, and the northwestern Atlantic, from Scotland to Senegal (Miller 1986, Engin *et al.* 2007, Fricke *et al.* 2007). It is a common inshore and intertidal species, occurring under stones and in pools on sheltered rocky shores with much weed cover (Miller 1986). This fish is found along most of the Tunisian coast, and in some lagoons (Ghar El Melh, Bizerte, Ichkeul, El Bibène) and Lake Tunis (Menif 2000). In the Gulf of Gabes it was recorded for the first time by Ben Othman (1973).

### INTRODUCCIÓN

El gobio de roca *Gobius paganellus* es un góbido relativamente grande que habita en las costas rocosas del mar Mediterráneo, el mar Negro y el Atlántico noroccidental, de Escocia a Senegal (Miller 1986, Engin *et al.* 2007, Fricke *et al.* 2007). Es una especie intermareal común que se encuentra debajo de rocas y en pozos en zonas rocosas protegidas con mucha cobertura algal (Miller 1986). Esta especie se encuentra a lo largo de la costa tunecina, así como en algunas lagunas (Ghar El Melh, Bizerte, Ichkeul, El Bibène) y el lago de Túnez (Menif 2000). En el golfo de Gabes fue registrado por primera vez por Ben Othman (1973).

Its biology has been studied in some areas of the Mediterranean (Gibson 1972, Maze 2004) and Atlantic (Miller 1961, Dunne 1978, Azevedo and Simas 2000, Engin and Seyhan 2009). An assessment of the reproductive biology of a species is basically important to understand its ecology and to develop effective conservation measures. In view of the lack of current information on the biology of *G. paganellus* on the coast of Tunisia, this study aimed to report basic information on its reproductive biology in the Gulf of Gabes by analyzing the sex ratio, annual cycle of gonad development, seminal vesicle-somatic index, size at first sexual maturity, and fecundity. In addition, the hepatosomatic index (Fouda *et al.* 1993) and the condition index (Kartas and Quignard 1984) were also analyzed to obtain information on the general physiological status of the animals.

## MATERIAL AND METHODS

A sample of 629 individuals ranging from 8.9 to 14.3 cm in total length (TL) was used to study reproduction. Specimens were collected weekly between August 2009 and July 2010 from several artisanal fishing gears on the southern coast of Tunisia (fig. 1). In the laboratory, the TL of each individual was measured to the nearest 0.01 cm. The total mass and eviscerated fish mass (EM) were measured using an electronic balance and recorded to the nearest 0.01 g. The livers and gonads were removed. Fish were sexed on the basis of the shape of the genital papilla (Gandolfi *et al.* 1991). The dissection allowed us to confirm the sex and to determine the degree of sexual maturity. Gonads were macroscopically staged according to the gonad development classification for gobies based on a five-point scale of maturity (Miller 1961):

- Stage I: immature, beginning of gametogenesis; gonads are not developed and sex is distinguishable only by the shape of the genital papilla.
- Stage II: developing virgin and recovering spent.
- Stage III: ripening; gonads developed and made of a compact tissue, white streamer line in males and yellow granular in females.
- Stage IV: ripe, reproductive stage; inflated and ripe gonads, for females and for males.
- Stage V: spent; ovary and testes empty, loose, red. Few remains of eggs in resorption process.

The gonad mass (GM) and liver mass (LM) were recorded to the nearest 0.001 g. Additionally, in males, the mass of the testes (GM) was weighed separately from seminal vesicle mass (SVM). The changes in sex proportion were analyzed according to size and months. Sex proportion was calculated using the formula:

$$\text{Proportion of males (\%M)} = M \times 100 / (M + F) \quad (1)$$

Su biología ha sido estudiada en algunas zonas del Mediterráneo (Gibson 1972, Maze 2004) y el Atlántico (Miller 1961, Dunne 1978, Azevedo y Simas 2000, Engin y Seyhan 2009). La evaluación de la biología reproductiva de una especie es importante para entender su ecología y para desarrollar medidas de conservación efectivas. Ante la falta de información actual de la biología de *G. paganellus* en la costa de Túnez, el objetivo de este trabajo fue generar información básica de su biología reproductiva en el golfo de Gabes mediante el análisis de la proporción de sexos, el ciclo anual de desarrollo gonádico, el índice somático de las vesículas seminales, la talla de primera madurez sexual y la fecundidad. También se analizaron el índice hepatosomático (Fouda *et al.* 1993) y el índice de condición (Kartas y Quignard 1984) para evaluar el estado fisiológico general de los animales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se usó una muestra de 629 individuos de 8.9 a 14.3 cm de longitud total (LT) para estudiar la reproducción. Los especímenes fueron recolectados semanalmente entre agosto de 2009 y julio de 2010 de varias artes de pesca artesanal en la costa del sur de Túnez (fig. 1). En el laboratorio, se midió la LT de cada individuo al 0.01 cm más cercano. Se midieron la masa total y la masa eviscerada (ME) con una balanza electrónica al 0.01 g más cercano. Se retiraron el hígado y las gónadas. Los peces se sexaron con base en la forma de la papila genital (Gandolfi *et al.* 1991). La disección permitió confirmar el sexo, así como determinar el grado de madurez sexual. Las gónadas fueron analizadas macroscópicamente según la escala de cinco estadios de madurez gonádica para góbidos (Miller 1961):

- Estadio I: inmaduro, inicio de la gametogénesis; gónadas aún no desarrolladas y el sexo es distinguible sólo por la forma de la papila genital.
- Estadio II: desarrollo; virgen y recuperación para un próximo desove.
- Estadio III: en maduración; gónadas desarrolladas, consistentes de tejido compacto, línea alargada de color blanco en machos y de aspecto granuloso y color amarillo en hembras.
- Estadio IV: madurez, etapa reproductiva; gónadas infladas y maduras, para hembras y machos.
- Estadio V: desove; ovarios y testículos vacíos, flácidos y de color rojo. Pocos remanentes de huevos en proceso de resorción.

La masa de las gónadas (MG) y la masa del hígado (MH) se registraron al 0.001 g más cercano. Para los machos, la masa testicular (MG) y la masa de vesículas seminales (MVS) se pesaron por separado. Los cambios en la proporción de sexos se analizaron según la talla y el mes; ésta se calculó con la siguiente fórmula:

where  $M$  is the number of males,  $F$  is the number of females, and  $M + F$  is the total number of males and females.

The annual reproductive cycle was studied using maturity stages and calculating the gonadosomatic index (GSI, where  $GSI = 100 GM EM^{-1}$ ) and the seminal vesicle-somatic index (SVSI, where  $SVSI = 100 SVM EM^{-1}$ ) (Patzner *et al.* 1991) for monthly samples.

Accumulation and depletion of reserves in the liver and muscles of the rock goby in the Gulf of Gabes were studied by analyzing the monthly changes in the hepatosomatic index (HSI, where  $HSI = 100 LM EM^{-1}$ ; Fouda *et al.* 1993) and in the condition index (K, where  $K = 100 \times (EM/(TL)^3)$ ; Kartas and Quignard 1984).

Statistically significant deviations from a balanced sexual proportion of 1:1 were assessed by the  $\chi^2$  test, with statistical significance considered at  $P < 0.05$  (Zar 1996). Analysis of variance, followed by Tukey's *post hoc* test (Zar 1996), was used to confirm critical differences in the indexes (GSI, HSI, and K) per month. The results are presented as the mean ( $\pm$  confidence interval) and the significance level used for the tests was  $P = 0.05$ .

Ripe female fish (39) were used to estimate the fecundity; small pieces from each pair of ovaries were weighed to the nearest 0.1 mg and preserved in a 7% formalin solution. After approximately three months, the ovaries were carefully washed under running water in order to separate the oocytes from the tissue. For the fecundity estimation, the volumetric method was employed. The ovaries were placed in a beaker with a known volume of water and mixed with a magnetic stirrer. Five subsamples were obtained from the ovaries of each fish with a 2-mL Stempel pipette and tested for homogeneity of variance. The diameter of the oocytes was measured

$$\text{Proporción de machos (\%M)} = M \times 100 / (M + H) \quad (1)$$

donde  $M$  es el número de machos,  $H$  es el número de hembras y  $M + H$  es el número total de machos y hembras.

El ciclo reproductivo anual se analizó considerando las etapas de madurez y calculando el índice gonadosomático (IGS, donde  $IGS = 100 MG ME^{-1}$ ) y el índice somático de las vesículas seminales (ISVS, donde  $ISVS = 100 MVS ME^{-1}$ ) (Patzner *et al.* 1991) para muestras mensuales.

La acumulación y el agotamiento de las reservas en el hígado y los músculos de *G. paganellus* del golfo de Gabes se estudió mediante el análisis de cambios mensuales en el índice hepatosomático (IHS, donde  $IHS = 100 MH ME^{-1}$ ; Fouda *et al.* 1993) y el índice de condición (K, donde  $K = 100 \times (ME/(LT)^3)$ ; Kartas y Quignard 1984).

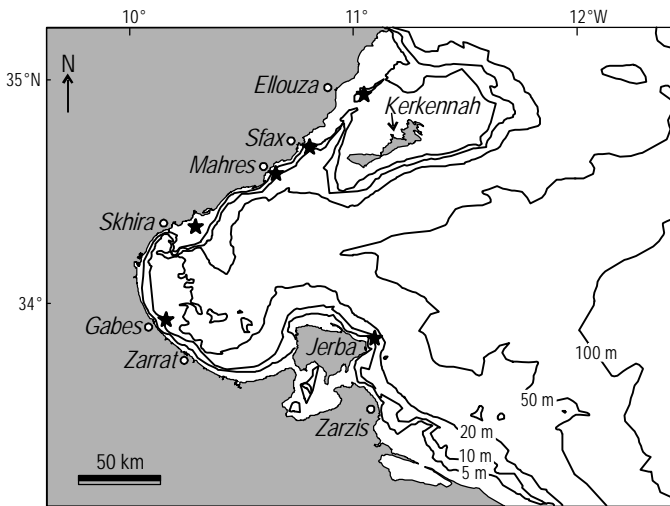
Se evaluaron las desviaciones estadísticamente significativas de una proporción sexual balanceada de 1:1 mediante una prueba  $\chi^2$ , con un nivel de significancia de  $P < 0.05$  (Zar 1996). Se aplicó un análisis de varianza, seguido de la prueba *post hoc* de Tukey (Zar 1996), para determinar las diferencias críticas mensuales en los índices (IGS, IHS y K). Los resultados se presentan como la media ( $\pm$  intervalo de confianza) y se usó un nivel de significancia de  $P = 0.05$ .

Para estimar la fecundidad, se analizaron 39 hembras maduras; se pesaron pequeños trozos de cada par de ovarios al 0.1 mg más cercano y se preservaron en una solución de formalina al 7%. Después de aproximadamente tres meses, los ovarios fueron enjuagadas cuidadosamente bajo agua corriente para separar los ovocitos del tejido. La fecundidad fue estimada con el método volumétrico. Los ovarios se colocaron en un vaso de precipitado con un volumen conocido de agua y el contenido se mezcló con un agitador magnético. Se obtuvieron cinco submuestras de los ovarios de cada hembra con una pipeta Stempel de 2 mL y se verificó la homogeneidad de varianzas. Se midió el diámetro de los ovocitos con un microscopio de disección provisto de un micrómetro ocular. Para establecer la relación entre la fecundidad y la LT, ME y MG, se utilizó el modelo de multiplicación regresiva ( $y = ax^b$ ).

La talla de primera madurez se estimó para machos y hembras con base en la proporción de especímenes maduros (estadios II a V, Miller 1961). La talla de primera madurez, definida como la longitud a la cual el 50% de los individuos han alcanzado la madurez sexual, se estimó mediante una función logística ajustada para la proporción de individuos maduros agrupados en clases de 1 cm LT. Se aplicó el algoritmo cuasi-Newton para la estimación no lineal por mínimos cuadrados de parámetros funcionales a los datos según la siguiente ecuación:

$$P = 1 / (1 + e^{-a(LT - LT_{50})}) \quad (2)$$

donde  $P$  es la proporción de individuos maduros,  $a$  es el parámetro estimado (pendiente de la curva),  $LT$  es la longitud



**Figure 1.** Sampling areas of *Gobius paganellus* in the Gulf of Gabes (southern Tunisia). Isobaths are indicated with grey lines.

**Figura 1.** Zonas de muestreo de *Gobius paganellus* en el golfo de Gabes (sur de Túnez). Las isóbatas se indican con líneas grises.

under a dissecting microscope equipped with an ocular micrometer. To establish the relationship between fecundity and TL, EM, and GM, the multiplicative regression model ( $y = ax^b$ ) was used.

The length at first maturity, independent for males and females, was estimated by the proportion of mature specimens (stages II to V, Miller 1961). The length at first maturity, defined as the length at which 50% of the fish are mature, was estimated using a logistic function fitted to the proportion of the mature specimens pooled in 1-cm length classes (TL). The quasi-Newton algorithm for non-linear least square estimation of function parameters was applied to data according to the following equation:

$$P = 1 / (1 + e^{-a(TL - TL_{50})}) \quad (2)$$

where  $P$  is the proportion of mature individuals,  $a$  is the estimated parameter (slope of the curve), TL is the total length corresponding to  $P$ , and  $TL_{50}$  is the total length of 50% mature fish.

The results were tested using the  $\chi^2$  test (Scherrer 1984):

$$\chi^2 = \sum (Mi - nPi)^2 / nPi \quad (3)$$

where  $Mi$  is the number of observed mature individuals in size  $i$  and  $nPi$  is the estimated number of mature individuals in size  $i$ .

## RESULTS

### Sexuality

In total, 629 specimens were examined, of which 356 were males and 273 females. The sex ratio (male:female) was 1.30:1, which was significantly divergent from unity (1:1,  $\chi^2 = 33.57$ ,  $P < 0.001$ ). Table 1 shows the monthly variations of the sex ratio. This ratio was balanced (equal to 50%) in August, September, January, February, March, April, May, June, and July, but it favored males in October, November, and December. The value of the  $\chi^2$  test indicates significant differences between months in which males were dominant. The sex ratio was balanced (equal to 50%) for smaller individuals (TL < 12 cm). Above 12 cm, the proportion of males increased progressively and showed a significant abundance when compared to females (table 2).

### Seasonal gonadal changes

Monthly changes in the GSI for female *G. paganellus* are illustrated in figure 2. There were no significant changes in the GSI from August to October and from April to July ( $P > 0.05$ ), but there was a gradual increase from October (1.10) to November (3.56) ( $P < 0.05$ ), followed by a notable increase from December (4.71) to January (7.60) ( $P < 0.05$ ), and then a significant decrease until March ( $P < 0.05$ ).

total correspondiente a  $P$  y  $LT_{50}$  es la longitud total de 50% de los individuos maduros.

Los resultados se analizaron con la prueba  $\chi^2$  (Scherrer 1984):

$$\chi^2 = \sum (Mi - nPi)^2 / nPi \quad (3)$$

donde  $Mi$  es el número de individuos maduros observados en la talla  $i$  y  $nPi$  es el número de individuos maduros estimados en la talla  $i$ .

## RESULTADOS

### Sexualidad

Se examinaron un total de 629 especímenes, de los cuales 356 fueron machos y 273 hembras. La proporción de sexos (machos:hembras) fue 1.30:1, la cual difiere significativamente de la proporción 1:1 ( $\chi^2 = 33.57$ ,  $P < 0.001$ ). En la tabla 1 se muestran las variaciones mensuales de la proporción de sexos, que fue balanceada (igual a 50%) en agosto, septiembre, enero, febrero, marzo, abril, mayo, junio y julio, pero favoreció a los machos en octubre, noviembre y diciembre. El valor de la prueba  $\chi^2$  indica diferencias significativas entre los meses cuando predominaron los machos. La proporción de sexos fue balanceada (igual a 50%) para los individuos más pequeños (LT < 12 cm). Para los individuos mayores de 12 cm, la proporción de machos aumentó progresivamente y mostró una abundancia significativa en comparación con las hembras (tabla 2).

### Cambios gonádicos estacionales

En la figura 2 se muestran los cambios mensuales en el IGS para las hembras de *G. paganellus*. No se presentaron cambios significativos de agosto a octubre y de abril a julio ( $P > 0.05$ ), pero hubo un incremento gradual de octubre (1.10) a noviembre (3.56) ( $P < 0.05$ ), seguido de un aumento notable de diciembre (4.71) a enero (7.60) ( $P < 0.05$ ) y luego un decremento significativo hasta marzo ( $P < 0.05$ ).

Los cambios mensuales en el IGS para los machos de *G. paganellus* (fig. 3) mostraron un aumento gradual de octubre (0.42) a febrero (0.64) ( $P < 0.05$ ), seguido de una fuerte disminución de febrero a marzo (0.48) ( $P < 0.05$ ); no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) de agosto a septiembre y de abril a julio. Las vesículas seminales presentaron sus máximas extensiones en enero (ISVS =  $0.67 \pm 0.09$ ) (fig. 3). De agosto a octubre y de abril a julio, la MSV fue mínima y no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el ISVS durante estos periodos. El periodo de noviembre a enero se caracterizó por un incremento notable en MVS ( $P < 0.05$ ). El ISVS decreció significativamente ( $P < 0.05$ ) hasta alcanzar un valor de  $0.41 \pm 0.05$  en marzo (fig. 3).

Monthly changes in the GSI for male *G. paganellus* (fig. 3) were marked by a gradual increase from October (0.42) to February (0.64) ( $P < 0.05$ ), followed by a marked decrease from February to March (0.48) ( $P < 0.05$ ); there were no significant differences ( $P > 0.05$ ) from August to September and from April to July. The seminal vesicles had their maximal extensions in January (SVSI =  $0.67 \pm 0.09$ ) (fig. 3). From August to October and from April to July, the seminal vesicles reached their minimal mass and there were no significant differences ( $P > 0.05$ ) in SVSI during these periods. The period from November to January was characterized by an extensive increase in SVM ( $P < 0.05$ ). The SVSI decreased significantly ( $P < 0.05$ ) until reaching the value of  $0.41 \pm 0.05$  in March (fig. 3).

El IGS decreció según aumentó la talla de los machos (fig. 4:  $r$  de Pearson =  $-0.41$ ,  $P < 0.001$ ,  $N = 197$ ); esta correlación negativa aparentemente se debe a la fuerte disminución del IGS, de 8.9 a 14 cm. El ISVS presentó un patrón opuesto e incrementó junto con la talla (fig. 5:  $r$  de Pearson =  $+0.63$ ,  $P < 0.001$ ,  $N = 356$ ).

**Índice hepatosomático e índice de condición**

El IHS y K incrementaron gradualmente de agosto a noviembre. En diciembre, unas cuantas semanas antes de iniciar el desove, ambos índices mostraron una disminución. Los valores máximos del IHS para hembras y machos (7.29 y 7.20, respectivamente) se registraron en noviembre y los mínimos (3.54 y 3.04, respectivamente) en agosto ( $P < 0.05$ ).

**Table 1.** Monthly variation of the sex proportion (%) of *Gobius paganellus* in the Gulf of Gabes ( $\chi^2$  test). NS = not significant. Significant: \* =  $P < 0.05$ , \*\*\* =  $P < 0.001$ .

**Tabla 1.** Variación mensual de la proporción de sexos (%) de *Gobius paganellus* en el golfo de Gabes (prueba  $\chi^2$ ). NS = no significativo. Significativo: \* =  $P < 0.05$ , \*\*\* =  $P < 0.001$ .

Month	Total	Males	Females	% of females	% of males	$\chi^2$	$P$
August	44	23	21	47.73	52.27	0.09	0.76 NS
September	28	18	10	35.71	64.29	2.29	0.13 NS
October	29	22	7	24.14	75.86	7.76	0.01*
November	51	40	11	21.57	78.43	16.49	<0.001***
December	35	24	11	31.43	68.57	4.83	0.03*
January	101	52	49	48.51	51.49	0.09	0.77 NS
February	66	35	31	46.97	53.03	0.24	0.62 NS
March	85	46	39	45.88	54.12	0.58	0.45 NS
April	77	39	38	49.35	50.65	0.01	0.91 NS
May	54	26	28	51.85	48.15	0.07	0.79 NS
June	34	16	18	52.94	47.06	0.12	0.73 NS
July	25	15	10	40.00	60.00	1.00	0.32 NS
Total	629	356	273	43.40	56.60	33.57	<0.001***

**Table 2.** Variations in the sex proportion (%) in accordance with size of *Gobius paganellus* in the Gulf of Gabes ( $\chi^2$  test). NS = not significant. Significant: \*\*\* =  $P < 0.001$ .

**Tabla 2.** Variación de la proporción de sexos (%) según la talla de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes (prueba  $\chi^2$ ). NS = no significativo. Significativo: \*\*\* =  $P < 0.001$ .

Total length (cm)	Females		Males		$\chi^2$	$P$
	$N$	%	$N$	%		
< 10	31	51.67	29	48.33	0.07	0.80 NS
11	97	52.72	87	47.28	0.54	0.46 NS
12	112	40.00	168	60.00	11.20	<0.001***
> 13	33	31.43	72	68.57	14.49	<0.001***
Total	273	43.40	356	56.60	26.30	<0.001***

The GSI decreased with male size (fig. 4: Pearson's  $r = -0.41$ ,  $P < 0.001$ ,  $N = 197$ ); this negative correlation appears to be due to a sharp decline in GSI, from 8.9 to 14 cm. The SVSI showed the opposite pattern compared to the GSI, increasing with body size (fig. 5: Pearson's  $r = +0.63$ ,  $P < 0.001$ ,  $N = 356$ ).

### Hepatosomatic index and condition index

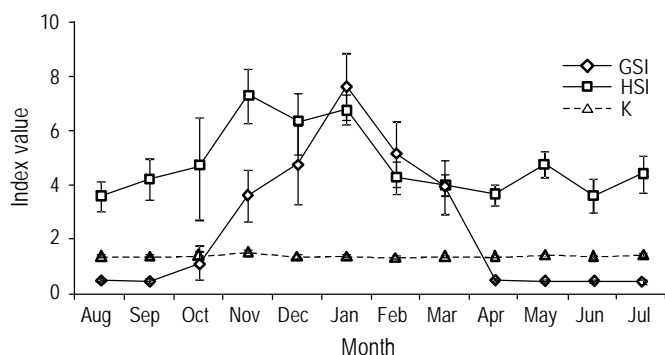
The HSI and K increased gradually from August to November. In December, a few weeks before the onset of spawning, both indices showed a decrease. The maximum HSI values for females and males (7.29 and 7.20, respectively) occurred in November and the minimum (3.54 and 3.04, respectively) in August ( $P < 0.05$ ) (figs. 2, 3). Monthly changes in K were marked by a gradual, but not significant ( $P > 0.05$ ), decrease from November (1.55) to April (1.35) for females and from November (1.58) to June (1.32) for males (figs. 2, 3).

### Size at first maturity

The changes in the proportion of mature individuals showed that immature individuals were less than 9 cm TL. Conversely, all the specimens larger than 14 cm TL were mature. According to the logistic model, the size at first sexual maturity ( $TL_{50}$ ) was  $10.37 \pm 0.23$  cm for females and  $11.44 \pm 0.25$  cm for males (fig. 6). The  $\chi^2$  statistical test did not show any significant difference between the theoretical and observed values (table 3).

### Fecundity

The 39 ripe females examined ranged from 9.8 to 13.20 cm TL, while the total mass ranged from 14.50 to



**Figure 2.** Monthly variation of the gonadosomatic index (GSI), hepatosomatic index (HSI), and condition index (K) for female *Gobius paganellus* from the Gulf of Gabes (mean  $\pm$  confidence interval).

**Figura 2.** Variación mensual del índice gonadosomático (GSI), el índice hepatosomático (HSI) y el índice de condición (K) para las hembras de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes (media  $\pm$  intervalo de confianza).

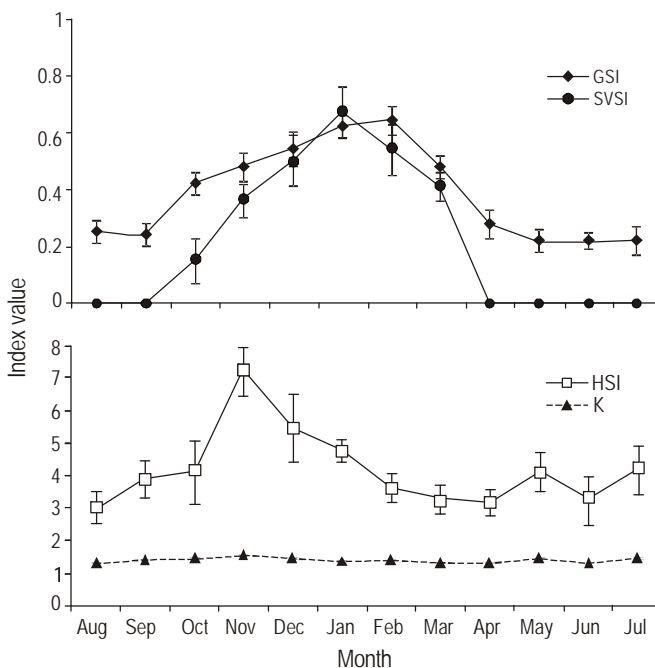
(figs. 2, 3). Los cambios mensuales en K mostraron una disminución gradual, pero no significativa ( $P > 0.05$ ), de noviembre (1.55) a abril (1.35) para las hembras y de noviembre (1.58) a junio (1.32) para los machos (figs. 2, 3).

### Talla de primera madurez sexual

Los cambios en la proporción de individuos maduros indicaron que los individuos  $< 9$  cm LT eran inmaduros y los  $> 14$  cm LT eran maduros. Según el modelo logístico, la talla de primera madurez sexual ( $LT_{50}$ ) fue de  $10.37 \pm 0.23$  cm para las hembras y de  $11.44 \pm 0.25$  cm para los machos (fig. 6). La prueba  $\chi^2$  no mostró diferencias significativas entre los valores teóricos y los observados (tabla 3).

### Fecundidad

Las 39 hembras maduras examinadas presentaron un intervalo de talla de 9.8 a 13.20 cm LT, mientras que la masa total varió de 14.50 a 35.34 g. La fecundidad absoluta osciló entre 5280 y 14,320 huevos por individuo. Las gráficas de fecundidad vs LT (fig. 7), fecundidad vs ME (fig. 8) y fecundidad vs MG (fig. 9) indicaron un modelo de regresión.



**Figure 3.** Monthly variation of the gonadosomatic index (GSI), seminal vesicle-somatic index (SVSI), hepatosomatic index (HSI), and condition index (K) for male *Gobius paganellus* from the Gulf of Gabes (mean  $\pm$  confidence interval).

**Figura 3.** Variación mensual del índice gonadosomático (GSI), el índice somático de las vesículas seminales (SVSI), el índice hepatosomático (HSI) y el índice de condición (K) para los machos de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes (media  $\pm$  intervalo de confianza).

35.34 g. The absolute fecundity varied between 5280 and 14,320 eggs per fish. The fecundity vs TL (fig. 7), fecundity vs EM (fig. 8), and fecundity vs GM (fig. 9) plots indicated a regression model.

The mean fecundity obtained for *G. paganellus* through the direct summation procedure was  $8565 \pm 608$  eggs per fish. The diameter of oocytes contained in the ovaries ranged from 0.36 to 0.87 mm, with an average of  $0.58 \pm 0.04$  mm.

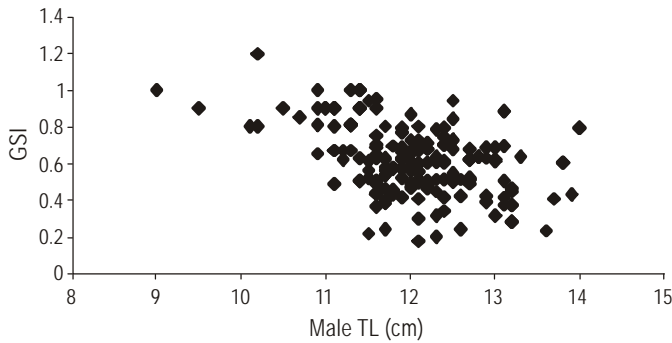
**DISCUSSION**

The maximum size of the specimens recorded in this study was similar to that reported for Atlantic populations (Azevedo and Simas 2000, Engin and Seyhan 2009). The analysis of the sex ratio showed significant differences

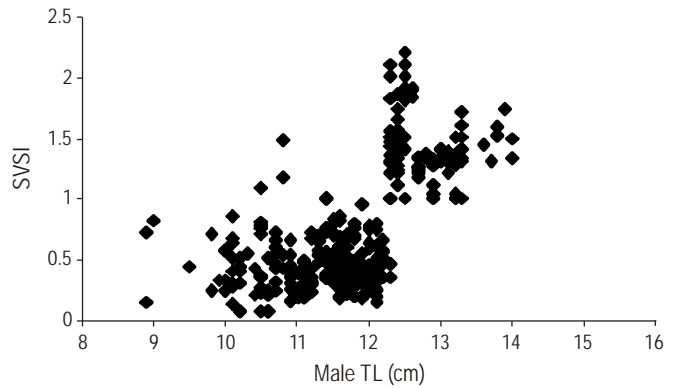
La fecundidad media obtenida para *G. paganellus* con el procedimiento de suma directa fue de  $8565 \pm 608$  huevos por individuo. El diámetro de los ovocitos en los ovarios varió de 0.36 a 0.87 mm, con un promedio de  $0.58 \pm 0.04$  mm.

**DISCUSIÓN**

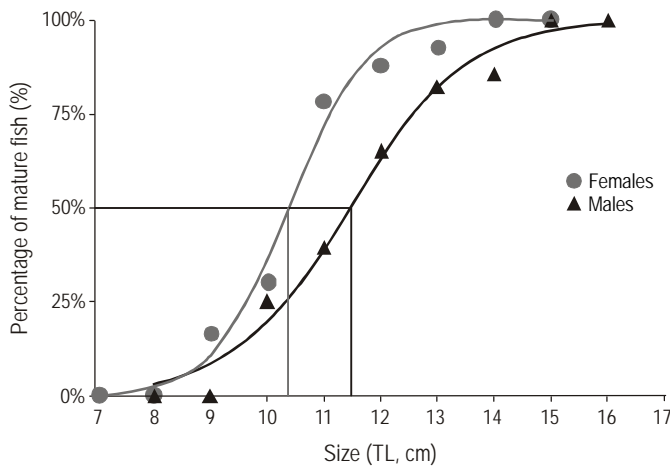
La talla máxima de los especímenes registrada en este estudio fue similar a la documentada para las poblaciones del Atlántico (Azevedo y Simas 2000, Engin y Seyhan 2009). El análisis de la proporción de sexos mostró diferencias



**Figure 4.** Relationship between the gonadosomatic index (GSI) and the total length (TL) of male *Gobius paganellus* ( $r = -0.41$ ).  
**Figura 4.** Relación entre el índice gonadosomático (GSI) y la longitud total (TL) de los machos de *Gobius paganellus* ( $r = -0.41$ ).



**Figure 5.** Relationship between the seminal vesicle-somatic index (SVSI) and the total length (TL) of male *Gobius paganellus* ( $r = +0.63$ ).  
**Figura 5.** Relación entre el índice somático de las vesículas seminales (SVSI) y la longitud total (TL) de los machos de *Gobius paganellus* ( $r = +0.63$ ).

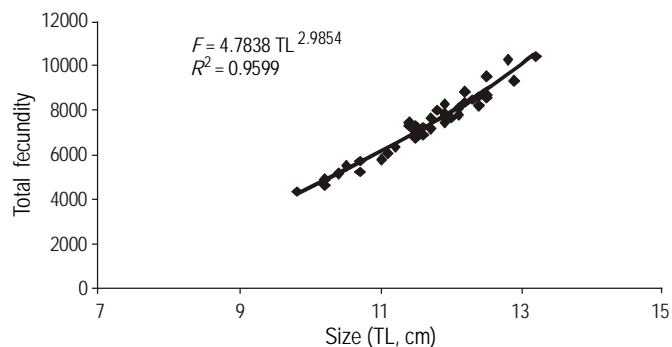


**Figure 6.** Length at first maturity ( $TL_{50}$ ) of *Gobius paganellus* from the Gulf of Gabes.  
**Figura 6.** Talla de primera madurez sexual ( $TL_{50}$ ) de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes.

**Table 3.** Parameters of the sexual maturity of *Gobius paganellus* in the Gulf of Gabes: *a*, constant;  $R^2$ , coefficient of determination;  $TL_{50}$ , total length at first sexual maturity;  $TL_{25}$ , total length at 25% sexual maturity;  $TL_{75}$ , total length at 75% sexual maturity;  $\chi^2$  test; and *P* value of significance, NS = not significant.

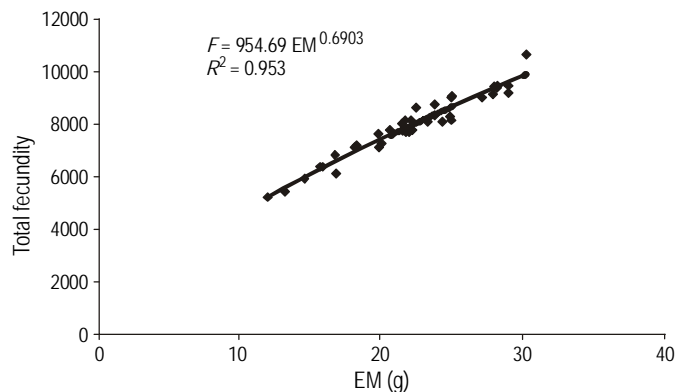
**Tabla 3.** Parámetros de la madurez sexual de *Gobius paganellus* en el golfo de Gabes: *a*, constante;  $R^2$ , coeficiente de determinación;  $TL_{50}$ , talla de primera madurez sexual;  $TL_{25}$ , talla al 25% de madurez sexual;  $TL_{75}$ , talla al 75% de madurez sexual; prueba  $\chi^2$ ; y valor de *P*, NS = no significativo.

Parameter	Females	Males
<i>a</i>	1.54	0.99
$R^2$	0.99	0.99
$TL_{50}$ (cm)	$10.37 \pm 0.23$	$11.44 \pm 0.25$
$TL_{25}$ (cm)	9.66	10.33
$TL_{75}$ (cm)	11.08	12.55
Calculated $\chi^2$	0.76	0.23
Theoretical $\chi^2$	12.59	12.59
<i>P</i>	NS	NS



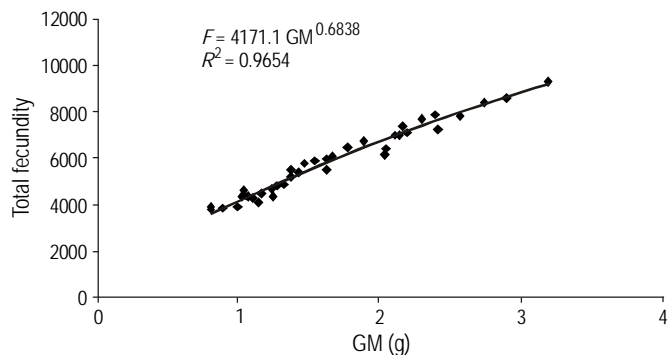
**Figure 7.** Total fecundity-total length (TL) relationship of *Gobius paganellus* from the Gulf of Gabes.

**Figura 7.** Relación entre la fecundidad total y la longitud total (TL) de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes.



**Figure 8.** Total fecundity-eviscerated fish mass (EM) relationship of *Gobius paganellus* from the Gulf of Gabes.

**Figura 8.** Relación entre la fecundidad total y la masa eviscerada (EM) de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes.



**Figure 9.** Total fecundity-gonad mass (GM) relationship of *Gobius paganellus* from the Gulf of Gabes.

**Figura 9.** Relación entre la fecundidad total y la masa gonádica (GM) de *Gobius paganellus* del golfo de Gabes.

between the proportions of males and those of females of the entire sample, according to the month and size. In the population of *G. paganellus* from the Gulf of Gabes, the monthly changes in the numerical proportions and the predominance of the males could be due to the seasonality of fishing gear use and schooling in feeding and spawning grounds. For the closely related *G. paganellus* at São Miguel (Azores), Azevedo and Simas (2000) also found a statistically significant dominance of males in the largest size classes. The sex ratio was similar to that of other gobids, such as *G. niger* from the Adriatic Sea (Fabi and Giannetti 1985), Mauguio Lagoon (Joyeux *et al.* 1992), and Aegan Sea (Filiz and Togula 2009), and *Zosterisessor ophiocephalus* from the Gulf of Gabes (Hajji *et al.* 2011). On the other hand, Miller (1961) and Dunne (1978) found no sexual differences in growth rate for *G. paganellus*; however, the former author noted the disappearance of the larger members of each age group, suggesting that selective mortality or migration to the subtidal could account for this. This disappearance could mask the effects of differences in growth rate between sexes (Azevedo and Simas 2000).

significativas entre las proporciones de machos y las de hembras de la muestra total, según el mes y la talla. En la población de *G. paganellus* del golfo de Gabes, los cambios mensuales de las proporciones numéricas y la predominancia de machos podrían deberse al uso temporal de determinadas artes de pesca y a la formación de cardúmenes en las zonas de alimentación y desove. Para *G. paganellus* de São Miguel (islas Azores), Azevedo y Simas (2000) también registraron una dominancia estadísticamente significativa de machos en las clases de talla mayores. La proporción de sexos fue similar a la encontrada para otros góbidos, como *G. niger* del mar Adriático (Fabi y Giannetti 1985), la laguna de Mauguio (Joyeux *et al.* 1992) y el mar Egeo (Filiz y Togula 2009), y *Zosterisessor ophiocephalus* del golfo de Gabes (Hajji *et al.* 2011). Por otro lado, Miller (1961) y Dunne (1978) no encontraron diferencias sexuales en la tasa de crecimiento de *G. paganellus*; sin embargo, el primer autor documentó la desaparición de los individuos más grandes de cada grupo de edad y sugirió que la mortalidad selectiva o migración a la zona submareal podría explicar esto. Esta desaparición podría enmascarar los efectos de las diferencias en la tasa de crecimiento entre sexos (Azevedo y Simas 2000).

Los cambios mensuales en el IGS indicaron que el ciclo sexual de las hembras se correlaciona con el de los machos de *G. paganellus* en el golfo de Gabes. De hecho, el periodo de maduración gonadal se extiende de octubre a enero y el periodo de desove de enero a marzo, mientras que la fase de inactividad sexual dura de agosto a septiembre y de abril a julio. Esta especie muestra un cambio en el tamaño relativo de la gónadas así como en el tamaño de la vesícula seminal en relación con el tamaño corporal de los machos. Los machos pequeños tienen gónadas relativamente grandes, lo que indica una producción de grandes cantidades de espermatozoides. En machos maduros de talla pequeña (LT < 10 cm), la principal función de las vesículas seminales es el almacenamiento de espermatozoides y la producción de mucina es mínima. Por otro lado, los machos de mayor tamaño



The monthly change in the GSI indicates that the sexual cycles of female and male *G. paganellus* in the Gulf of Gabes are correlated. In fact, the gonad ripening period extends from October to January, while the spawning period occurs from January to March and the sexual inactivity phase extends from August to September and from April to July. This species shows a change both in the relative gonad size and in the seminal vesicle size in relation to male body size. Small males have relatively large gonads, implying large amounts of sperm production. In small mature males (TL < 10 cm), the major function of seminal vesicles is sperm storage and mucin production is minimal. On the other hand, large males (TL > 12 cm) have relatively small gonads, implying lower relative amounts of sperm production, and the seminal vesicles produce large amounts of mucins that fill seminal vesicle chambers, causing their conspicuous enlargement. Males with an intermediate body size have seminal vesicles showing a variable mixture of sperm and mucins. The intermittent gamete release characterizing the laying of sperm trails enables parental males to spend part of the mating time patrolling nest entrances from incursions by predators or opportunistic males trying to sneak fertilizations (Mazzoldi 1999). In species with alternative male mating tactics, sneaker males produce sperm trails that are poorer in mucins, with higher sperm density and with a shorter duration than those of parental males (Mazzoldi *et al.* 2000, Rasotto and Mazzoldi 2002). These characteristics give different qualities to ejaculations, with parental male trails guaranteeing a low but steady supply of sperm for hours, while sneaker males release a high and quickly diffusing number of sperm that outnumber those of parental male for a short time (Scaggiante *et al.* 1999, Mazzoldi *et al.* 2000, Rasotto and Mazzoldi 2002, Mazzoldi *et al.* 2005).

*Gobius paganellus* saves some lipid reserves in the liver as well as in the muscles. Hence, it seems that the changes in the HSI and K are associated with the sexual cycle. Our findings are in agreement with the study carried out by Azevedo and Simas (2000) in São Miguel (Azores), who assumed that spawning of *G. paganellus* starts in January; these data are consistent with a faster larval development in the Azores. This accelerated life history of Azorean individuals may mean a shorter life span. Engin and Seyhan (2009) found that the spawning period of the rock goby occurred from March to June in the Black Sea. Off the Isle of Man, spawning takes place from mid-April to mid-June (Miller 1961). The major *Gobius* species from the northeastern Atlantic and Mediterranean Sea spawn from March to June (Gibson 1970; Vaas *et al.* 1975; Dunne 1978; Nash 1984; Vesey and Langford 1985; Joyeux *et al.* 1991; Arruda *et al.* 1993; Silva and Gordo 1997; Kovačić 2001, 2007).

For *G. paganellus* from the Gulf of Gabes, the GSI values for males were lower than those for females; this is common for most gobies (Miller 1984). So, for most fish species featuring nest guarding behavior, sperm loss is relatively negligible (Ota *et al.* 1996). For the rock goby, the seminal

(LT > 12 cm) tienen gónadas relativamente pequeñas, lo que indica una menor producción relativa de espermatozoides y que las vesículas seminales producen y se llenan de grandes cantidades de mucinas que causan su ensanchamiento conspicuo. Los machos de talla intermedia tienen vesículas seminales con una mezcla variable de espermatozoides y mucinas. La liberación intermitente de los espermatozoides le permite a los machos paternos pasar parte del periodo de apareamiento resguardando las entradas a los nidos de incursiones por predadores o machos furtivos buscando penetrar en su territorio y fecundar los huevos (Mazzoldi 1999). En especies con tácticas alternativas de apareamiento, los machos furtivos que se disfrazan de hembras depositan una mayor densidad de esperma, pero más pobre en mucinas y de menor duración que los machos paternos (Mazzoldi *et al.* 2000, Rasotto y Mazzoldi 2002). Estas características dan diferentes cualidades a las eyaculaciones, los machos paternos garantizando un suministro bajo pero constante de esperma durante horas, mientras que los machos furtivos liberan un gran número de espermatozoides que durante un tiempo corto son más numerosos que los de los machos paternos (Scaggiante *et al.* 1999, Mazzoldi *et al.* 2000, Rasotto y Mazzoldi 2002, Mazzoldi *et al.* 2005).

*Gobius paganellus* almacena algunas reservas lipídicas en el hígado así como en los músculos. Por lo tanto, los cambios en el IHS y K parecen estar asociados con el ciclo sexual. Nuestros resultados coinciden con lo encontrado por Azevedo y Simas (2000) en São Miguel (islas Azores), quienes mencionan que *G. paganellus* comienza a desovar en enero; estos datos son consistentes con un desarrollo larval más rápido en las islas Azores. Esta historia de vida acelerada de los individuos de las islas Azores puede significar una duración de vida más corta. Engin y Seyhan (2009) informaron que el periodo de desove de *G. paganellus* se extiende desde marzo hasta junio en el mar Negro. En la isla de Man, el periodo de desove comienza a mediados de abril y termina a mediados de junio (Miller 1961). Las principales especies de góbidos del Atlántico nororiental y el mar Mediterráneo desovan entre marzo y junio (Gibson 1970; Vaas *et al.* 1975; Dunne 1978; Nash 1984; Vesey y Langford 1985; Joyeux *et al.* 1991; Arruda *et al.* 1993; Silva y Gordo 1997; Kovačić 2001, 2007).

Para *G. paganellus* del golfo de Gabes, los valores del IGS fueron menores para los machos que para las hembras; esto es común para la mayoría de los góbidos (Miller 1984). Por ende, para la mayoría de los peces que protegen sus nidos, la pérdida de espermatozoides es relativamente insignificante (Ota *et al.* 1996). Las vesículas seminales de *G. paganellus* presentaron cambios temporales según el ciclo sexual; sin embargo, el cambio mensual en el ISVS mostró que durante el periodo de desove, las vesículas seminales alcanzan sus máximas extensiones en enero. Esto probablemente se deba al papel que juegan las vesículas seminales durante la construcción del nido (Ota *et al.* 1996). La

vesicles revealed seasonal changes according to the sexual cycle; however, the monthly change in SVSI showed that during the spawning period the seminal vesicles have their maximal extensions in January. This is probably due to the role of the seminal vesicles during nest building (Ota *et al.* 1996). The annual variation in the HSI showed that energy storage decreased during the spawning season and increased afterwards. A notable reduction in liver mass has been observed at the beginning or during the breeding season (Joyeux *et al.* 1992, Fouda *et al.* 1993, Kovačić 2007). The amount of somatic lipids can depend largely on the different levels of reproductive investment shown by the breeding individuals (Malavasi *et al.* 2004). In the present study, *G. paganellus* attained sexual maturity at a size of  $10.37 \pm 0.23$  cm for females and  $11.44 \pm 0.25$  cm for males. Azevedo and Simas (2000) reported that in São Miguel (Azores), the size at first maturity of *G. paganellus* was between 6 and 7 cm for both sexes. In the southeastern Black Sea, Engin and Seyhan (2009) found that length at sexual maturity ( $TL_{50}$ ) was estimated at  $5.20 \pm 0.19$  cm for males and  $5.50 \pm 0.05$  cm for females. There are big differences in size at first maturity between our study and that reported by different authors. This difference arises because sexual maturity is a function of size and may be influenced by the abundance and seasonal availability of food, temperature, photoperiod, and other environmental factors in different localities.

Fecundity of *G. paganellus* was higher in the Gulf of Gabes than in the southeastern Black Sea (Engin and Seyhan 2009). The reproductive efficiency of *G. paganellus* appears to be similar to that in the northeastern Atlantic (Miller 1961). There was a significant positive relationship between fecundity and fish length; this result is in agreement with that found by Miller (1961).

In summary, this paper gives, for the first time, basic information on the reproductive and life history traits of *G. paganellus* in southern Tunisian waters. This species displayed a winter reproductive cycle. Further studies should be done to obtain more details on the bio-ecological function of this small fish in coastal rocky habitats.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Special thanks to the technical and supporting staff of INSTM (Sfax) for their practical assistance in sampling and laboratory analysis. The authors are also grateful to the anonymous reviewers whose suggestions and comments improved the submitted manuscript.

## REFERENCES

- Arruda L, Azevedo JN, Neto AI. 1993. Abundance, age structure and growth, and reproduction of gobies (Pisces; Gobiidae) in the Ria de Aveiro Lagoon (Portugal). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 37: 509–523.
- Azevedo JMN, Simas AMV. 2000. Age and growth, reproduction and diet of a sublittoral population of the rock goby *Gobius paganellus* (Teleostei, Gobiidae). *Hydrobiologia* 440: 129–135.

variación anual del IHS mostró que el almacenamiento energético disminuyó durante la época de desove e incrementó posteriormente. Se ha observado una reducción notable de MH al principio o durante la época de apareamiento (Joyeux *et al.* 1992, Fouda *et al.* 1993, Kovačić 2007). La cantidad de lípidos somáticos puede depender en gran parte de los diferentes niveles de inversión reproductiva que muestran los individuos (Malavasi *et al.* 2004). En el presente trabajo, las hembras y los machos de *G. paganellus* alcanzaron la madurez sexual a los  $10.37 \pm 0.23$  y  $11.44 \pm 0.25$  cm, respectivamente. Azevedo y Simas (2000) informaron que en São Miguel (islas Azores), la talla de primera madurez sexual para *G. paganellus* fue de 6 a 7 cm para ambos sexos. En el mar Negro sudoriental, Engin y Seyhan (2009) encontraron que la talla de madurez sexual ( $LT_{50}$ ) fue de  $5.20 \pm 0.19$  cm para machos y de  $5.50 \pm 0.05$  cm para hembras. Hay una gran diferencia entre la talla de primera madurez sexual encontrada en el presente estudio y los valores registrados por otros autores. Esta diferencia se debe a que la madurez sexual se relaciona con el tamaño y puede ser influenciada por la abundancia y disponibilidad de alimento, temperatura, fotoperiodo y otros factores ambientales en diferentes localidades.

La fecundidad de *G. paganellus* fue mayor en el golfo de Gabes que en el mar Negro sudoriental (Engin y Seyhan 2009). La eficiencia reproductiva de *G. paganellus* parece ser similar a la observada en el Atlántico nororiental (Miller 1961). Se encontró una relación positiva y significativa entre la fecundidad y la longitud corporal; este resultado coincide con lo encontrado por Miller (1961).

En resumen, este trabajo proporciona, por primera vez, información básica sobre la reproducción e historia de vida de *G. paganellus* en aguas del sur de Túnez. Esta especie mostró un ciclo reproductivo en invierno. Se requieren estudios adicionales para obtener más detalles de la función bio-ecológica de este pequeño pez en hábitats costeros y rocosos.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al personal técnico y de apoyo del INSTM (Sfax) su asistencia durante los muestreos y análisis de laboratorio, así como a los revisores anónimos cuyos comentarios mejoraron el manuscrito.

Traducido al español por Christine Harris.

- Ben Othman S. 1973. Le sud tunisien (golfe de Gabès), hydrologie, sédimentologie, flore et faune. PhD thesis, University of Tunis, Tunisia, 166 pp.
- Dunne J. 1978. Littoral and benthic investigations on the west coast of Ireland. IX (Section A: Faunistic and ecological studies). The biology of the rock goby, *Gobius paganellus* L., at Carna. *Proc. R. Irish Acad.* 12: 179–191.
- Engin S, Seyhan K. 2009. Biological characteristics of rock goby, *Gobius paganellus* (Actinopterygii: Perciformes: Gobiidae), in the south-eastern Black Sea. *Acta Ichthyol. Pisc.* 39: 111–118.

- Engin S, Turan D, Kovačić M. 2007. First record of the red-mouthed goby, *Gobius cruentatus* (Pisces: Gobiidae), in the Black Sea. *Cybius* 31: 87–88.
- Fabi G, Giannetti G. 1985. Growth parameters of the black goby (*Gobius niger* L.) in the Adriatic Sea, based on otoliths reading. *Rapp. Comm. Int. Mer Médit.* 29: 87–90.
- Filiz H, Toğula M. 2009. Age and growth, reproduction and diet of the black goby (*Gobius niger*) from the Aegean Sea, Turkey. *J. Fish. Sci.* 3: 243–265.
- Fouada MM, Hanna MY, Fouada FM. 1993. Reproductive biology of the Red Sea goby, *Silhouettea aegyptia*, and a Mediterranean goby, *Pomatoschistus marmoratus*, in Lake Timsah, Suez Canal. *J. Fish Biol.* 43:139–151.
- Fricke R, Bilecenoglu M, Sari HM. 2007. Annotated checklist of fish and lamprey species of Turkey, including a Red List of threatened and declining species. *Stuttgarter Beitr. Naturk. A* 706: 1–169.
- Gandolfi G, Zerunian S, Torricelli P, Marconato A. 1991. I Pesci delle Acque Interne Italiane. Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato, Rome, 617 pp.
- Gibson RN. 1970. Observations on the biology of the giant goby *Gobius cobitis* Pallas. *J. Fish Biol.* 3: 281–288.
- Gibson RN. 1972. The vertical distribution and feeding relationships of intertidal fish on the Atlantic coast of France. *J. Anim. Ecol.* 41: 187–207.
- Hajji F, Ouannes-Ghorbel A, Ghorbel M, Jarboui O. 2011. Reproductive cycle and life history traits of the grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Gobiidae), in the Gulf of Gabes (central Mediterranean). *Cah. Biol. Mar.* 52: 79–88.
- Joyeux JC, Bouchereau JL, Tomasini JA. 1991. La reproduction de *Gobius niger* (Pisces, Gobiidae) dans la lagune de Mauguio, France. *Rapports gonadosomatiques, fécondités, ponte, oeufs et larves.* *Vie milieu* 41: 97–106.
- Joyeux JC, Tomasini JA, Bouchereau JL. 1992. Modalités de la reproduction de *Gobius niger* (Teleostei, Gobiidae) dans une lagune méditerranéenne. *Vie Milieu* 42: 1–13.
- Kartas F, Quignard JP. 1984. La fécondité des poissons téléostéens. *Collection de Biologie des Milieux Marins.* Ed. Masson, 121 pp.
- Kovačić M. 2001. The biology of Roule's goby in the Kvarner area, northern Adriatic Sea. *J. Fish Biol.* 59: 795–809.
- Kovačić M. 2007. Reproductive biology of the striped goby, *Gobius vittatus* (Gobiidae), in the northern Adriatic Sea. *Sci. Mar.* 71: 145–151.
- Malavasi S, Fiorin R, Franco A, Torricelli P. 2004. Somatic energy storage and reproductive investment in the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus*. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 84: 455–459.
- Maze RA. 2004. Seasonal and ontogenetic diet shifts in an intertidal population of *Gobius paganellus* (Teleostei, Gobiidae) from the Cantabrian coast. *Vie Milieu* 54: 1–6.
- Mazzoldi C. 1999. Studio comparativo della dinamica di accoppiamento e fecondazione in Teleostei ad uova demerse [A comparative study on mating behavior and fertilization dynamics in demersal spawner teleosts]. PhD Thesis, University of Padua, Italy.
- Mazzoldi C, Scaggiante M, Ambrosin E, Rasotto MB. 2000. Mating system and alternative male mating tactics in the grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei: Gobiidae). *Mar. Biol.* 137: 1041–1048.
- Mazzoldi C, Petersen CW, Rasotto MB. 2005. The influence of mating system on seminal vesicle variability among gobies (Teleostei, Gobiidae). *J. Zool. Sys.* 43: 307–314.
- Menif D. 2000. Les Gobiidae des côtes tunisiennes: Morphologie et biologie de *Zosterisessor ophiocephalus* (Pallas 1811) et *Gobius niger* (Linnaeus 1758). PhD thesis, University of Tunis, Tunisia.
- Miller PJ. 1961. Age, growth, and reproduction of the rock goby, *Gobius paganellus* L., in the Isle of Man. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 41: 737–769.
- Miller PJ. 1984. The tokology of Gobioid fishes. In: Potts GW, Wootton RJ (eds.), *Fish Reproduction: Strategies and Tactics.* Academic Press, London, pp. 119–153.
- Miller PJ. 1986. Gobiidae. In: Whitehead PJP, Bauchot ML, Hureau JC, Nielsen J, Tortonese E (eds.), *Fishes of the Northern Eastern Atlantic and the Mediterranean.* Unesco, Paris, pp. 1019–1085.
- Nash RDM. 1984. Aspects of biology of the black goby, *Gobius niger* L., in Oslofjorden, Norway. *Sarsia* 69: 55–61.
- Ota D, Marchesan M, Ferrero EA. 1996. Sperm release behaviour and fertilization in the grass goby. *J. Fish Biol.* 49: 246–256.
- Patzner RA, Seiwald M, Angerer S, Ferrero EA, Giulianini PG. 1991. Genital system and reproductive cycle of the male grass goby, *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei, Gobiidae), in the northern Adriatic Sea. *Zool. Anz.* 226: 205–219.
- Rasotto MB, Mazzoldi C. 2002. Male traits associated with alternative reproductive tactics in *Gobius niger*. *J. Fish Biol.* 61: 173–184.
- Scaggiante M, Mazzoldi C, Petersen CW, Rasotto MB. 1999. Sperm competition and mode of fertilization in the grass goby *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei: Gobiidae). *J. Exp. Zool.* 283: 81–90.
- Scherrer B. 1984. *Biostatistique.* Gaetan Morin Editeur, Montreal, Paris, Casablanca, 850 pp.
- Silva MN, Gordo LS. 1997. Age, growth and reproduction of the black goby, *Gobius niger*, from Óbidos Lagoon, Portugal. *Cah. Biol. Mar.* 38: 175–180.
- Vaas KF, Vlasblom AG, Koeijer P. 1975. Studies on the black goby (*Gobius niger*, Gobiidae, Pisces) in the Veerse Meer, SW Netherlands. *Neth. J. Sea Res.* 9: 56–68.
- Vesey G, Langford TE. 1985. The biology of the black goby, *Gobius niger* L., in an English south-coast bay. *J. Fish Biol.* 27: 417–429.
- Zar JH. 1996. *Biostatistical Analysis.* 3rd ed. Prentice-Hall, New Jersey, 662 pp.

Received January 2012,  
received in revised form April 2012,  
accepted May 2012.