

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITA' DI BOLOGNA

SCUOLA DI SCIENZE

Corso di laurea magistrale in Biologia Marina

**Stima della fecondità del lotto in una specie ittica a
deposizione parziale (*Engraulis encrasicolus*): due aree a
confronto, il Mar Tirreno e lo Stretto di Sicilia**

**Tesi di laurea in
Biologia delle risorse alieutiche**

**Relatore
Prof. Fausto Tinti**

**Presentata da
Laura Saccardi**

**Correlatore
Dott. Gualtiero Basilone**

III sessione

Anno accademico 2014-2015

*Guardò il mare e capì fino a che punto era solo,
adesso. Ma vedeva i prismi nell'acqua scura
profonda, e la lenza tesa in avanti e la strana
ondulazione della bonaccia. Le nuvole ora si stavano
formando sotto l'aliseo e guardando davanti a sé vide
un branco di anatre selvatiche stagliarsi nel cielo
sull'acqua, poi appannarsi, poi stagliarsi di nuovo, e
capì che nessuno era mai solo sul mare.*

Ernest Hemingway " Il vecchio e il mare"

INDICE

ABSTRACT	4
1. INTRODUZIONE	5
1.1 Area di studio	5
1.2 Pesca nel Mediterraneo	10
1.2.1 Pesca dei piccoli pelagici	13
1.3 L'acciuga europea (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	15
1.4 Biologia riproduttiva dell'acciuga europea	17
1.5 Fecondità	22
1.6 Obiettivo del lavoro	25
2. MATERIALE E METODI	26
2.1 Campionamento di esemplari di acciuga	26
2.2 Processamento a bordo	29
2.3 Analisi di laboratorio	30
2.4 Metodo Whole Mount	32
3. RISULTATI	37
3.1 Analisi degli individui	37
3.2 Stime di fecondità.....	45
3.3 Confronto tra le aree	47
4. DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	48
5. BIBLIOGRAFIA.....	53

ABSTRACT

L'importanza dell'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*) come risorsa ittica, sia a livello economico che ecologico, nel Mar Mediterraneo, ha portato alla necessità di monitorare la biomassa deponente di questa specie per cercare di dare un limite al suo sovrasfruttamento (rappresentando il 22% delle catture nazionali).

Lo studio effettuato riguarda le stime di fecondità dell'acciuga europea tramite l'applicazione di un metodo di analisi d'immagine, Whole Mount, su campioni di gonadi di adulti maturi e pronti alla deposizione. Il campionamento degli esemplari è avvenuto durante due campagne oceanografiche, organizzate dall'U.O.S di Capo Granitola dell'Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del CNR, che hanno coperto l'area dello Stretto di Sicilia e del Mar Tirreno, durante i mesi estivi che rappresentano il picco di deposizione della specie. Nel presente lavoro sono stati analizzati in totale 76 ovari di acciuga, provenienti da entrambe le aree di campionamento e che presentassero ovociti maturi e risultassero, quindi, in una fase di deposizione nota come "deposizione imminente". Per entrambe le aree di studio è stata stimata una relazione lunghezza-peso con andamento esponenziale. I test statistici non parametrici di Kolmogorov-Smirnov e di Mann-Whitney hanno permesso di stimare se vi fossero differenze tra la fecondità, l'indice gonadosomatico (IGS) e il fattore di condizione (CF) nelle due aree, Stretto di Sicilia e piattaforma settentrionale siciliana. I valori di CF sono risultati significativamente differenti tra le due aree se valutati con il test di Kolmogorov-Smirnov, tuttavia tale differenza non è stata confermata dal test di Mann-Whitney. L'IGS e la fecondità, invece, sono risultati significativamente diversi nelle due aree per entrambi i test. Si può ipotizzare che valori di fecondità differenti nelle due aree, nonostante in entrambi i casi il campionamento sia avvenuto durante il picco di riproduzione della specie, possono essere dovuti alla variabilità dei fattori abiotici, quali temperature e nutrienti, differenti nello Stretto di Sicilia e nell'area lungo le coste settentrionali siciliane. Temperatura e nutrienti possono essere differenti, poiché vi è un diverso movimento delle masse d'acqua causato da correnti distinte nelle due aree. Conoscere la variabilità dei parametri riproduttivi di una specie di rilevanza commerciale così alta, come l'acciuga, rappresenta uno strumento fondamentale per scegliere le misure di gestione sostenibile degli stock più appropriate per aree differenti.

1. INTRODUZIONE

1.1 Area di studio

Lo studio svolto nel presente lavoro di tesi ha riguardato due aree costiere presenti nel Mediterraneo centrale ma differenti tra di loro, principalmente in termini di condizioni ambientali: lo Stretto di Sicilia e l'area lungo le coste settentrionali siciliane (presente nel Mar Tirreno).

Lo Stretto di Sicilia è un'area compresa tra la costa meridionale della Sicilia, a Nord, e la costa settentrionale africana, a Sud (Fig.1).



Fig.1: Stretto di Sicilia

Dal punto di vista topografico è una regione complessa del Mediterraneo centrale costituita da due alti topografici (Banco Avventura e piattaforma Siculo- Maltese) separati da un bacino interno profondo. Inoltre è un'area di forma trapezoidale, in cui la distanza minima (circa 120 Km) è quella della zona Nord Ovest tra Mazara del Vallo e Capo Bon, mentre la distanza massima si raggiunge nella zona Sud-Est, dove tra la costa libica e quella siciliana la distanza è approssimativamente il triplo.

I fenomeni fisici che si manifestano nello Stretto di Sicilia sono determinati dal fatto che è una zona di comunicazione tra due bacini: occidentale e orientale del Mar Mediterraneo (Bethoux, 1980; Manzella et al., 1988 e Robinson et al., 1999). Uno dei fenomeni fisici è la circolazione delle masse d'acqua che è rappresentata con un modello a due strati, nel quale la corrente di origine atlantica, nota come Modified Atlantic Water (MAW), più calda

e meno salata scorre verso il bacino orientale nello strato superficiale da 0 a 200 m, mentre la corrente di origine levantina, Levantine Intermediate Water (LIW), più salata e più fredda si muove nella direzione opposta in uno strato di profondità tra 200 e 500 m. La MAW nello Stretto di Sicilia è stata rinominata Atlantic-Ionian Stream (AIS) (Robinson et al., 1999). Quest'ultima entra nel Canale da Ovest, formando un largo meandro ciclonico che abbraccia il Banco Avventura (Fig. 2), quindi si avvicina alla zona centrale della costa meridionale siciliana e se ne allontana nuovamente quando incontra la piattaforma maltese. L'AIS forma quindi due vortici ciclonici, uno già menzionato intorno al Banco Avventura e l'altro intorno alla piattaforma di Malta, a largo di Capo Passero (Robinson et al., 1999).

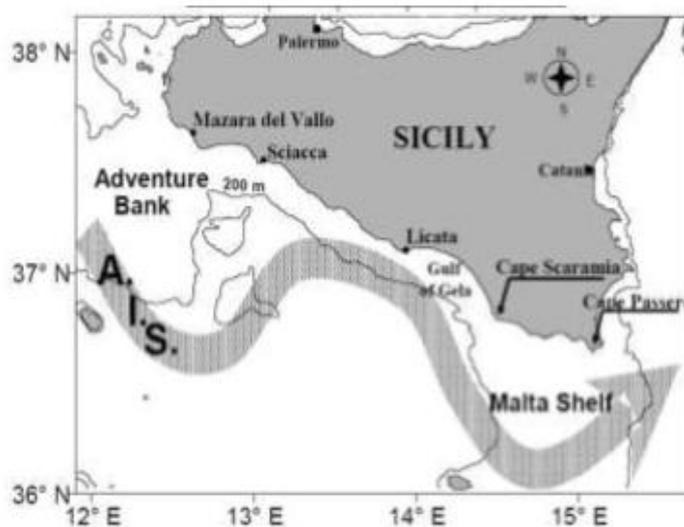


Figura 2: La circolazione delle acque nel Canale di Sicilia

Il percorso della AIS subisce delle modificazioni interannuali che determinano conseguenze sui principali fenomeni idrologici dell'area, come per esempio l'estensione delle zone di upwelling. Nello Stretto di Sicilia la variabilità della AIS si manifesta a differenti scale: temporali (da stagionali ad annuali) e spaziali (da poche unità a centinaia di chilometri). Tanto per la MAW che per la LIW, la variabilità cinetica osservata è maggiore in inverno che in estate, in risposta ai più elevati regimi di circolazione del vento e alla riduzione dei fenomeni di stratificazione all'interno della colonna d'acqua. Studi sulle caratteristiche fisiche e biologiche dell'area hanno evidenziato il ruolo fondamentale della AIS nella produttività, abbondanza e distribuzione delle specie pelagiche (Mazzola et al., 2000 e 2002; García Lafuente et al., 2002; Cuttitta et al., 2003), in particolare la distribuzione dei primi stadi di vita dell'acciuga è altamente dipendente dalle dinamiche delle acque superficiali. Alcuni autori (García Lafuente et al.,

2002; Cuttitta et al., 2003) hanno infatti evidenziato che la strategia riproduttiva delle acciughe viene influenzata dalla circolazione dell'AIS, che determina il trasporto di uova e larve verso il Sud della costa siciliana. In questa zona, un'area ciclonica determina la contemporanea presenza di uova, larve e zooplancton, ovvero il cibo richiesto dalle larve per l'accrescimento. Nell'area è stata evidenziata una zona di affioramento dovuta all'AIS e alla LIW e/o al vento di Nord-Est (upwelling dovuto dal vento), che origina l'ascensione di acqua superficiale più fredda e più ricca di nutrienti (Grancini e Michelato, 1987; Manzella et al., 1988; Moretti et al., 1993; Onken e Sellschopp, 1998; Robinson et al., 1999).

Nello Stretto di Sicilia, durante l'inverno, la temperatura media superficiale è compresa tra 14°C e 16°C e si mantiene praticamente costante lungo tutta la colonna d'acqua. D'estate si registrano temperature superficiali medie di circa 25°C, con picchi di 28°C. Nel Canale, come in quasi tutto il bacino, le acque di superficie hanno una salinità media di circa 38‰, mentre in acque profonde si raggiunge 38,4‰.

Nel bacino ovest del Mar mediterraneo, invece, è collocato il Mar Tirreno. Esso dal punto di vista biogeochimico forma un'unità ben definita, infatti fattori come la vastità del bacino, la sua storia geologica e molti aspetti climatici non che idrologici hanno causato un ovvio differenziamento all'interno del biota marino. Il Mar Tirreno (Fig. 3) ha una soglia di profondità massima di 2700 m nel Canale della Corsica, in questa zona si ha anche la connessione del Mar Tirreno con il resto dell'ovest del Mediterraneo, e una profondità minore, 450 m, tra Sardegna e Sicilia. Un'altra caratteristica di questo bacino è la presenza di montagne che lo contornano, quest'ultime influenzano fortemente le condizioni interne e causano un incremento della temperatura media superficiale, che ogni anno è sempre più elevata. Questo spiega anche: la presenza di fauna e flora termofila, un'alta percentuale di specie con affinità subtropicale ed endemiche dell'Atlantico-Mediterraneo (Astraldi et al., 1995).



Figura 3: Mar Tirreno e area lungo le coste settentrionali siciliane (in rosso) dove sono stati prelevati i campioni di acciuga europea utilizzati per questo studio.

Per quanto riguarda il regime delle masse d'acqua nel Tirreno la maggior parte degli studi non fornisce una caratteristica dettagliata delle dinamiche del bacino. Alcuni studi, però, descrivono nella parte centrale e settentrionale di questo bacino la circolazione delle acque, che è caratterizzata da una serie di vortici originati dal vento. Sono stati distinti 3 vortici principali, 2 ciclonici ed 1 anticiclonico, caratterizzati dalla presenza di acqua fredda al loro interno, che subiscono rilevanti cambiamenti stagionali. Inoltre la struttura verticale della colonna d'acqua può essere rappresentata da un sistema a tre strati: nello strato superficiale acqua di origine Atlantica diretta verso Nord, nello strato intermedio LIW sempre diretta verso Nord e nello strato profondo "Tyrrhenian Deep Water" (TDW). Il flusso dello strato superficiale, che attraversa il Canale di Sardegna, si divide in due rami principali: uno si muove attraverso lo Stretto di Sicilia nel bacino orientale del Mediterraneo e il secondo scorre in senso antiorario lungo tutto il Mar Tirreno fino ad arrivare nel Canale di Corsica. In questo canale vi è una corrente Tirrenica che ha un'energia elevata in inverno e in primavera, mentre in estate/autunno diventa più debole. Questa corrente appena descritta ha una marcata variabilità stagionale, che dipende anche dalle differenti condizioni termoline esistenti nel Mar Tirreno e nel Mar Ligure. Inoltre è stato individuato un altro strato intermedio, Western Intermediate Water, che ha origine nel bacino nord-occidentale del Mediterraneo durante i processi di convezione invernali alla profondità di 150 m (Salat e Font, 1987).

Dal punto di vista topografico il bacino del Tirreno può essere suddiviso in due settori principali: settore centro settentrionale caratterizzato da un'ampia piattaforma continentale (tra le coste della Campania e quelle della Toscana), e uno meridionale in cui la piattaforma continentale si restringe (lungo le coste della Calabria e della Sicilia). Il regime delle correnti è diverso in questi due bacini, se la regione meridionale è dominata da vortici semi-permanenti con caratteristica transitoria, la parte settentrionale è caratterizzata da una coppia di vortici, ciclonico e anticiclonico, semi-permanenti.

Ciò che maggiormente distingue lo stretto di Sicilia e il Mar Tirreno è la presenza di fiumi: lungo la costa meridionale della Sicilia sono presenti pochi fiumi caratterizzati da portate ridotte, mentre nel Tirreno a partire dalle coste Campane vi sono le foci di diversi fiumi con notevole portate (Garigliano, Volturno, Sele, Sarno, Tevere e Arno). La presenza dei fiumi può influenzare le popolazioni ittiche di piccoli pelagici in termini di selettività dell'habitat, poiché l'input dei nutrienti e materiale organico portato dai fiumi può aumentare localmente la produttività delle zone costiere (Uttieri et al., 2011).

Il Mediterraneo, essendo un mare quasi chiuso e sul quale si affacciano numerosi paesi, è continuamente sottoposto ad uno sfruttamento intenso e a volte incontrollato (20 % delle catture totali), che ha reso necessaria la realizzazione di un piano di regolamentazione a livello europeo (Leonart and Maynou, 2003). Obiettivo del piano di gestione è il recupero degli stock entro limiti biologici di sicurezza. Le analisi scientifiche dello stato di sfruttamento relative agli stock delle principali specie evidenziano una condizione di sovra-pesca e, quindi, la necessità di rendere maggiormente compatibili le modalità e l'intensità del prelievo della pesca con la potenzialità di rinnovo biologico delle specie e delle comunità che la sostengono. I diversi sistemi e metodi di cattura delle specie ittiche sono strettamente dipendenti dalle caratteristiche biologiche dei pesci. Un'attività di pesca è quindi sostenibile soltanto se la cattura del pescato è commisurata alla capacità naturale degli stock di riprodursi ed accrescersi ed è pertanto un'attività economica che ha le fondamenta profondamente radicate nella biologia e nell'ecologia delle specie pescate.

1.2 Pesca nel Mediterraneo

A dicembre del 2007 la flotta peschereccia italiana operante nel Mediterraneo era costituita da 13.583 battelli (Rapporto Annuale sulla Pesca e sull'Acquacoltura in Sicilia, 2009). Mentre dopo quattro anni, dicembre 2011, la flotta da pesca nazionale, iscritta nell'Archivio Licenze di Pesca ed operativa, risulta composta da 13.078 battelli per un tonnellaggio complessivo di 175.523 Gt ed una potenza motore di 1.063.052 kW. Inoltre la produzione della flotta italiana (nello stesso anno) è stata di 210.324 tonnellate, equivalenti in termini economici a 1.090,33 milioni di euro, mostrando una riduzione pari rispettivamente al 6% e all'1% rispetto al 2010 (Rapporto annuale 2011 strutture produttive andamento della pesca, 2011).

L'analisi regionale dei dati relativi al 2011 consente di evidenziare come il calo registrato nei livelli produttivi non ha riguardato tutte le aree di pesca, le maggior contrazioni in termini quantitativi di pescati hanno riguardato tutto il versante Adriatico. In particolare, in Emilia Romagna la produzione è diminuita del 20%, in Veneto del 15% e nelle Marche del 14%, mentre è stabile in Sicilia e negative in quelle ioniche. In controtendenza rispetto all'andamento nazionale, la Liguria e la Sardegna registrano un aumento di pescato pari a circa il 19% (Fig.4).

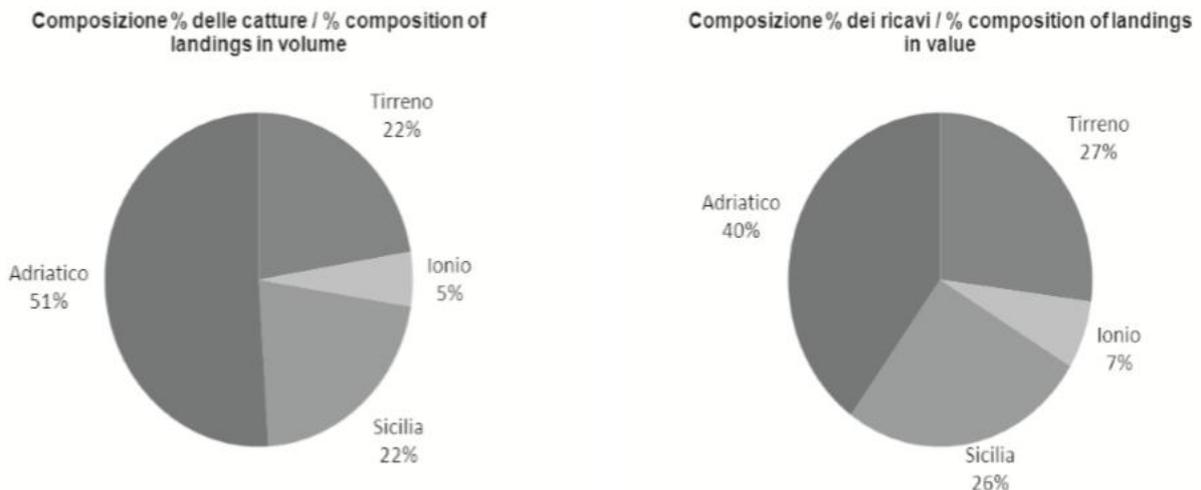


Figura 4: Composizione % delle catture e dei ricavi per area di pesca (Irepa, 2011)

Nella ripartizione della flotta per sistemi di pesca, il settore più numeroso è la piccola pesca con 8.700 battelli, che rappresentano i 2/3 dell'intera struttura riproduttiva nazionale, seguono i battelli dello strascico con 2.500 unità e le draghe idrauliche con

700 imbarcazioni, mentre meno numerosi sono i polivalenti passivi (500 unità), i battelli a circuizione (240 unità), i palangari (182 unità) e le volanti (140 unità).

Le specie più pescate risultano, in ordine decrescente di produzione: acciughe, vongole e sardine. Le acciughe hanno registrato una produzione pari a 46.237 tonnellate (il 22% delle catture nazionali). Lo sbarco d'acciughe però ha registrato un evidente ridimensionamento nell'arco temporale 2004-2011. Se nel triennio 2005/2007 si è segnato il massimo della produzione con una produzione media di circa 68 mila tonnellate, nel 2008 si è avuto il dato minimo di 46 mila tonnellate, seguito da una leggera ripresa nel 2009 e 2010, ma per poi ritornare nel 2011 ai suoi valori minimi del 2008. Su livelli inferiori si collocano le quantità di vongole, sardine e naselli sbarcati (Fig. 5) (Rapporto annuale 2012 strutture produttive andamento della pesca, 2012).

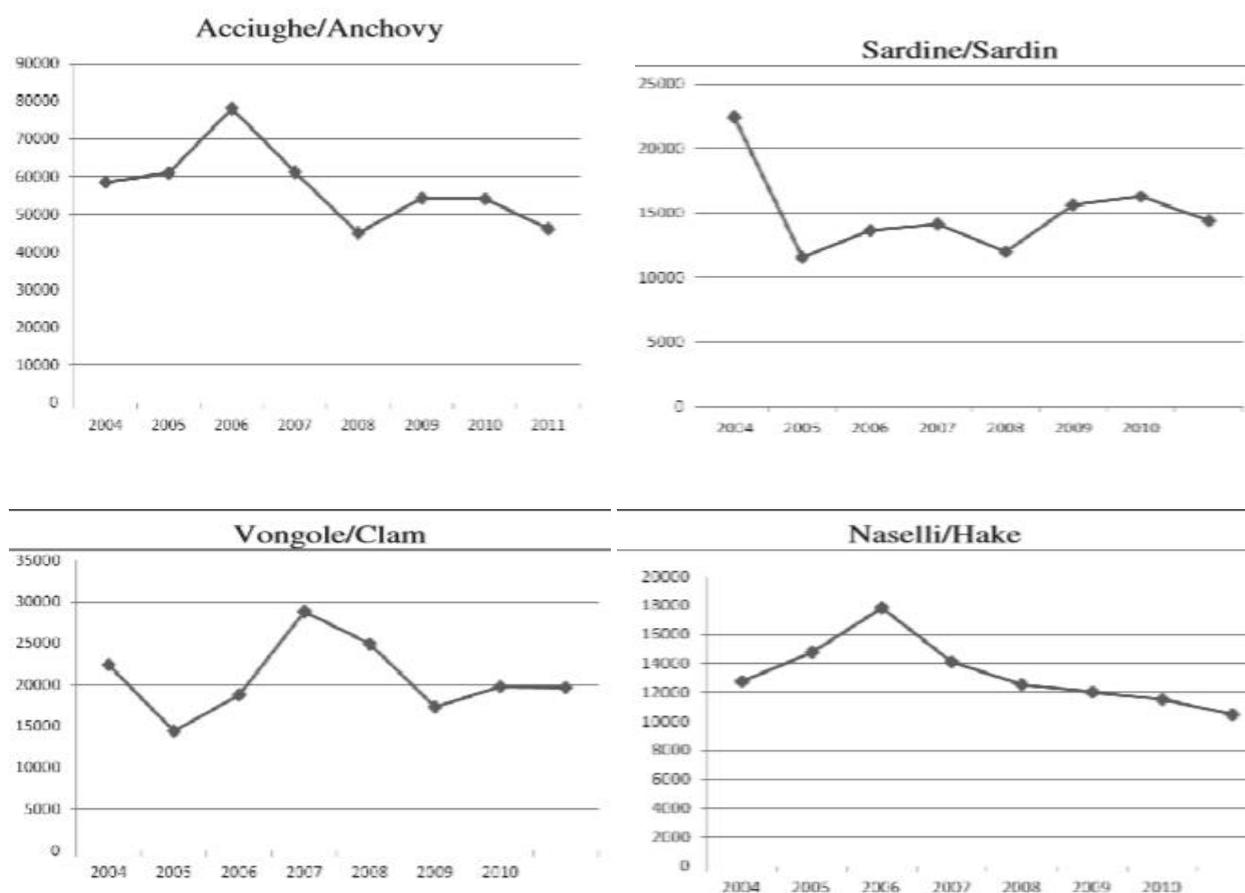


Figura 5: Andamento delle catture delle specie principali, in tonnellate, della flotta nazionale, 2004-2011(Rapporto annuale 2012 strutture produttive andamento della pesca, 2012).

Più in particolare del totale del pescato rispettivamente acciuga raggiunge il 26 %, merluzzo il 6 %, vongola gallina il 6 % e sardina il 5 %. Pertanto, il volume maggiore di pescato riguarda piccoli pesci pelagici, come l'acciuga (Fig. 6).

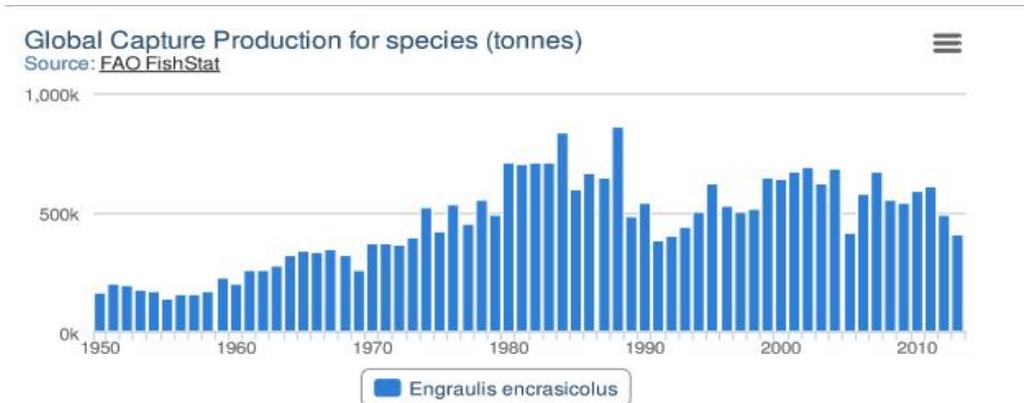


Figura 6: Catture globali per tonnellata della specie *Engraulis encrasicolus*

In Sicilia è presente la quota maggiore della flotta peschereccia italiana: circa 3.000 battelli che, per tonnellaggio, incidono sulla capacità peschereccia nazionale per oltre il 30%. In particolare, la flotta a strascico della Sicilia meridionale rappresenta una delle maggiori realtà produttive nel contesto della pesca italiana. Alla data del 31 dicembre 2013 risultano operativi nei porti siciliani 2.892 pescherecci (erano 2.949 nel 2012 e 3.035 nel 2011), con una stazza lorda complessiva di 49.995 GT (erano 51.708 GT nel 2012 e 55.778 GT nel 2011). Inoltre oltre l'80% della flotta è concentrata nel versante meridionale dell'isola e la più consistente risulta ancora quella operante a Mazara del Vallo con 221 natanti (121 con licenza rete a strascico), una stazza complessiva di 18.623 GT (stazza media per natante 84,26 GT) (Rapporto annuale 2012 strutture produttive andamento della pesca). La composizione degli sbarchi, nell'area siciliana, è centrata sulle acciughe, gamberi rosa e rossi, il pesce spada, i naselli, l'alalunga e il tonno rosso, le triglie di fango e di scoglio (Rapporto Annuale sulla Pesca e sull'Acquacoltura in Sicilia, 2009).

Anche se la flotta presente nel Tirreno è meno numerosa comprende il volume degli sbarchi complessivi risulta 14.917 tonnellate. La produzione complessiva decresce, in particolare le seguenti specie: calamari, polpi, seppie, pagelli, naselli e triglie di fango. Invece in aumento le catture di gamberi bianchi, di pannocchie e scampi. In termini quantitativi le specie prevalenti sono il nasello che rappresenta il 10 %, le triglie di fango

con il 7 %, i moscardini bianchi con il 6 % e i gamberi bianchi con il 5,8 % (Rapporto annuale 2012 strutture produttive andamento della pesca, 2012) .

1.2.1 Pesca dei piccoli pelagici

I piccoli pelagici, come acciuga (*Engraulis encrasicolus*), sardina (*Sardina pilchardus*) e alaccia (*Sardinella aurita*), rappresentano circa il 50% annuale del totale sbarcato nel Mediterraneo. Inoltre il miglioramento delle tecniche nei metodi di cattura ha portato ad un aumento dello sfruttamento di queste specie, che ha causato un cambiamento nell'assetto di questa risorsa differenziandosi però a seconda dell'area e della specie (Lleonart & Maynou 2003). Infatti se nel caso della sardina, dopo i gravi sintomi di crisi manifestati fino al 2004, si è assistiti negli ultimi anni a lievi segni di miglioramento delle abbondanze dello stock (Patti et al., 2009), per quanto riguarda l'acciuga, al contrario, gli indicatori (livelli di biomassa ed il tasso corrente di sfruttamento) mostrano chiari segni d'allarme.

Si è apprezzato, perciò, uno stato di sovrasfruttamento dello stock di alici, con l'abbondanza di questa specie che è al minimo degli ultimi dieci anni. Ciò è stato indicato dai valori correnti di mortalità da pesca e dagli indici derivati dai survey scientifici, che evidenziano una riduzione della biomassa dello stock a partire dal 2005, essendosi registrati nel triennio 2006-2008 i più bassi livelli di abbondanza dello stock a partire dal 1998. Vi è quindi la necessità di ridurre lo sforzo di pesca per raggiungere una condizione in grado di fornire nuovamente guadagni e per ottenere questo nuovo status si suggerisce una riduzione della mortalità da pesca di almeno il 30% del valore corrente (Rapporto Annuale sulla Pesca e sull' Acquacoltura in Sicilia, 2009). Le acciughe sono tra le più importanti risorse alieutiche in molte regioni del Mar Mediterraneo e dai dati IREPA del 2009, è emerso che In Italia, la pesca dell'acciuga europea ha rappresentato in media il 26% circa del pescato totale.

La biomassa, che presenta una crescita altalenante fino al 2007 e poi una immediata riduzione nel 2008 e 2009, è ovviamente correlata alle catture e quest' ultime hanno portato: ad una pressione di pesca molto consistente sempre in quegli anni (2000-2009), alti tassi di mortalità per pesca soprattutto nell'età 1 e 2 che risultano essere le più sfruttate. La mortalità diminuisce con l'aumento dell'età concentrandosi nei primi anni di vita dell'individuo, poiché sono più facilmente predabili essendo pesci di piccola taglia ed hanno così minore probabilità di raggiungere età elevate. L'indice di mortalità naturale, in

conseguenza a quello da pesca, subisce una caduta repentina nell'età 1, per ritornare ad un valore moderato nell'età 2 e alle successive classi d'età. In base ai dati riportati sopra si può ritenere che lo stock di *Engraulis encrasicolus* sia uno stock altamente sfruttato (Fig.7) (Angelini, 2009-2010).

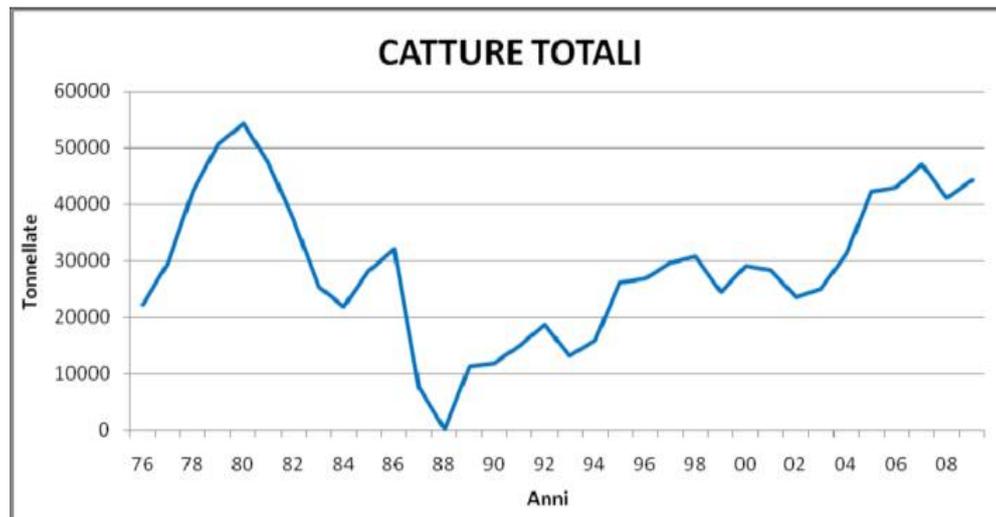


Figura 7: Quantitativi delle catture di *Engraulis encrasicolus* dal 1976 al 2009 (Angelini, 2009-2010).

La situazione degli stock di piccoli pelagici (Fig. 8) sembra, anche, essere condizionata da una situazione climatica non favorevole a queste specie. La fase di riscaldamento del clima attuale sta influenzando profondamente l'ecologia del Mediterraneo con due importanti fenomeni: l'espansione delle specie meridionali verso i versanti settentrionali del bacino (meridionalizzazione) e l'invasione di specie dell'Indopacifico e dell'Atlantico subtropicale (tropicalizzazione) (Andaloro e Rinaldi, 1998; Bianchi 2007). Oltre l'aumento di temperatura anche le concentrazioni di zooplancton e fitoplancton hanno effetto sulla crescita dello stock ed è addirittura più evidente dei cambiamenti climatici (Basilone et al. 2004).

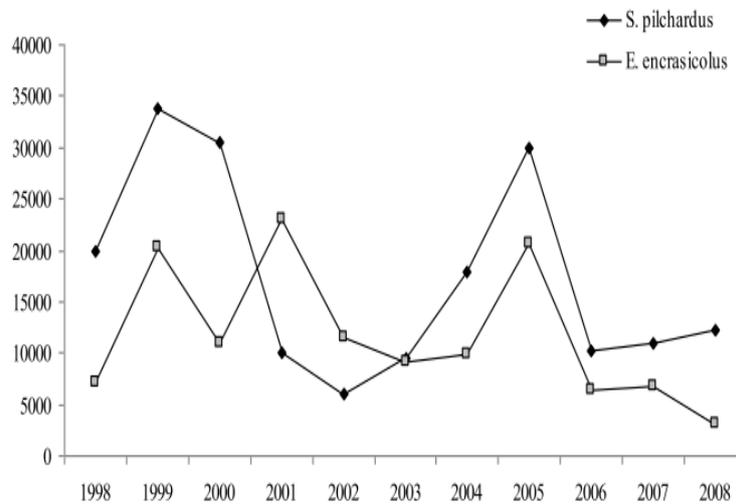


Figura 8: Stime idroacustiche di biomassa della popolazione di acciuga e sardina al largo della costa meridionale siciliana (GSA 16) dal 1998 al 2008 (Fonte CNR-IAMC di Capo Granitola)

1.3 L'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*)

L'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*), appartiene all'Ordine dei Clupeiformi ed è il solo rappresentante della Famiglia degli Engraulidae in Mediterraneo. L'acciuga è una specie comune nel Mediterraneo ma presente anche in Mar Nero, lungo le coste dell'Atlantico Nord Orientale e Centrale, inoltre il suo areale si estende dalla Norvegia fino al Sud Africa (Fig.9). Vive principalmente in acque marine e salmastre ma durante il periodo riproduttivo può portarsi in lagune, estuari e laghi (Fisheries 2013).

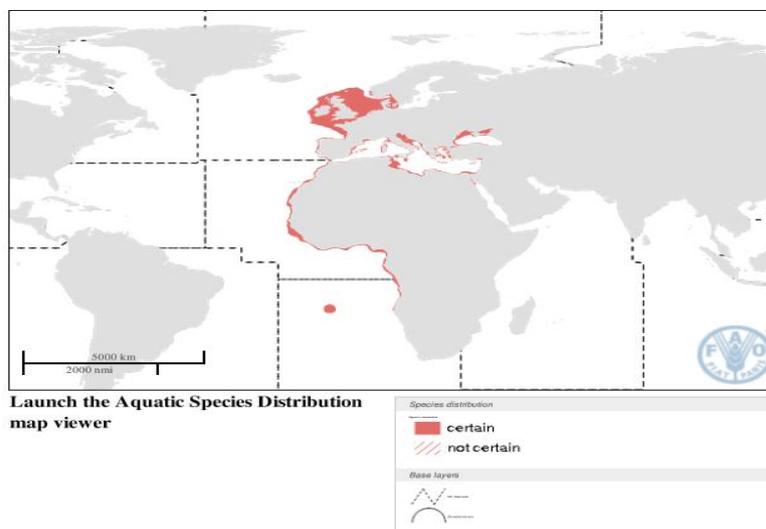


Figura 9: Areale di distribuzione dell'acciuga europea (Dati FAO)

Ha il corpo sottile, slanciato ed è ovale in sezione trasversale (Fig. 10). Il muso è appuntito e oltrepassa la mascella inferiore. Le pseudobranchie arrivano sul lato interno dell'opercolo e la piccola pinna anale è costituita da 13 – 15 raggi. La livrea, come tutte le specie pelagiche, è nella parte dorsale di colore blu – verde, mentre nella parte ventrale volge rapidamente al grigio chiaro. Inoltre presenta una striscia argentata lungo i fianchi, bordata di scuro, che scompare con l'età (Fischer et al., 1987).



Figura 10: L'acciuga europea

E' una specie strettamente pelagica, che raggiunge una taglia massima di circa 20 cm ma è comune fino a 15 cm. E' in grado di sopportare variazioni di temperatura e salinità (da 5 a 41‰), infatti è possibile ritrovarla anche in acque interne, come detto precedentemente. L'acciuga è un pesce gregario e vive in grossi banchi che compiono importanti migrazioni avvicinandosi alla costa in primavera-estate (periodo riproduttivo), mentre trascorrono il restante periodo scendendo a maggiori profondità (100 – 180 m nel Mediterraneo, 60 – 70 m nel Mar Nero) (Dati FAO). Ha abitudini trofiche diurne e si nutre principalmente di fito e zooplancton (essenzialmente copepodi e larve di molluschi), uova di pesce e larve filtrando l'acqua mediante una struttura anatomica posta sugli archi branchiali. La stagione riproduttiva per l'acciuga del Mediterraneo centrale va da aprile a ottobre, con picchi di deposizione durante i mesi più caldi (Basilone et al., 2006). Le femmine producono circa 4.000 uova alla volta, che vengono, generalmente, rilasciate negli strati superficiali (primi 100 m di profondità), a piccoli lotti (Varagnolo, 1965; Ghirardelli, 1967) e, generalmente, dopo il tramonto e nelle prime ore della sera (Basilone et al., 2013). Le uova emesse sono galleggianti, di forma ellissoidale, poco più lunghe di 1 millimetro (Varagnolo, 1967; Regner, 1996), vengono affidate alle correnti marine e schiudono nell'arco di 24-36 ore (Holden e Raitt, 1974). Le larve alla schiusa sono lunghe circa 2 mm e molte di esse sono destinate ad essere predate.

1.4 Biologia riproduttiva dell'acciuga europea

L'acciuga è in grado di riprodursi più volte nel corso della sua vita ed è definita come una specie "multiple spawner", in quanto possiede un ovario asincrono costituito da follicoli in diverso stadio di maturazione. Gli oociti prodotti vengono rilasciati in gruppi ("batch") di uova che maturano in diversi momenti del periodo riproduttivo (Brown-Peterson et al., 2011).

In generale bisogna distinguere tra due differenti modalità di deposizione e tra due differenti tipi di fecondità. Si possono descrivere due tipologie di deposizione: totale o parziale. Se, per quanto riguarda la deposizione totale, si ha un singolo evento di rilascio di oociti durante la stagione riproduttiva, nella deposizione parziale si hanno più eventi depositivi per ciascun individuo nell'arco di una stagione depositiva, quindi le uova vengono liberate in più gruppi successivi, come nel caso delle acciughe.

La fecondità, invece, si distingue in:

1. Determinata, che è caratterizzata da un discontinuo reclutamento, nella quale vi è un "gap" temporale nella distribuzione di oociti tra il primo e il secondo reclutamento di quest'ultimi. In questo caso il numero di ovociti che verranno depositi è predeterminato all'inizio della stagione riproduttiva.
2. Indeterminata, a reclutamento continuo, dove gli oociti sono continuamente reclutati nella gonade durante la stagione riproduttiva. Quindi si possono trovare differenti stadi di maturità degli oociti all'interno delle gonadi, perché la maturazione e la vitellogenesi sono processi continui durante tutta la fase di riproduzione. In questo caso il numero di ovociti che verranno depositi non è stimabile preventivamente, all'inizio del periodo riproduttivo.

La vitellogenesi è un lungo processo durante il quale avvengono importanti e visibili cambiamenti degli oociti: la taglia aumenta, il tuorlo progressivamente si accumula nel citoplasma e appaiono inclusioni citoplasmatiche. La vitellogenesi è divisa in tre stadi: primaria, secondarie e terziaria. Nel primo stadio il tuorlo è ristretto alla periferia dell'ovocita o del nucleo. Mentre nel secondo stadio si possono vedere globuli di tuorlo più grandi. Invece nell'ultimo stadio l'accumulo del tuorlo è completato.

Le alici sono una specie ovipara a fecondazione esterna e iteropara, cioè in grado di deporre più volte nell'arco della vita e all'interno di una stagione riproduttiva, quindi hanno una fecondità indeterminata. Il loro ciclo riproduttivo si divide in diverse fasi: fase di sviluppo, fase di riproduzione, fase di regressione e fase di rigenerazione. Nella prima fase le gonadi crescono e si sviluppano i gameti prima della stagione riproduttiva, che risulta, invece, caratterizzata dalla produzione di oociti vitellogenici nelle femmine e di spermatozoi attivi nei maschi. Questo stadio sia per i maschi che per le femmine dura fino alla fine dello stadio tre della vitellogenesi. La seconda fase, invece, avviene con l'avanzamento dello sviluppo dei gameti, stadi successivi al terzo della vitellogenesi, e con la rottura delle vescicole germinali idratate. Mentre la fase di regressione è identificata come la fine del ciclo riproduttivo e può indicare la fine della stagione riproduttiva se nelle peschate vengono ritrovati molti esemplari adulti in questa fase. Tutte queste fasi sono gonadotropine dipendenti, mentre la fase di rigenerazione, come quella di immaturità, sono gonadotropine indipendenti. Le femmine in rigenerazione sono mature ma inattive dal punto di vista riproduttivo.

Come la maggior parte dei pesci, le acciughe sono riproduttori ciclici e l'ovario cambia radicalmente di aspetto e dimensioni nelle distinte fasi del ciclo riproduttivo. Nella fase immatura, uguale per tutti i teleostei, tutti gli oociti nell'ovario sono nella prima fase di crescita e sono ben uniti, inoltre nel resto dell'ovario non sono presenti ovociti maturi e i vasi sanguigni possono essere molto abbondanti. Mentre nella fase di sviluppo vi è la presenza di alveoli corticali ma non ci sono segni di un avanzamento del processo riproduttivo, come l'ispessimento della parete ovarica e l'alta vascolarizzazione dell'ovario. Gli ovociti nello stadio tre, imminente riproduzione, sono vitellogenici, e possono essere presente in essi la migrazione del nucleo, ma non sono presenti follicoli post-ovulatori. Possono essere presenti anche i primi stadi di atresia, un fenomeno di degenerazione di quelle cellule che, per vari motivi, non proseguono nelle fasi di maturazione e deposizione e vengono, quindi, riassorbiti dall'organismo. La fase di riproduzione comincia con la migrazione del nucleo verso la periferia del citoplasma con la conseguente idratazione degli oociti, che consiste nella incorporazione rapida di acqua, causando un nuovo incremento nelle dimensioni dell'oocita. Gli ovociti idrati vengono depositi generalmente entro ventiquattro ore dall'inizio del fenomeno, tuttavia alle temperature delle acque del Canale di Sicilia, durante la stagione riproduttiva della specie target, tale fenomeno per le acciughe si conclude più rapidamente (Basilone et al., 2015). Quando gli oociti vengono emessi nel lume dell'ovario (ovulazione), i residui

cellulari delle strutture di sostegno della cellula rimangono all'interno della gonade, da questo processo derivano i follicoli post-ovulatori (POF). Nella fase di post-deposizione parziale i follicoli post-ovulatori sono osservati per tutto l'ovario insieme agli oociti vitellati in differenti stadi. Questo significa la presenza di un processo di riproduzione avanzata caratterizzato da un gran numero di vasi sanguigni, parete ovarica gonfia, atresia, disorganizzazione della struttura dell'ovario. È in questa fase che è possibile vedere la differenza tra riproduzione determinata e indeterminata, poiché in quest'ultima gli ovociti continuano ad essere reclutati ovociti, e quindi all'interno degli ovari sono presenti in tutti gli stadi. Infine nella fase di regressione vi sono: molti POF e atresia, disorganizzazione della struttura dell'ovario, numerosi vasi sanguigni ben visibili, parete ovarica spessa e assenza di oociti vitellati.

Come descritto lo sviluppo degli ovociti è un fenomeno di tipo progressivo, generalmente gli ovari si classificano per lo stadio di sviluppo più avanzato riscontrato al suo interno indipendentemente dalla sua frequenza, perché l'apparizione di un tipo di stadio indica con sicurezza l'inizio della successiva fase di deposizione. Una corretta identificazione dello stadio di maturità sessuale raggiunto dagli individui è fondamentale per un'accurata determinazione del potenziale riproduttivo, per un'attenta distinzione tra immaturi e maturi e tra attivi e inattivi (Brown-Peterson et al., 2011).

I valori degli indici gonadosomatici e le rispettive fasi di deposizione mostrano che la stagione riproduttiva si estende da Marzo/Aprile a Settembre-Ottobre. Solitamente il picco riproduttivo si ha in Luglio-Agosto, quando la maggior parte delle femmine è già matura e attiva nella riproduzione (Basilone et al., 2006).

La lunghezza di taglia di prima maturità sessuale incomincia, sia per le femmine che per i maschi, a 9,4 cm, la completa maturità per i maschi a $11,27 \pm 0,09$ e $11,24 \pm 0,09$ per le femmine. Per quanto riguarda la sex-ratio, essa non cambia (1:1) ma con predominanza di femmine durante l'anno e l'aumento dei maschi nel periodo riproduttivo, quest'ultimi diminuiscono a taglie maggiori di 12 cm.

Bisogna specificare anche che l'inizio della stagione riproduttiva dell'acciuga europea è temperatura-dipendente, ha infatti inizio quando la temperatura è circa 14 °C e il picco riproduttivo si ha tra 16 °C e 18,5 °C, fermandosi quando raggiunge gli zero o diventa negativa. La sincronia tra ciclo riproduttivo e temperatura è probabilmente una strategia che si è evoluta per permettere la deposizione delle uova durante il periodo dell'anno in cui la stabilità delle masse d'acqua è più alta, infatti la posizione delle aree di riproduzione e di nursery è determinata dal sistema di correnti prevalente nell'area

geografica in cui è distribuita la popolazione e tende a rimanere stabile nel tempo. Stabili condizioni della colonna d'acqua favoriscono l'aggregazione delle prede, ovvero una concentrazione maggiore di alimento che può garantire la sopravvivenza delle larve. Anche la salinità, come i nutrienti, influenza la riproduzione (Basilone et al. 2006).

Conoscere le strategie riproduttive di una specie, mediante lo studio di specifici parametri quali la fecondità e la frazione deponente, serve a determinare quale modello applicare per la stima della biomassa deponente. Il monitoraggio dell'abbondanza delle popolazioni può essere basato su metodi diversi. Uno di questi è il metodo di produzione giornaliera delle uova DEPM (Daily Egg Production Method; Parker, 1980). Esso è un metodo diretto di stima della biomassa deponente di popolazioni ittiche a fecondità indeterminata, sviluppato per gli stock di acciuga nelle acque del pacifico, ma dagli anni novanta la sua applicazione si è estesa alla valutazione degli stock di acciughe e sardine in tutto il mondo (Stratoudakis et al., 2006).

I metodi per stimare la fecondità determinata sono sostanzialmente coincidenti con quelli per stimare la fecondità indeterminata, quello che cambia sono gli accorgimenti da seguire. Nel caso delle specie a fecondità determinata è sufficiente un solo campionamento l'anno, nel periodo del picco riproduttivo, per calcolare la fecondità totale, mentre per le specie a fecondità indeterminata sono necessari più campionamenti durante il periodo riproduttivo. I metodi più comune utilizzato per stimare la fecondità prevedono un conteggio manuale del numero di ovociti idrati nei depositori imminenti (Hunter et al., 1985). Il numero di campioni viene poi messo in relazione al peso o al volume dell'ovario, a seconda del metodo che si sta applicando:

- Metodo gravimetrico. Consiste nel pesare l'ovario e contare il numero di uova in tre sub-campioni dell'ovario di peso conosciuto. Una volta calcolato il numero medio di uova contenuto nei sub-campioni, questo valore viene moltiplicato per il peso totale dell'ovario. Questo metodo possiede il vantaggio di essere abbastanza preciso, economico e non richiede l'uso di strumentazioni particolarmente sofisticate o tecnologiche. Tuttavia non tiene conto dell'incidenza dell'atresia o della presenza di follicoli post-ovulatori (POF), che indicano che la deposizione è già iniziata, e gli ovarii con presenza di POF non devono essere inclusi tra quelli utili per la determinazione della fecondità. Inoltre, tale metodo non è adeguato nel caso di pesci con uova molto piccole o per quelle specie in cui la differenza di taglia fra gli oociti che verranno depositi e gli altri non è evidente (Hunter et al.,

1985 e 1986).

- Metodo volumetrico. Consiste nel misurare il volume totale dell'ovario, mediante la variazione del livello di un liquido all'interno di una provetta opportunamente graduata. L'ovario da esaminare viene disgregato, usando il liquido di Gilson, e successivamente rimesso in sospensione tramite agitazione. Successivamente, vengono prelevate dalla sospensione alcune porzioni di volume noto, si conta il numero di uova contenuto in ogni campione e si moltiplica il numero ottenuto per il volume totale dell'ovario. Anche questo metodo è piuttosto economico, ma dà risultati più imprecisi di quello gravimetrico e non permette di ottenere informazioni sul livello di atresia né sulla presenza di POF. Di fatto, è una metodologia scarsamente sfruttata (Simpson, 1951).

Nonostante la sua popolarità, l'applicazione del metodo degli ovociti idratati risulta spesso limitato dalla difficoltà di ottenere campioni di femmine idratate. Ciò è dovuto principalmente:

- a) alla brevissima durata giornaliera della fase di deposizione delle uova mature
- b) al comportamento segregativo tipico degli individui prossimi alla deposizione delle uova. Infatti, le femmine idratate delle specie di piccoli pelagici, come acciughe e sardine, sembrano allontanarsi dal resto del banco, riducendo così le occasioni di campionamento dei depositori imminenti (Ganias, 2008;. Basilone et al, 2015).

Recenti studi hanno tentato di affrontare le questioni di cui sopra utilizzando fasi di riproduzione differenti da quella di idratazione per la stima della fecondità del lotto (Ganias et al., 2003, Basilone et al., 2015). Tali studi hanno determinato la diffusione del metodo Whole Mount che è una tecnica di analisi di immagine per la determinazione della fecondità. Questo metodo permette di determinare la fecondità attraverso la media del diametro degli ovociti vitellati, ottenuto con un sistema di analisi immagine. È un metodo rapido e semi-automatico alternativo al tradizionale metodo degli ovociti idratati e viene chiamato anche "auto-diametric fecundity method", dove la parola "auto" riflette la parziale automatizzazione nella misura del diametro degli ovociti usando l'analisi d'immagine, mentre la parola "diametric" sottolinea il fatto che la stima della fecondità è basata sulla misurazione del diametro piuttosto che sul conteggio (Thorsen & Kjesbu 2001). Questo metodo stima, inoltre, la fecondità a partire da ovociti maturi ma non

idratati. Nel caso delle acciughe, caratterizzate da una peculiare forma ellittica delle uova, il metodo viene applicato misurando l'area degli ovociti nello stadio di maturità più avanzato, invece del loro diametro.

1.5 Fecondità

La fecondità rappresenta il numero di uova che verranno deposte durante una stagione riproduttiva. Essa è il fattore principale per le stime quantitative di uova e larve e la stima della biomassa deponente dello stock. Per calcolare la biomassa riproduttrice, è necessario per prima cosa calcolare la fecondità specifica, determinando il numero di uova deposto per femmina adulta in un anno. Successivamente va determinata, per mese o per stagione, la probabilità che una femmina adulta incontri le condizioni necessarie per una deposizione efficace. Un terzo dato importante da monitorare è rappresentato dalle variazioni interannuali della fecondità, in particolare in relazione al numero di deposizioni parziali durante il periodo di deposizione.

La fecondità si utilizza anche per: stimare la sopravvivenza, per determinare il numero di individui necessari per mantenere uno stock a livello sostenibile e come criterio per identificare stock unitari. La fecondità di una specie è il risultato di un processo evolutivo nel quale si ottimizza la suddivisione dell'energia disponibile ottenuta dall'alimentazione fra il consumo metabolico, l'accrescimento e la riproduzione.

A differenza delle specie in cui il numero di uova che sarà deposto è predeterminato e non si ha ulteriore aggiunta di nuovi oociti vitellogenici successivi all'inizio della deposizione (fecondità determinata), l'acciuga europea, come detto precedentemente, ha fecondità indeterminata, in questo caso si ha un apporto continuo di uova mature durante tutto il periodo di deposizione.

Quindi è necessario distinguere fra diversi tipi di fecondità:

- La fecondità potenziale è il numero di uova che sono pronte per svilupparsi ed essere deposte in una determinata stagione riproduttiva.
- La fecondità reale è il numero di uova che vengono veramente deposte in una determinata stagione riproduttiva, giacché una parte di quelle uova che costituiscono la fecondità potenziale (a volte parecchie) non arrivano a maturazione e rimangono nell'ovario per essere riassorbite in un secondo tempo, quindi la fecondità reale è uguale o inferiore alla fecondità potenziale.
- La fecondità parziale (o fecondità del lotto) è il numero di uova che vengono prodotte per ogni gruppo, nel caso di specie che, come le alici, liberano le uova in gruppi successivi (batches). Così la somma delle fecondità parziali rappresenta la fecondità reale.

Esiste una relazione lineare fra fecondità e peso essendo i pesci più pesanti anche più fecondi. Di questa relazione si tiene conto anche negli studi sull'ecologia riproduttiva e sul potenziale riproduttivo dell'acciuga europea in relazione ai principali parametri ambientali (Parker, 1980; Piquelle e Stauffer, 1985). La dipendenza della fecondità del lotto e della frazione deponente dalla dimensione e dall'età degli individui, per diversi stock di acciuga e differenti ambienti, va tenuta in gran conto per il grande impatto sia nell'accuratezza della stima dei suddetti parametri e sia sul potenziale riproduttivo della popolazione.

Gli studi sul reclutamento dei pesci marini sono tradizionalmente focalizzati sulla crescita e la sopravvivenza dei primi stadi di sviluppo, mentre la relazione tra fecondità della popolazione adulta e reclutamento ha ricevuto scarsa attenzione. Inoltre studi sull'ecologia riproduttiva dell'acciuga europea in relazione ai principali parametri ambientali (Morgan e Bratley, 2005) hanno sottolineato che le variabili fondamentali legate al concetto di potenziale riproduttivo sono: la maturità sessuale, la sex ratio e la produzione potenziale di uova, oltre ovviamente i fattori ambientali. I fattori abiotici (temperatura, salinità, ecc.) influiscono notevolmente sulla fecondazione e sulla sopravvivenza dei primi stadi di vita (Van Leeuwen et al., 1985). In particolare la fase larvale risulta molto condizionata dalle variazioni di temperatura (Rombough, 1997), che

ne alterano il comportamento e il naturale sviluppo fisiologico e incidono sul tasso di mortalità (Taylor et al., 1998; Hunt von Herbing et al., 2001; Rice et al., 1987; Fuiman, 1993; Armsworth, 2001; Ettahiri et al., 2003; Zarrad et al., 2008). Anche la fecondità degli individui adulti risulta condizionata dalla temperatura dell'acqua al momento della maturazione delle gonadi e della deposizione (Holt e Riley, 2000; Funamoto e Aoki, 2002). Ciò significa che i fenomeni oceanografici possono determinare il successo o il fallimento del reclutamento, dal momento che da essi dipendono il numero di uova deposte e fecondate e le condizioni per lo sviluppo delle larve. La circolazione delle acque determina, infatti, la produzione e la veicolazione di plancton che rappresenta il cibo per le larve, ma condizionano anche il trasporto delle larve stesse verso i luoghi di accrescimento.

1.6 Obiettivo del lavoro

Data l'importanza dell'acciuga europea come risorsa pelagica nel Mar Mediterraneo e l'elevato interesse economico legato al suo stock, si sono effettuati numerosi studi sulla biomassa di questa specie. In relazione a ciò il lavoro di tesi effettuato ha analizzato la fecondità attraverso tecniche di analisi d'immagine e le stime di fecondità ottenute sono state fondamentali per calcolare il potenziale riproduttivo della specie che, insieme ad altri parametri quali sex ratio e la frazione deponente, servono a determinare la dimensione dello stock ittico. Conoscere le dimensioni di uno stock e risalire alle cause che determinano una sua diminuzione è importante per poter attuare così una gestione sostenibile dello stesso e per mantenerne le dimensioni ad un livello sostenibile.

A tale proposito l'obiettivo generale di questo lavoro è stato quello di determinare la fecondità dell'acciuga nel Mediterraneo, in particolare nello Stretto di Sicilia e nell'area lungo le coste settentrionali siciliane, attraverso l'applicazione di un metodo semi-automatico di analisi di immagine.

Questo obiettivo è stato conseguito attraverso i seguenti obiettivi specifici:

- acquisizione di immagini di porzioni di ovari maturi dei campioni di acciuga europea, raccolti in due differenti aree di studio;
- applicazione di metodi stereometrici per la stima della fecondità del lotto tramite l'uso software specifici (IMAGE J e FISAT II)
- confronto delle stime ottenute nelle due aree di studio Stretto di Sicilia e l'area lungo le coste settentrionali siciliane.

2. MATERIALE E METODI

2.1 Campionamento di esemplari di acciuga

I campioni di adulti di acciuga europea sono stati ottenuti da pescate sperimentali, lungo transetti stabiliti nel piano di campionamento, durante due campagne oceanografiche (ANCHEVA 2015 e EVATIR 2015) effettuate, rispettivamente, nello stretto di Sicilia e nel Mar Tirreno avvenute nei mesi del picco riproduttivo dell'acciuga: Giugno-Agosto (Basilone et al. 2006). I campionamenti sono avvenuti a bordo della nave oceanografica G. Dallaporta, sia nel Canale di Sicilia che nel Mar Tirreno, equipaggiata con reti pelagiche per il campionamento scientifico, in questo caso, la rete è di tipo "Volante Monobarca": di lunghezza complessiva 78 m, lunghezza sacco di 22 m con maglia di 18 mm, apertura verticale ed orizzontale della bocca rispettivamente di 7 m e 13 m, per un'area della bocca di 90 m² circa, e maglia iniziale del corpo 252 (78 x 2 + 48 x 2) maglie da 600 mm. Inoltre il cavo da traino in acciaio adoperato era di 16 mm di diametro con calamenti lunghi 50 m, i divergenti, che permettono l'apertura della rete durante la cala, sono rettangolari AR 172 con dimensione di 172 x 110 cm e peso circa 380 kg (Fig.11). La rete è stata attrezzata anche con un sistema di monitoraggio acustico (SIMRAD ITI) in grado di registrare pressione e temperatura durante la pescata e tutti i parametri relativi alla geometria della rete stessa, tra cui l'apertura bocca, distanza dal fondo e dalla superficie.



Figura 11: La rete utilizzata per il campionamento degli esemplari adulti a bordo della N/O Dallaporta.

Durante le cale effettuate, generalmente da tre a quattro nell'arco della giornata con una durata di circa mezz'ora ciascuna, l'imbarcazione ha viaggiato ad una velocità di 3.5-4.5 nodi (miglia nautiche orarie) e sono stati eseguiti survey elettroacustici, con lo strumento echosounder Simrad EK60 posizionati sulla parte superiore della bocca della rete, sia per il controllo del fondo che per l'individuazione e il monitoraggio degli stock ittici nella colonna d'acqua. Prima di procedere con le peschate è necessario ispezionare i fondali per individuare strutture (secche, massi isolati, relitti, risalite rocciose) che potrebbero danneggiare l'imbarcazione o la rete. Mentre gli idrofoni, per la trasduzione dei segnali acustici ricevuti in segnali elettrici, sono stati installati a scafo solo nel corso delle cale (Bonanno et al., 2015).

Le ricerche condotte nelle campagne oceanografiche Ancheva 2015 ed Evatir 2015 sono state finalizzate alla valutazione, tramite l'applicazione di strumentazione elettroacustica, della biomassa e della distribuzione spaziale della popolazione dei piccoli pelagici (prevalentemente acciughe, sardine e suri), correlata allo studio di possibili influenze delle variabili ambientali sulla distribuzione spaziale delle specie prese in esame, quest'ultimo è stato effettuato acquisendo dati idrologici mediante sonda multiparametrica (CTD). Entrambi i campionamenti sono stati effettuati entro la batimetrica dei 200 m, sulla piattaforma continentale, che rappresenta l'areale di distribuzioni della specie target.

In dettaglio la campagna Ancheva 2015, è stata svolta nello Stretto di Sicilia, piattaforma meridionale, coprendo un'area che parte da Marsala-Mazara del Vallo finendo a Capo Passero - Siracusa – Pozzallo e piattaforma Maltese (Fig.12).

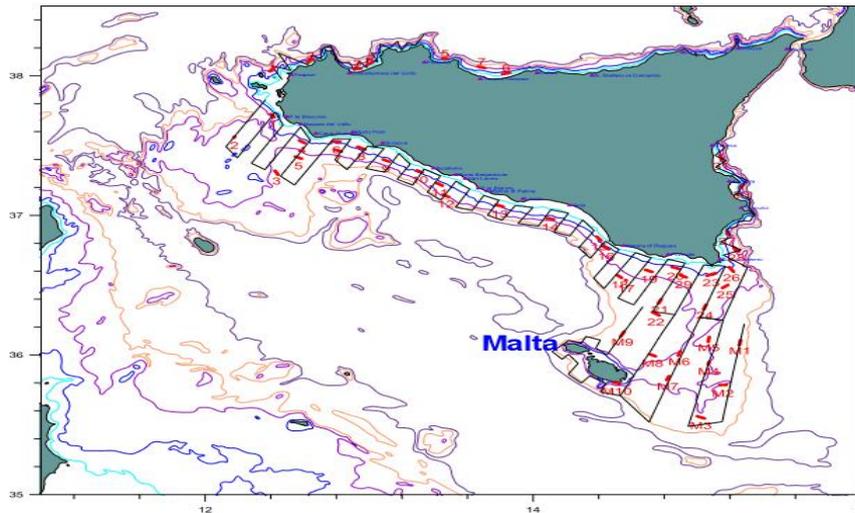


Figura 12: Cale con rete pelagica e transetti acustici effettuati nel corso della Campagna Ancheva 2015 nelle acque della GSA 15 (Malta), della GSA 16 (Stretto di Sicilia) e dello Ionio. N/O "G. Dallaporta", Luglio 2015.

Per quanto riguarda Evatir 2015 l'area osservata è stata più vasta: Mar Tirreno e Mar Ligure. Più precisamente ha ricoperto un'area racchiusa tra il porto di Palermo e Savona - Imperia - Porto di Genova (Fig.13-Fig.14). Tuttavia, ai fini del presente studio, sono stati considerati solo i campioni provenienti dalla zona meridionale e, soprattutto, quelli localizzati lungo la costa settentrionale della Sicilia. (Fig. 3).

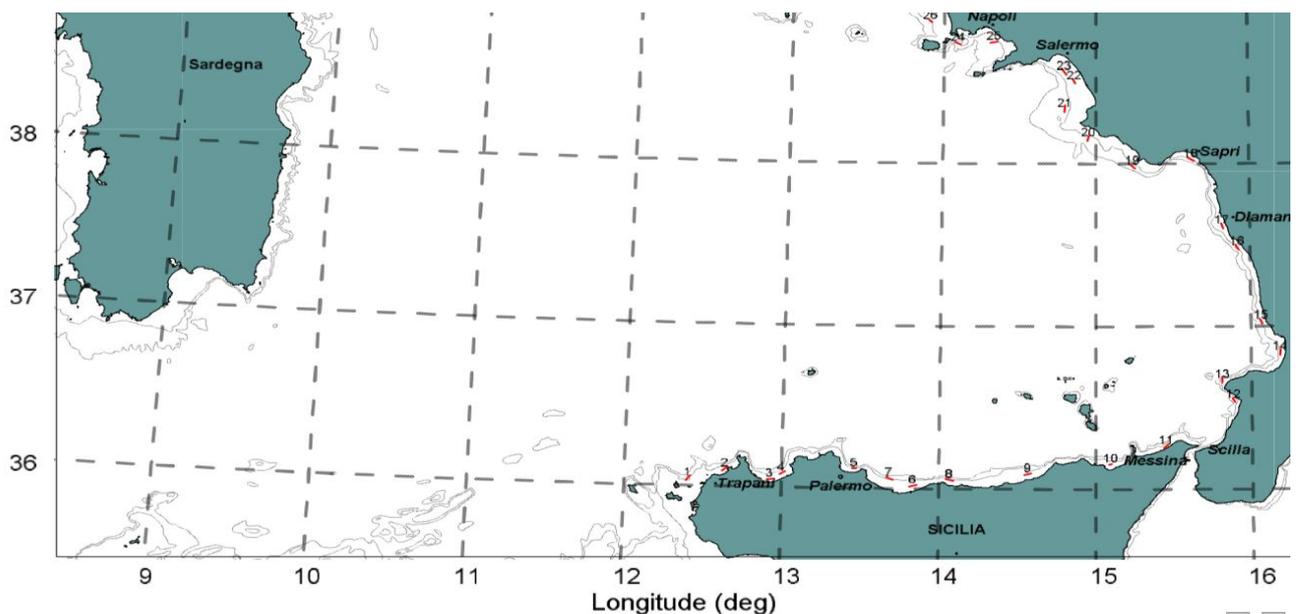


Figura 13: Posizione delle cale con rete pelagica nel corso della Campagna "EVATIR 2015" a bordo della N/O "G.Dallaporta" nell'area della Sicilia settentrionale.

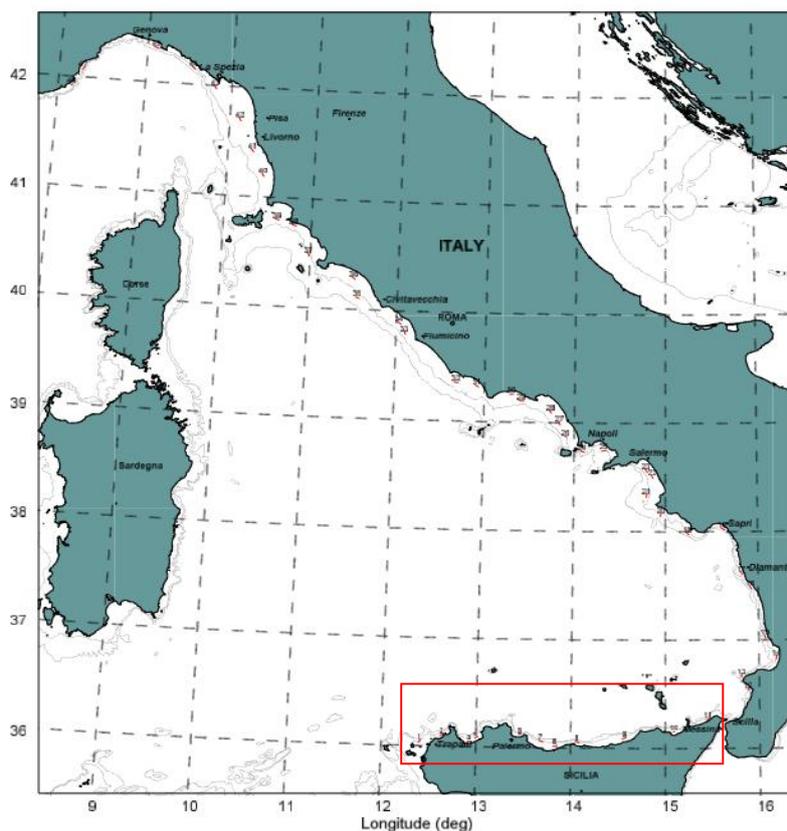


Figura 14: Posizione delle cale con rete pelagica nel corso della Campagna “EVATIR 2015” a bordo della N/O “G. Dallaporta”.

2.2 Processamento a bordo

Per ogni cattura, ove presenti, sono stati selezionati random 75 individui di acciuga e misurati; le misure prese sono: lunghezza totale (1mm), peso totale e senza gonadi (0.01g), sesso e fase di deposizione, individuata in base alle caratteristiche macroscopiche in accordo con una scala a 6 stadi proposta dall'ICES (WKSPMAT, 2008) (Tab.1). Gli ovari delle femmine adulte di acciuga (Fig.15- Fig.16), in seguito, sono stati conservati singolarmente in barattoli da 100 ml contenenti formaldeide tamponata al 4 % (non oltre le due ore successive alla cattura) per almeno un mese, per le successive analisi di laboratorio, tramite applicazione delle più comuni tecniche istologiche e della tecnica Whole Mount. Oltre a formalina per evitare la degradazione, nei contenitori è stata messa una targhetta con scritto: il nome della campagna oceanografica, la specie, il numero dell'individuo e il numero della cala per poter associare successivamente le gonadi alle misurazioni (peso totale, lunghezza totale ecc...) effettuate a bordo.

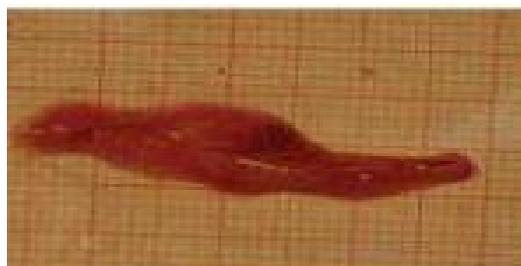


Figura 15: Ovario di acciuga in fase di "deposizione imminente" (stadio 3)



Figura 16: Ovario di acciuga in fase di post-deposizione parziale (stadio 5) all'interno della cavità addominale

Tabella 1 : Criteri generali di classificazione macroscopica per la determinazione delle fasi di deposizione in ovari di acciuga e sardina (WKSPMAT, 2008).

STADIO	ATTIVITA`	STADIO	CARATTERISTICHE MACROSCOPICHE
1	INATTIVO	IMMATURO	Ovario invisibile o molto piccolo e traslucido o leggermente colorato
2		SVILUPPO	Le dimensioni dell'ovario occupano 1/3 o 1/4 della cavità addominale, ha un colore rosa o giallo e non sono presenti oociti visibili
3	ATTIVO	DEPOSIZIONE IMMINENTE	L'ovario occupa 3/4 della cavità addominale, ha un colore giallo o arancione e oociti opachi sono visibili
4		DEPOSIZIONE	Un grande ovario occupa totalmente la cavità addominale, è totalmente o parzialmente traslucido con un aspetto gelatinoso e oociti trasparenti sono visibili
5		PARZIALE POST-DEPOSIZIONE	L'ovario ha una grandezza da 1/2 a 3/4 della cavità addominale, non è turgido, ha colore rosso a causa di zone emorragiche
6	INATTIVO	RIGENERAZIONE	Ovario rossastro e flaccido, grande meno di 2/3 della cavità addominale e sono visibili piccoli oociti opachi

2.3 Analisi di laboratorio

Presso il laboratorio del IAMC-CNR di Capo Granitola, gli ovari vengono pesati dopo la fissazione con formalina (0.001g), poiché dopo questa operazione il loro peso aumenta rispetto a quelli freschi (Schismenou et al. 2012), e sottoposti ad analisi istologiche che

permettono di confermare la fase di deposizione attraverso l'osservazione delle caratteristiche microscopiche, sempre in accordo alla scala a sei stadi proposta dall'ICES (WKSPMAT, 2008). Queste analisi hanno permesso di individuare un subset di campioni sui quali svolgere le successive stime di fecondità tramite applicazione della tecnica whole mount, dal momento che hanno permesso di escludere gli ovari che presentassero evidenze di deposizione appena avvenuta (POF recenti). In questo caso, infatti, la fecondità potrebbe risultare sottostimata, motivo per cui tali campioni vengono esclusi dalle stime (Hunter and Macewicz, 1985).

Infine i risultati ottenuti dal software FISAT II sono stati plottati sul software Excel tramite diversi tipi di grafici e analizzati attraverso diversi indici e test statistici. Per i campioni, sia di "Ancheva 2015" che di "Evatir 2015", sono stati determinati gli indici corporei: l'indice gonadosomatico e il fattore di condizione.

L'indice gonadosomatico (GSI) è determinato dal rapporto in % tra peso dell'ovario e il peso totale del pesce:

$$IGS = (PG / PS) * 100$$

Dove:

- PG è il peso della gonade (g);
- PS il peso somatico dell'individuo (g), che rappresenta il peso dell'individuo senza gonadi.

Invece per il calcolo del fattore di condizione (CF) si è fatto ricorso all'equazione di Fulton, che è il rapporto tra il peso totale e la lunghezza totale al cubo:

$$CF = PT / LT^3$$

Dove:

- PT = è il peso totale (g)
- LT è la lunghezza totale (mm).

2.4 Metodo Whole Mount

Presso il laboratorio del IAMC-CNR U.O.S di Capo Granitola, dalla parte centrale dell'ovario di femmine in deposizione imminente (stadio 3) è stata prelevata un subcampione, avente peso tra 0,030 e 0,040. Non vengono utilizzate le porzioni laterali delle gonadi per limitare le porzioni di tessuto interstiziale tra gli ovociti. I subcampioni, immediatamente dopo il loro prelievo, sono stati posti in piccole capsule Petri con acqua distillata, per evitare la disidratazione dell'ovocita. Una piccola graffetta è stata posizionata all'interno della soluzione nella capsula Petri e successivamente il composto è stato sottoposto ad agitazione moderata, con un agitatore magnetico, per circa 5 minuti, finché il tessuto non compare disgregato e gli ovociti ben separati. Successivamente i subcampioni vengono esaminati con l'ausilio di un binocolare ad un ingrandimento 6X e trattati manualmente con pinzette per prelevare i pezzi di membrana creati dopo l'agitazione e per separare eventuali ovociti ancora aggregati. Nel caso gli ovociti risultassero ancora eccessivamente ammassati, il campione viene posto nuovamente sull'agitatore magnetico per qualche minuto.

Prima di procedere con l'analisi d'immagine, è necessario effettuare una serie di calibrazioni del software, per permettere di convertire in modo adeguato il numero di pixel in una misura di lunghezza di unità nota, nel nostro caso millimetri. A questo scopo è stato utilizzato un vetrino micrometrico sul quale è disegnata una scala in grado di apprezzare il decimo di millimetro (Fig. 17)

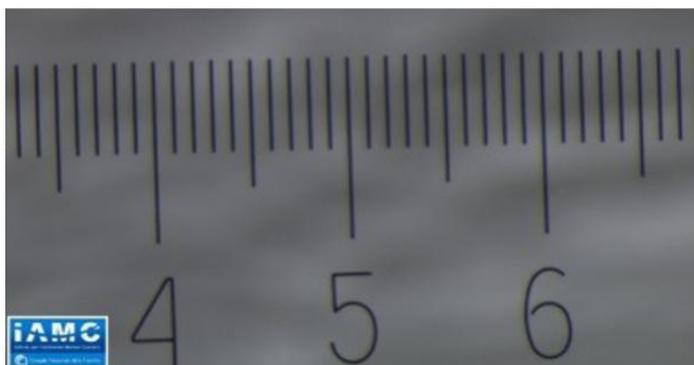


Figura 17: Foto del vetrino micrometrico

In seguito gli ovociti presenti in ciascuna porzione di gonade sono stati fotografati utilizzando una fotocamera digitale (LEICA DFC420) connessa allo stereomicroscopio (microscopio LEICA M165) ad ingrandimento 7X, e le immagini (Fig. 18) sono state acquisite attraverso il programma "Leica application Suite 4.2" (<http://www.leica->

microsystems.com/products/microscope-software/software-for-materials-sciences/details/product/leica-application-suite)



Figura 18: Campione di ovociti maturi (bianchi) acquisita con il programma “Leica application Suite 4.2”

Le analisi sono stati effettuate tramite l'uso di due software open source: Image J e FISAT II. Image J è un software di analisi immagine (Image Processing and Analysis in Java; <http://rsb.info.nih.gov/ij/>), utilizzato per stimare la fecondità del lotto deponente, cioè il numero di ovociti pronti per essere depositi. Il software fornisce informazioni: sul numero, l'area e il diametro degli ovociti target per la stima della maturità. La foto prima di essere analizzata viene convertita, sempre tramite il software, in immagine 8-bit, successivamente viene corretta usando filtri per: il contrasto e la luminosità, comando *Brightness/Contrast*, l'individuazione migliore di ovociti e il riconoscimento di eventuali residui di tessuto, comando *Threshold* (Fig. 19), e processata con un ulteriore filtro che separa due particelle rimaste a contatto, due ovociti, che porterebbero ad un'analisi non idonea, poiché apparirebbero come un unico oggetto (comando *Binary* e *Watershed*). Se anche dopo questo filtro due ovociti vengono identificati come un unico elemento, il software permette di intervenire manualmente, disegnandone il perimetro, li riconosce come due particelle distinte. Infine viene analizzata l'immagine introducendo un fattore di correzione per la forma ellittica dell'ovocita di acciuga, comando *Analyze particles* (Fig. 20 A), impostando il valore 0,30-1,0, e i risultati ottenuti (numero e dimensione degli ovociti), in Fig. 21, vengono trasportati in un foglio di calcolo Excel. Quest'ultimo passaggio avviene soltanto dopo aver controllato che tutti gli ovociti siano stati contati sovrapponendo l'immagine reale con quella degli ovociti numerati (Fig. 20 B).

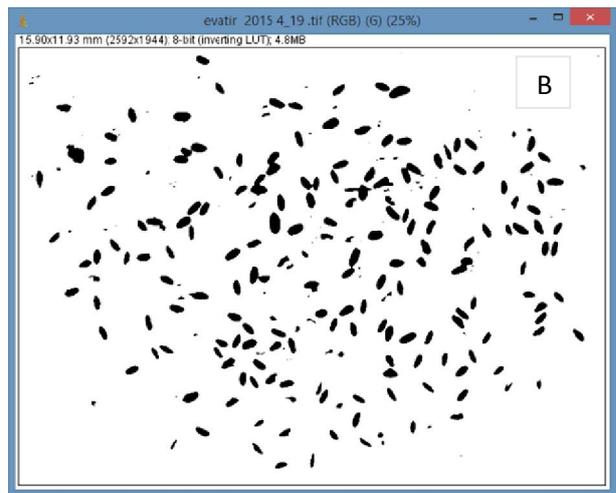
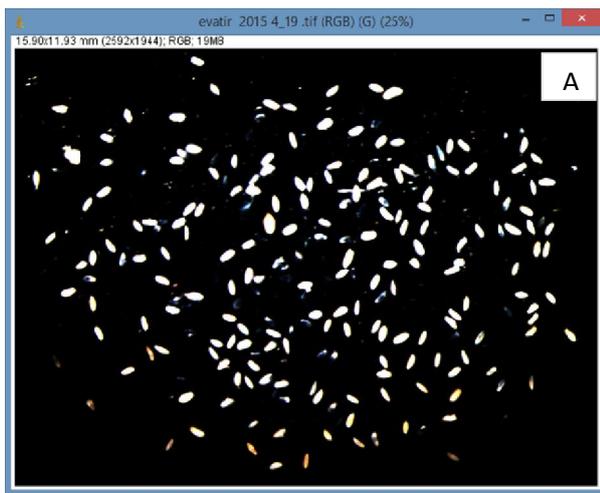


Figura 19: (A) Foto acquisita tramite programma “Leica application Suite 4.2” , (B) foto convertita in 8-bit, filtri *Threshold* e *Brightness/Contrast*

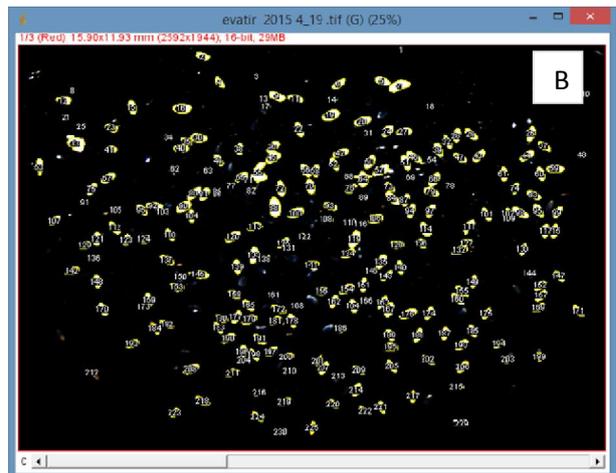
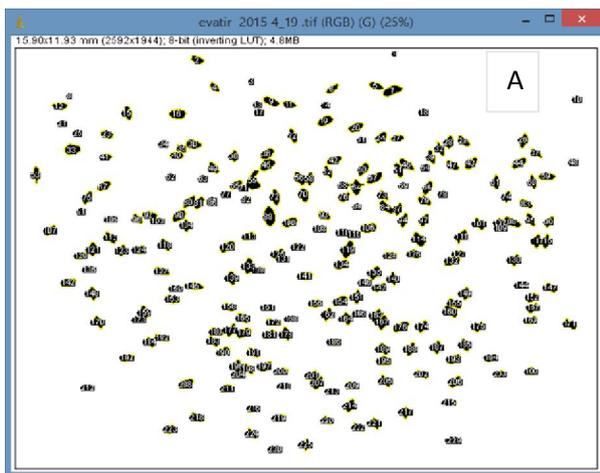


Figura 20: (A) Foto analizzata con il comando *Analyze particles*, (B) sovrapposizione tra l'immagine reale con quella degli ovociti numerata

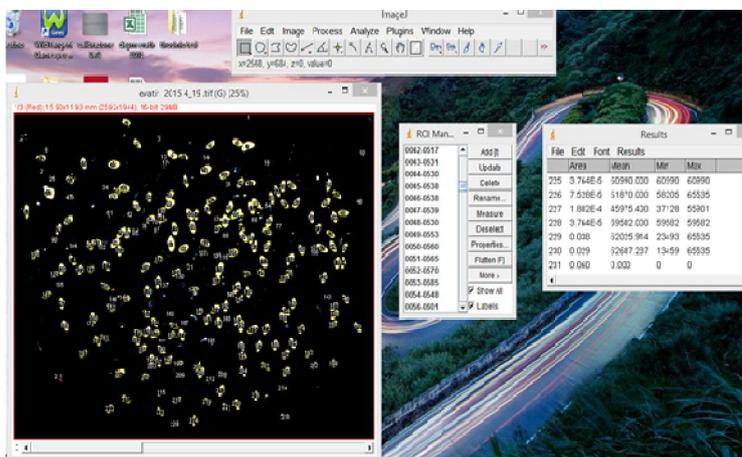


Figura 21: Dati finali ottenuti con il software Image J.

Nel foglio di Excel attraverso una Tabella di Pivot viene creato l'input per il programma di analisi dati FISATII per ciascun subcampione (Fig.22).

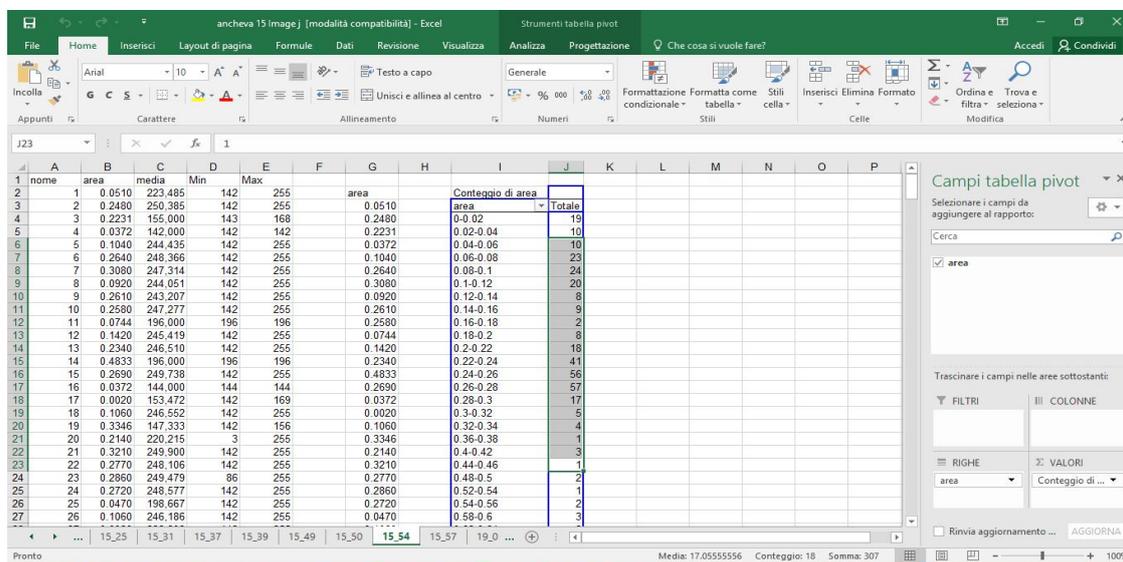


Figura 22: Risultati dell'analisi dati con il software di Image J su un subcampione con tabella di Pivot.

In FISATII (FAO-ICLARM Fish Stock Assessment Tools; <http://www.fao.org/fishery/topic/16072/en>) i dati vengono plottati formando delle curve, che permettono di identificare le popolazioni di ovociti con una distribuzione di frequenza di taglia di nostro interesse, grazie al metodo di Bhattacharya (Bhattacharya, 1967), che individua gruppi normalmente distribuiti e separati all'interno di una distribuzione multimodale. In particolare, nel nostro studio, tale metodo viene applicato perché in grado di determinare il numero di cellule del lotto di ovociti di dimensioni maggiori, ovvero in uno stadio di maturazione più avanzato. In altre parole, l'applicazione del metodo di Bhattacharya stima il numero di uova che rappresentano la fecondità del subcampione (Fig. 23).

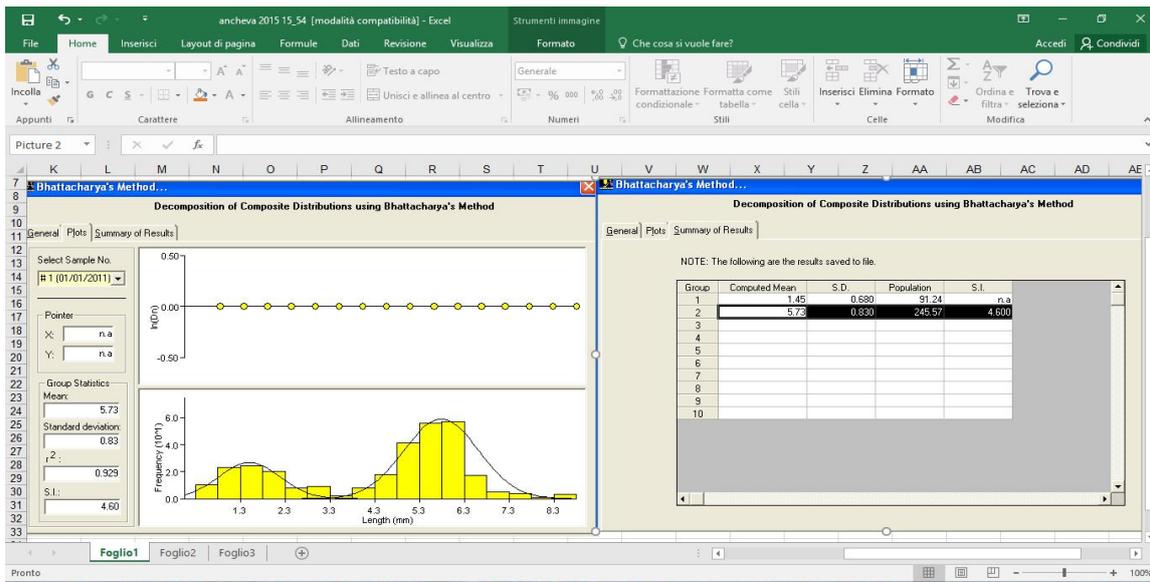


Figura 23: Risultati dell'analisi dati con il software FISAT II su un subcampione.

Per i campioni, in totale 83, provenienti da entrambe le aree di campionamento i dati ottenuti sono stati utilizzati per stimare la fecondità del lotto tramite la seguente formula:

$$F = (No_{ss} / PG_{ss}) * PG_{fix}$$

Dove:

- No_{ss} = numero di oociti nel subcampione
- PG_{ss} = peso gonade del subcampione
- PG_{fix} = peso gonade fissato in formalina

Inoltre sono stati applicati i test statistici non parametrici di Kolmogorov-Smirnov e di Mann-Whitney per stimare se vi è una differenza della fecondità, del fattore di condizione e dell'indice gonadosomatico tra le due differenti aree, infatti i test permettono di confrontare tra loro due campioni indipendenti per vedere se vi è compatibilità (Smirnov N. V, 1950; Mann H. B. and D. R. Whitney , 1947) .

3. RISULTATI

3.1 Analisi degli individui

Per il confronto tra le due aree, Stretto di Sicilia e l'area lungo le coste settentrionali siciliane, sono stati analizzati in totale 76 campioni di acciuga europea. Il subcampione di femmine usato per stimare la fecondità è stato comparato con tutte le femmine in fase di deposizione imminente, appartenenti al data set completo campionato in ciascuna delle campagne oceanografiche ("Ancheva 2015" e "Evatir 2015"), attraverso il test statistico di Kolmogorov-Smirnov, per osservare se hanno distribuzioni di taglia simili.

Nell'area dello Stretto di Sicilia sono stati utilizzati per la tecnica del Whole Mount 31 campioni, appartenenti a diverse cale: 6, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 31 (Tab. 3, Fig. 1). Questi individui hanno una distribuzione comparabile ($p > 0,10$) a quella del data set completo di acciughe catturate durante l'intera campagna (Fig. 24- 25-26).

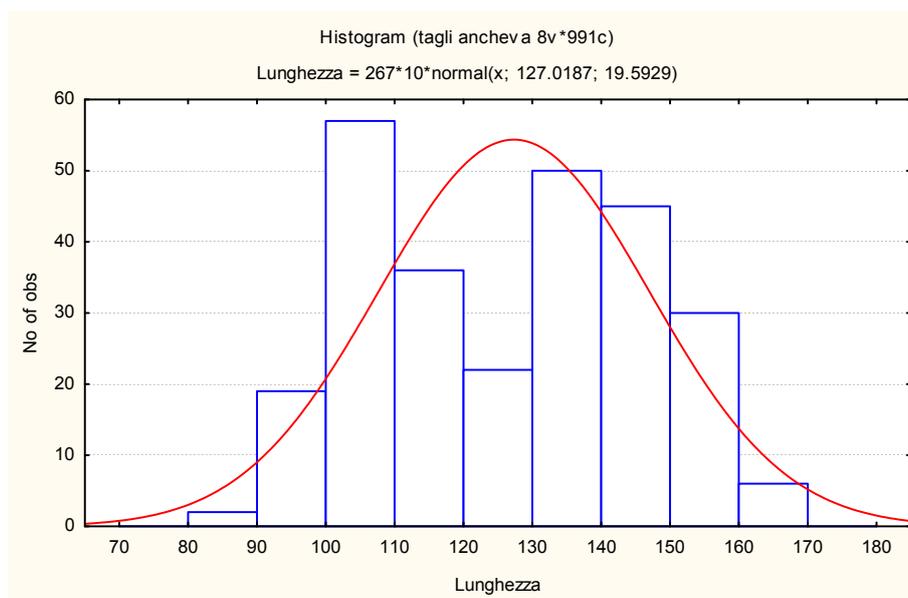


Figura 24: Distribuzione di taglia della popolazione del data set completo di femmine di *E. encrasicolus* in fase di deposizione imminente catturate nell'area dello Stretto di Sicilia.

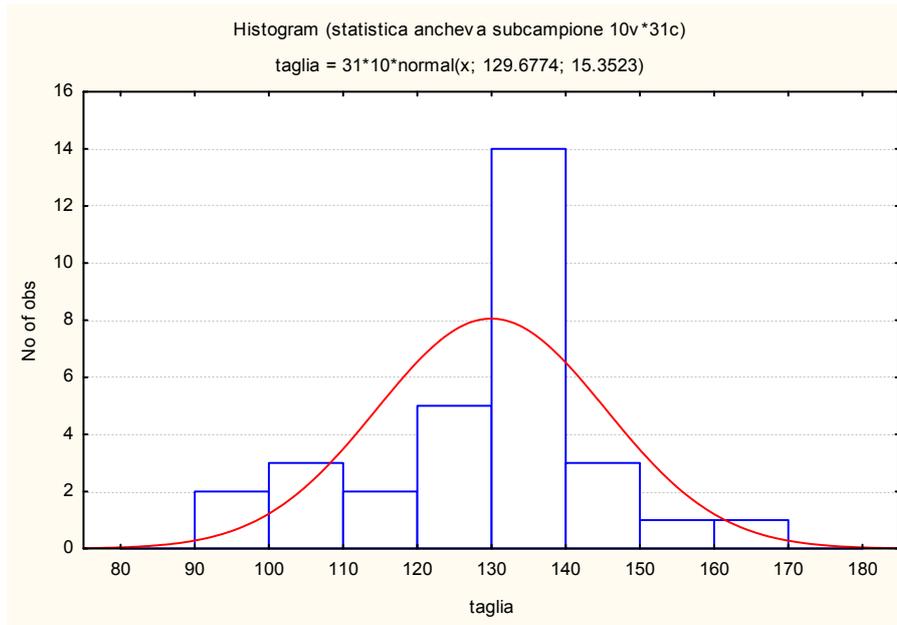


Figura 25: Distribuzione di taglia dei 31 campioni analizzati di femmine di *E. encrasicolus* in fase di deposizione imminente nell'area dello Stretto di Sicilia.

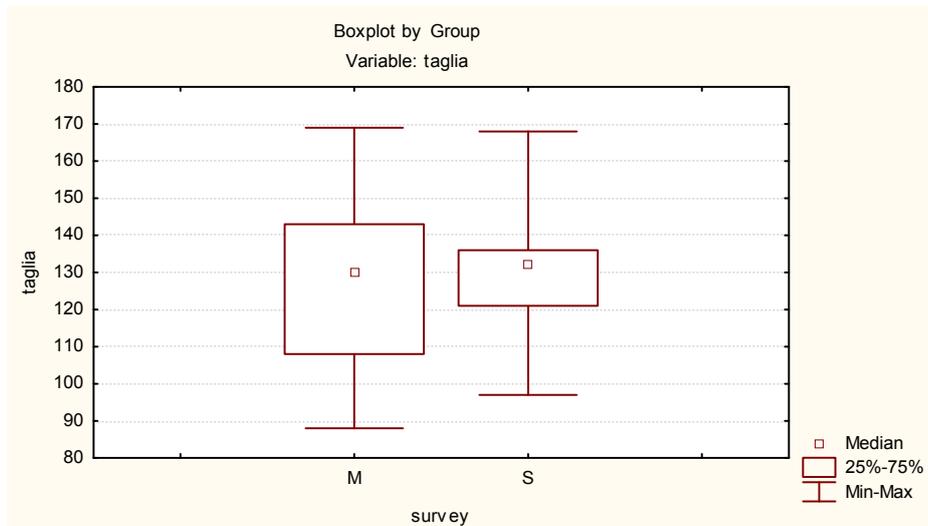


Figura 26: Confronto tra le taglie della popolazione del data set completo (M) e le taglie dei 31 campioni analizzati (S) di femmine di *E. encrasicolus* in fase di deposizione imminente per area dello Stretto di Sicilia, effettuato con il test di Kolmogorov-Smirnov.

Le 31 femmine del subcampione hanno un range di taglia compreso tra 97 mm e 164 mm e sono stati misurati: un peso minimo di 6,24 g e un peso massimo di 30,94 g. La relazione lunghezza-peso mostra un buon *fitting* con un elevato valore del coefficiente di determinazione ($r^2=0,95$) (Fig. 27). Inoltre nella suddetta area il valore dell'IGS medio è 4,85 % e il CF è 0.637 (Tab. 2; Figg. 28 e 29).

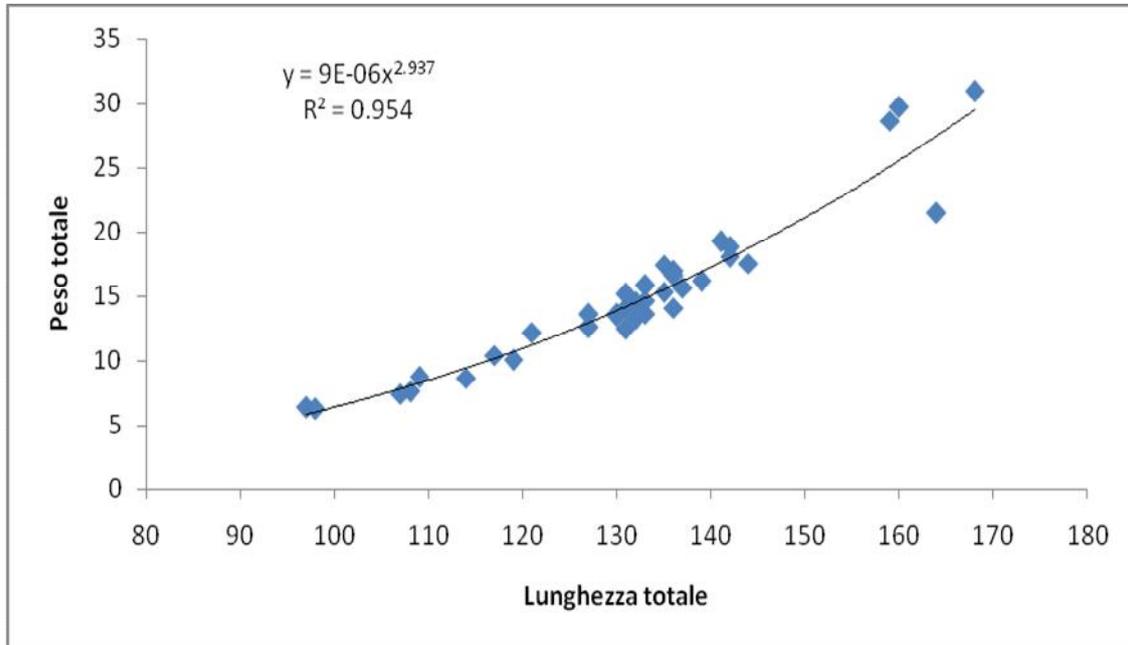


Figura 27: Relazione lunghezza-peso di *E. encrasicolus* nell'area dello Stretto di Sicilia

Tabella 2: Campioni di *E. encrasicolus* dell'area dello Stretto di Sicilia.

Cala	N° individui per cala utilizzati per le stime	N° di individui per cala usati per stimare la fecondità	Lunghezza totale media per cala	Peso totale medio per cala	Peso gonade medio per cala	Peso gonade fissato medio per cala	IGS medio per cala	CF medio per cala
6	1	1	135.00	17.420	13.870	0.613	0.0352	0.1123
9	4	4	128.80	13.408	12.725	0.527	0.0406	0.0885
11	5	5	126.00	13.824	13.228	0.628	0.0446	0.0927
12	5	5	135.80	16.114	15.548	0.602	0.0372	0.1028
13	3	3	108.00	8.453	8.040	0.460	0.0487	0.0654
14	1	1	130.00	13.610	12.890	0.598	0.0439	0.0907
15	11	11	130.36	13.891	12.938	0.553	0.0413	0.0913
19	4	4	162.75	17.698	25.728	1.788	0.0658	0.1516
31	2	2	116.50	9.375	8.780	0.745	0.0807	0.0686

Oltre i valori medi, è stata valutata la dipendenza dei due indici corporei, IGS e CF, rispetto alle cale effettuate. Il grafico dell'IGS (Fig. 28) mostra un andamento mediamente intorno a 4,0 e 6,0, sebbene in alcune catture (cala 19 e 31) si sono notati valori differenti.

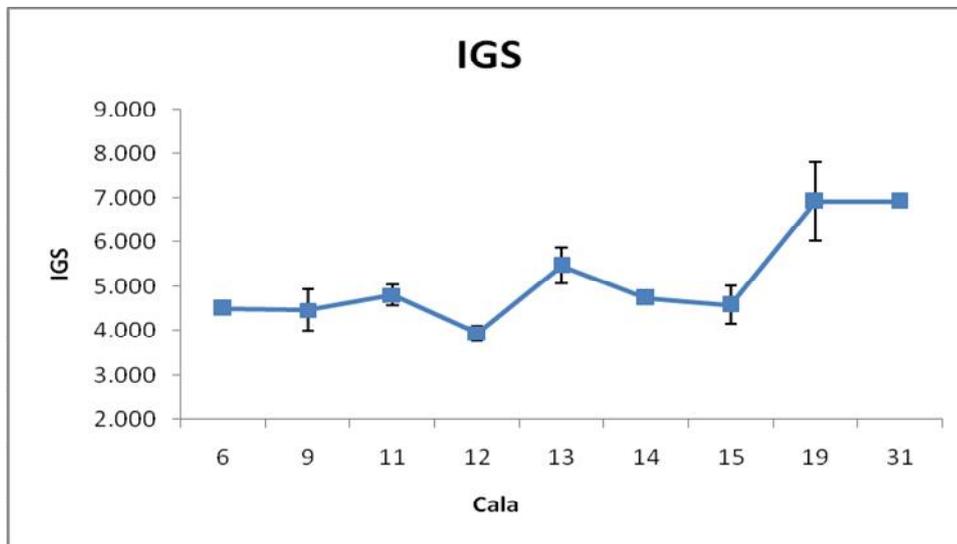


Figura 28: Indice gonadosomatico (IGS) medio (espresso in %) e relativi limiti di confidenza di *E. encrasicolus* per cala nell'area dello Stretto di Sicilia.

Il grafico del CF mostra valori che presentano differenze tra pescate contigue, con valori che oscillano tra 0,70 e 0,60, mentre mostra un andamento mediamente intorno allo 0,65 (Fig. 29).

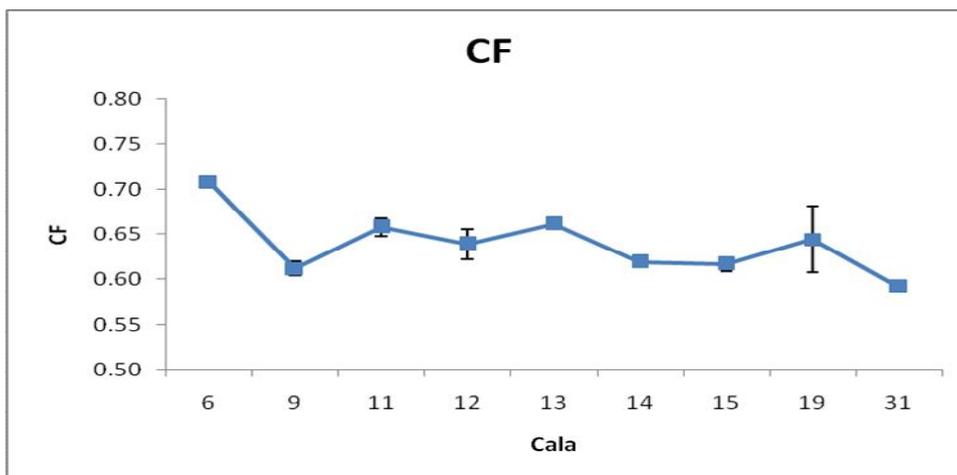


Figura 29: Fattore di condizione (CF) medio e relativi limiti di confidenza di *E. encrasicolus* per cala nell'area dello stretto di Sicilia.

Nell'area lungo le coste settentrionali siciliane sono stati campionati 45 individui di acciuga, ripartiti in quattro diverse cale: 3, 4, 6, 9 (Tab.3). Questi individui non hanno una distribuzione di taglia comparabile a quella del data set del totale dei campioni di acciuga catturati (Fig. 30-31-32).

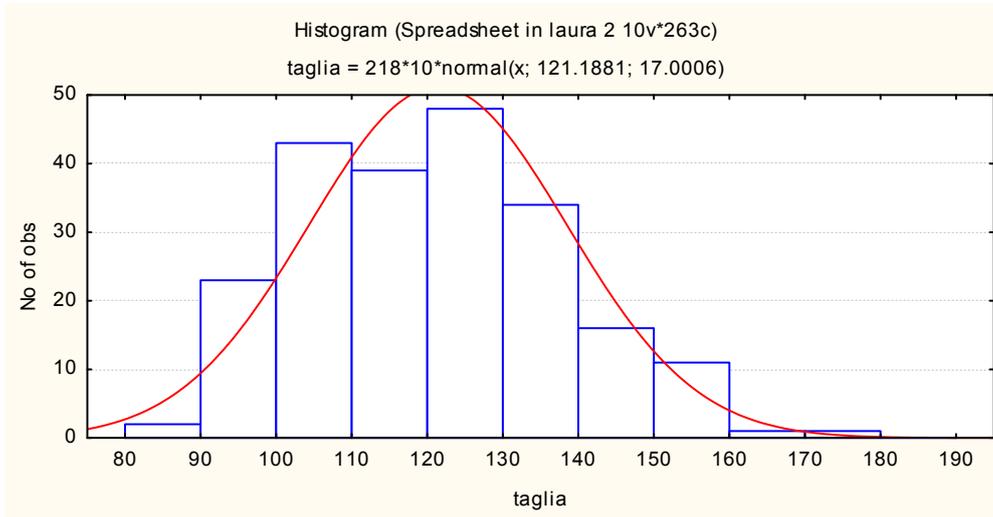


Figura 30: Distribuzione di taglia del data set completo di femmine di *E. encrasicolus* nella fase di deposizione imminente catturate durante la campagna nel Tirreno

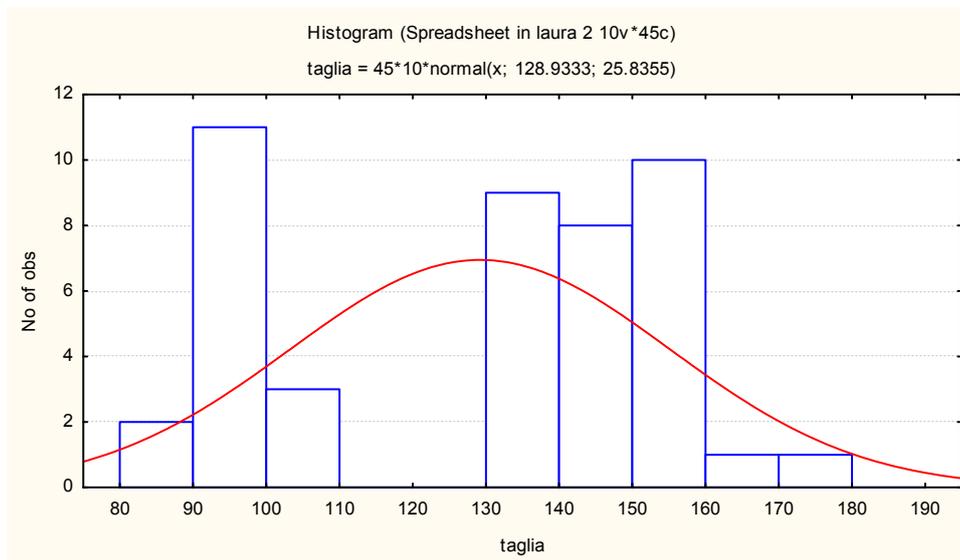


Figura 31: Distribuzione di taglia dei 45 campioni di femmine di *E. encrasicolus* in fase di deposizione imminente, analizzati per l'area lungo le coste settentrionali della Sicilia.

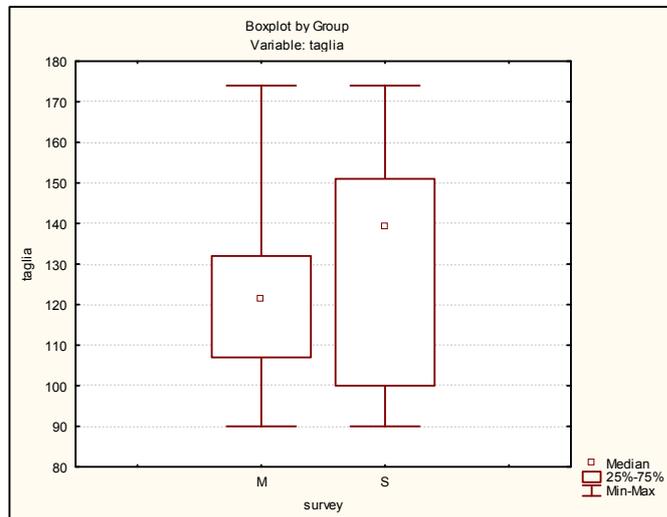


Figura 32: Confronto tra le taglie, della popolazione del data set completo (M) e le taglie dei 45 campioni analizzati (S) di femmine di *E. encrasicolus* nella fase di deposizione imminente per l'area tirrenica, effettuato con il test Kolmogorov-Smirnov.

Le 45 femmine di acciuga, che costituiscono il subcampione per l'area tirrenica, hanno un range di taglia compreso tra 90 mm e 174 mm e peso compreso tra un minimo di 4,87 g e un massimo di 33,80 g. Nella cala n° 4 è stata evidenziata la presenza abbondante di adulti di acciuga di piccola taglia rispetto alle altre tre cale (Tab.3). La relazione lunghezza-peso per quest'area (Fig. 33), come per lo Stretto di Sicilia, presenta un buon *fitting* con un elevato valore del coefficiente di determinazione ($r^2=0,99$). Mentre il valori medi di IGS e CF calcolati sono rispettivamente 6,07 % e 0,650 (Tab. 2; Figg. 34 e 35).

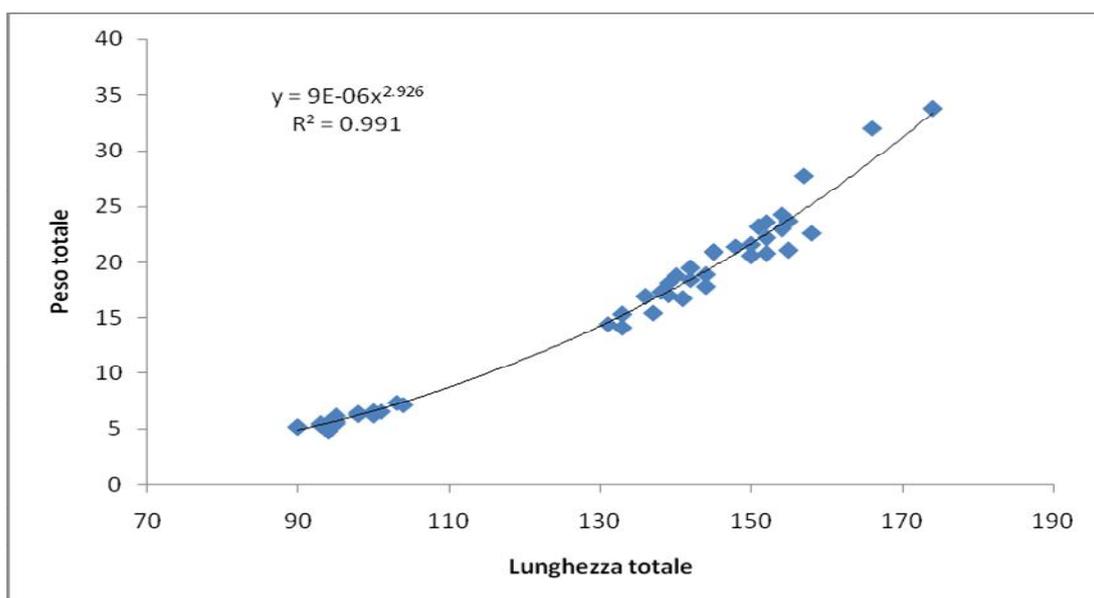


Figura 33: Relazione lunghezza-peso di *E. encrasicolus* nell'area lungo le coste settentrionali siciliane

Tabella 2: Campioni di *E. encrasicolus* dell'area lungo le coste settentrionali siciliane.

Cala	N° individui per cala utilizzati per le stime	N° di individui per cala usati per stimare la fecondità	Lunghezza totale media per cala	Peso totale medio per cala	Peso gonade medio per cala	Peso gonade fissato medio per cala	IGS medio per cala	CF medio per cala
3	17	17	124.64	12.861	0.908	0.712	0.0615	0.0906
4	14	14	11.92	10.091	0.563	0.592	0.0619	0.0744
6	3	3	134.33	14.423	0.797	0.746	0.0534	0.0984
9	13	13	154.69	22.551	1.159	1.263	0.0561	0.1348

Inoltre, anche per l'area della piattaforma meridionale siciliana, è stato valutato l'andamento dei due indici corporei, IGS e CF, rispetto alle cale effettuate. Il grafico dell'IGS (Fig. 34) mostra una variabilità minore nei valori rispetto allo Stretto di Sicilia.

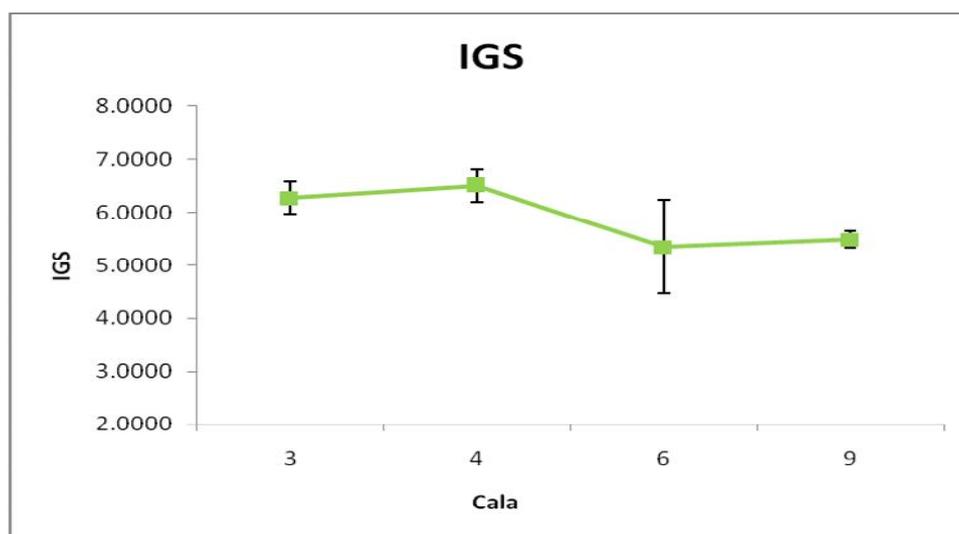


Figura 34: Indice gonadosomatico (IGS) medio (espresso in %) e relativi limiti di confidenza di *E. encrasicolus* nelle varie cale nell'area lungo le coste settentrionali siciliane

Mentre il grafico di CF presenta valori intorno a 0,65 nell'area lungo le coste settentrionali siciliane (Fig. 35), come nell'area dello Stretto di Sicilia.

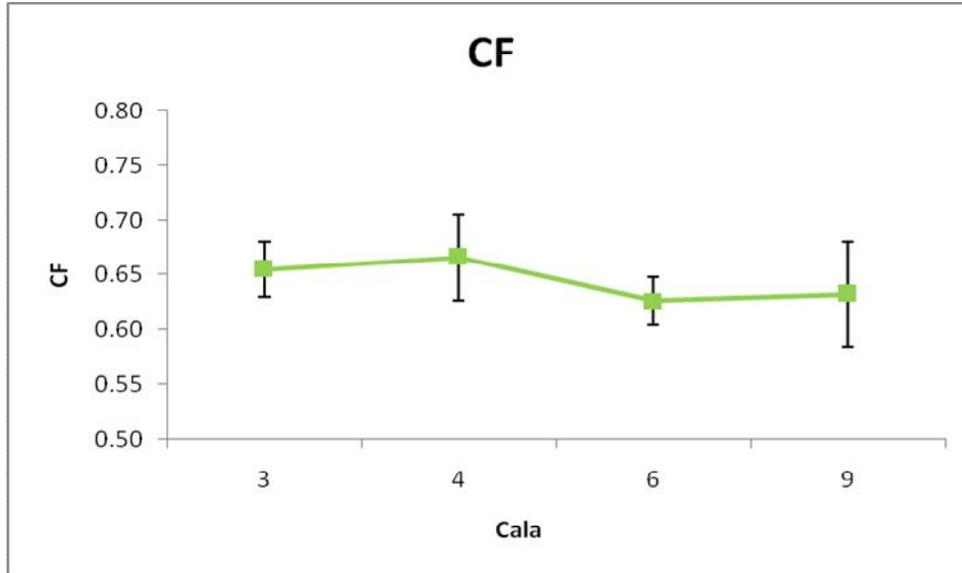


Figura 35: Fattore di condizione (CF) medio e relativi limiti di confidenza di *E. encrasicolus* nelle varie cale nell'area lungo le coste settentrionali siciliane.

3.2 Stime di fecondità

La relazione fecondità-peso somatico è stata riportata per entrambe le due aree di studio in figura 36 e in figura 37.

Nell'area dello stretto di Sicilia si ha un valore del coefficiente di determinazione di $r^2=0,46$, questo probabilmente dovuto ad un gap di individui di peso somatico da 19 g a 29 g. Infatti se si dovessero considerare solamente gli individui che hanno il peso somatico da 5,83 g a 18,07 g il coefficiente di determinazione potrebbe essere maggiore (Fig.36). Infine la media delle stime di fecondità delle cale, effettuate in quest'area, ha il valore di 4004,93 numero di uova per femmina matura per evento di deposizione.

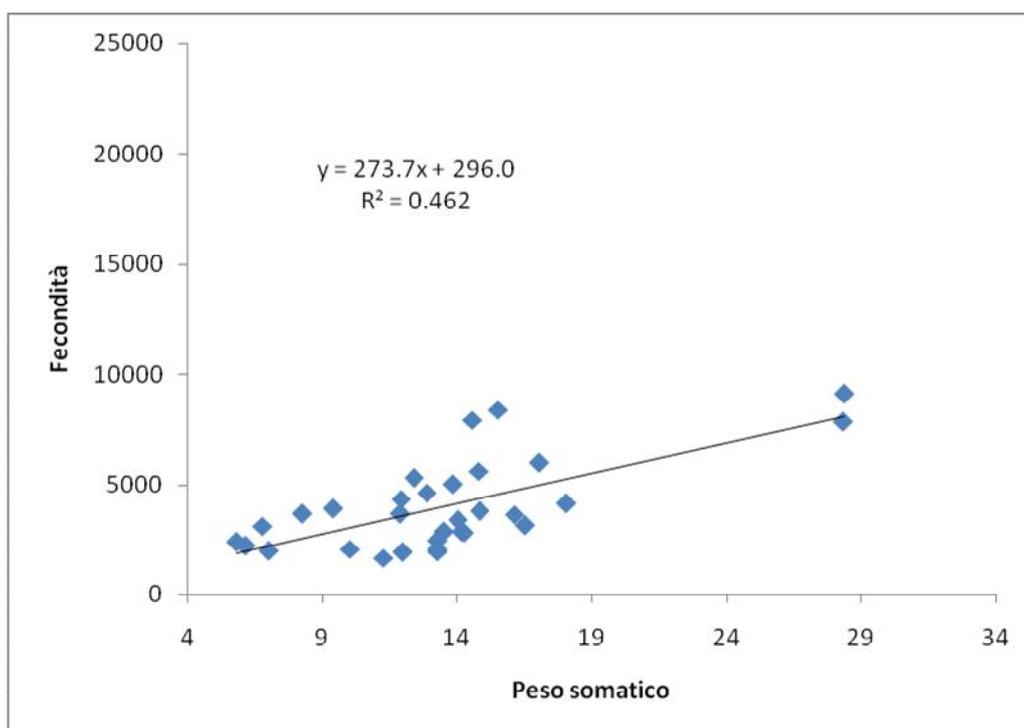


Figura 36: Relazione peso somatico-fecondità per i campioni di femmina di *E. encrasicolus* appartenenti all'area dello Stretto di sicilia

Nell'area prospiciente la costa settentrionale della Sicilia, nella relazione peso somatico-fecondità si riscontra un coefficiente di determinazione di $r^2=0,72$, presentando quindi un buon *fitting*. Inoltre, nella prima parte del grafico, si può osservare la presenza di individui con un peso somatico minore, tra 4,56 g e 7,10 g, rispetto ad un gruppo più numeroso avente peso somatico tra 13,55 g e 25,99 g. Gli esemplari con un peso minore sono stati riscontrati soprattutto in una cala, la cala 4, che è avvenuta tra Trapani e Palermo (Fig. 13). Come per la campagna oceanografica avvenuta nello stretto di Sicilia, anche in questo caso si può osservare una relazione lineare significativa tra peso somatico e fecondità (Fig. 37). Infine la media delle stime di fecondità delle cale, effettuate in quest'area, ha il valore di 6993,03 numero di uova per femmina matura per evento di deposizione.

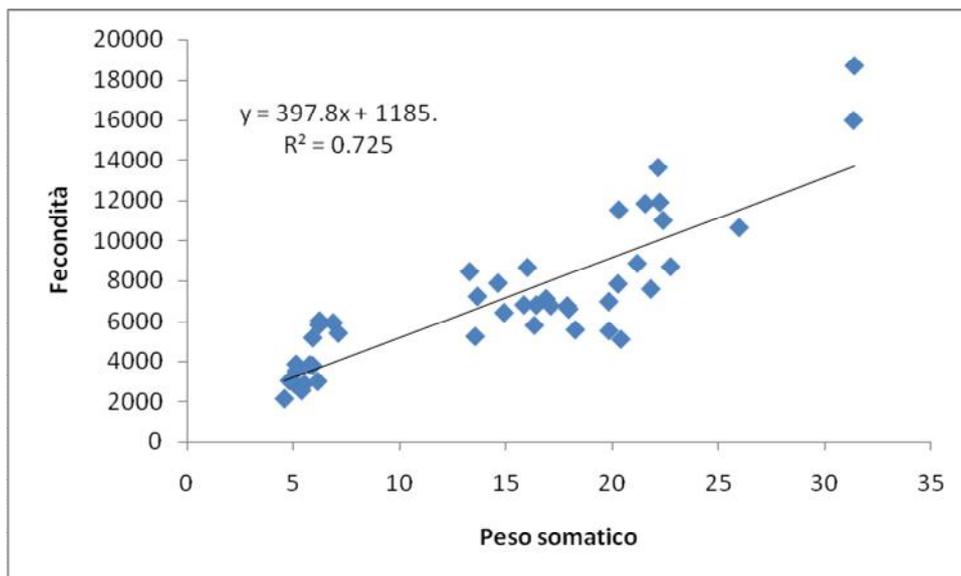


Figura 37: Relazione peso somatico-fecondità per i campioni di femmina di *E. encrasicolus* appartenenti all'area lungo le coste settentrionali siciliane

3.3 Confronto tra le aree

Il confronto tra le fecondità delle due aree, Stretto di Sicilia e l'area lungo le coste settentrionali siciliane, è stato effettuato attraverso due test statistici: Kolmogorov-Smirnov e Mann-Whitney. Quest'ultimo è stato effettuato, pur essendo simile al primo, per confermare i risultati ottenuti dal test di Kolmogorov-Smirnov.

Il test non parametrico di Kolmogorov-Smirnov ha rilevato valori significativi per la fecondità tra le due aree, trovando una differenza della stessa di p-value $p < 0,001$. Inoltre sempre con lo stesso test sono state riscontrate differenze anche per la taglia ($p < 0,05$), peso somatico ($p < 0,05$), del IGS ($p < 0,05$) e del CF sebbene con differenti valori di significatività ($p < 0,025$) (Tab.4).

Tabella 4: Risultati statistici del test di Kolmogorov-Smirnov

	Max Neg differnc	Max poss Differenc	p-level	Mean A	Mean E	Std. Dev. A	Std. Dev. E	Valid N A	Valin N E
Lunghezza	-0.339785	0.291039	$p < .05$	129.677	128.956	15.352	25.811	31	45
TW	-0.347670	0.291039	$p < .025$	14.411	15.460	5.423	8.069	31	45
SW	-0.339785	0.246595	$p < .05$	13.547	14.597	5.068	7.667	31	45
GW	-0.359857	0.044444	$p < .025$	0.658	0.819	0.410	0.400	31	45
GW fix	-0.359857	0.044444	$p < .025$	0.648	0.820	0.437	0.426	31	45
SSW	0.000000	0.209319	$p > .10$	0.036	0.035	0.002	0.002	31	45
NoOSS	-0.596416	0.000000	$p < .001$	236.528	315.978	64.955	69.324	31	45
No. Oocytes	-0.529749	0.000000	$p < .001$	4004.928	6993.026	2040.025	3580.355	31	45
GSI	-0.432975	0.000000	$p < .005$	4.852	6.061	1.627	1.605	31	45
CF	-0.358423	0.032258	$p < .025$	0.634	0.651	0.043	0.039	31	45

Il test non parametrico di Mann-Whitney ha evidenziato una differenza statisticamente significativa per la fecondità ($U=308$; $z = -4,12$; $p < 0,05$), quindi le due popolazioni nelle due aree hanno fecondità differente, confermando i risultati osservati con il test non parametrico di Kolmogorov-Smirnov. Inoltre si sono riscontrati valori significativi anche per l'IGS ($U=377$; $z = -3,39$; $p < 0,05$), mentre non significativi per il CF ($U=526$; $z = -1,81$; $p > 0,05$) a differenza di quanto ottenuto con il test precedente.

4. DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

L'ecologia riproduttiva dei pesci ha ricevuto un'attenzione crescente da parte della comunità scientifica internazionale, in seguito all'evidenza di come essa sia un elemento determinante per comprendere la dinamica delle popolazioni ittiche e per lo stock assessment. In particolare l'importanza dell'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*) come risorsa ittica, sia a livello economico che ecologico, nel Mar Mediterraneo, ha portato alla volontà di identificare la fecondità di questa specie per cercare di dare un limite al suo sovrasfruttamento (rappresentando il 22 % delle catture nazionali) (Rapporto annuale 2012 strutture produttive andamento della pesca).

Grazie ad un set di dati raccolti nell'area dello Stretto di Sicilia e nell'area prospiciente la costa settentrionale della Sicilia, durante due campagne oceanografiche organizzate dall'U.O.S di Capo Granitola dell'IAMC-CNR, si è voluto valutare l'abbondanza e la distribuzione degli stock dei piccoli pelagici durante il periodo estivo, che rappresenta il periodo del picco di deposizione dell'acciuga (Basilone et al., 2006), una delle specie target del suddetto monitoraggio. Obiettivo di questa tesi è stato quello di investigare l'ecologia riproduttiva di una specie chiave dell'ecosistema pelagico, in particolare di identificare la fecondità attraverso una metodologia innovativa di analisi d'immagine (Whole Mount) e valutare la presenza di eventuali differenze tra i parametri riproduttivi delle popolazioni di acciuga, che vivono lungo le coste meridionali e settentrionali della Sicilia. Per raggiungere tale obiettivo sono stati analizzati in totale 76 ovari della specie di acciuga europea in fase di deposizione imminente, di questi 31 gonadi sono state prelevate lungo le coste meridionali siciliane e 45 lungo le coste settentrionali della stessa regione.

Il metodo Whole Mount è stato scelto perché permette di accelerare le procedure di preparazione del campione, aumentando la riproducibilità delle misure effettuate e riducendo sia la soggettività dell'operatore che il consumo di tempo-uomo in laboratorio, rispetto ai metodi tradizionali. L'ulteriore vantaggio derivante dall'applicazione di questo metodo consiste nella possibilità di stimare il numero di uova deposte non facendo ricorso all'uso di ovociti idratati, come nel caso delle tecniche tradizionali. Tale peculiarità permette di poter applicare questa tecnica senza l'utilizzo delle femmine idratate che durante il fenomeno dell'idratazione delle uova tendono a segregare dal resto del banco, rendendo difficile il campionamento degli esemplari in questione (Ganias, 2008; Basilone

et al., 2015). L'applicabilità di questo metodo è stata ampiamente dimostrata in letteratura per specie che presentano differenti strategie di riproduzione; ad esempio il merluzzo del Nord (*Gadus morhua*), che ha una fecondità determinata (Thorsen e Kjesbu, 2001) e i piccoli pelagici, che hanno fecondità indeterminata, come *Engraulis encrasicolus* (Schismenoun et al., 2011).

Per il Canale di Sicilia la distribuzione di taglia degli esemplari di acciuga del subcampione utilizzato per le stime di fecondità è assai più rappresentativa della distribuzione complessiva di tutte le catture effettuate nell'intero Stretto ($p < 0,10$). Al contrario, le analisi svolte, per l'area del Tirreno, hanno determinato che la frequenza di taglia del subcampione di acciuga europea, ottenuto da alcune delle catture effettuate durante la campagna nel Tirreno, ha una compartizione del range di taglia pari a quelle dell'intero campione del survey, a meno della mancanza di due sole classi di taglia centrali comprese tra 110 mm e 130 mm, tuttavia tale distribuzione di frequenza delle lunghezze delle femmine del subcampione non è risultata significativamente rappresentativa dell'intero data set tirrenico ($p < 0,001$). Questa differenza può derivare dal fatto che l'intero campione del survey è stato prelevato in tutta l'area del Tirreno, dalle coste settentrionali della Sicilia alla Liguria, mentre l'area di studio, descritta in questa tesi, comprende un'area più ristretta: la piattaforma settentrionale siciliana.

La relazione lunghezza-peso, nelle due aree, mostra che l'aumento della lunghezza (taglia) è esponenzialmente correlato con un aumento del peso somatico. Infatti, arrivati ad una lunghezza massima si denota un aumento solo del peso dell'individuo, il medesimo andamento si riscontra anche in letteratura (Froese, 2006) e come già dimostrato per le specie target nell'area di studio (Bonanno et al., 2010)

Due indici corporei, l'indice gonadosomatico (IGS) e il fattore di condizione (CF) sono stati stimati per le stesse femmine di acciuga utilizzate per stimare la fecondità, perché tali indici sono usati di frequente per descrivere le condizioni nutrizionali e riproduttive sia delle specie ittiche (Basilone et al., 2006; Koufi et al., 2014) che di altri organismi marini, come per esempio crostacei (Jaziri et al., 2016). L'andamento dei due indici nelle due aree mostra differenze significative tra le popolazioni di acciuga che vivono lungo la costa settentrionale e meridionale della Sicilia, come confermano i risultati dei test statistici di Kolmogorov-Smirnov ($p < 0,05$ sia per l'IGS che per il CF) e Mann-Whitney ($p < 0,05$ per l'IGS). Tuttavia tali differenze non sono state confermate nel caso del CF quando si è utilizzato il test non parametrico di Mann-Whitney ($p > 0,05$), probabilmente

perché le mediane dei valori di CF stimati per le due aree non differiscono significativamente. In letteratura si evidenzia un trend simile tra abbondanza di zooplancton e CF, probabilmente attribuibile alla relazione tra taglia media delle femmine e abbondanza delle prede. Quindi il CF viene stimato poiché presenta differenze stagionali ed interannuali a causa della differente presenza di risorse trofiche, che permettono di stoccare energia per un successivo evento riproduttivo (Somarakis et al., 2004). Inoltre questo fattore viene incrementato anche dal peso dell'individuo (Basilone et al., 2006). Robusta risulta anche l'associazione tra GSI e temperatura, in quanto una maggiore temperatura determina un accrescimento somatico maggiore (Somarakis et al., 2004). L'indice gonadosomatico viene utilizzato per determinare il periodo riproduttivo, poiché durante il periodo della deposizione, quindi nel momento in cui gli ovociti presentano uno stadio di maturità più avanzato (vitellogenesi ed idratazione) quest'indice risulta più alto, per l'acciuga europea è tra Maggio-Ottobre. Alcuni autori, però, lo criticano perché può essere influenzato dalla taglia dei pesci (Basilone et al., 2006).

L'obiettivo di questa tesi è stato quello di stimare la fecondità per l'acciughe campionate nello Stretto di Sicilia e nel Mar Tirreno, in particolare nell'area prospiciente la costa settentrionale siciliana, e valutare le eventuali differenze tra le due stime. Una prima analisi effettuata attraverso la relazione peso somatico e fecondità ha evidenziato che gli individui aventi un peso somatico maggiore hanno anche una fecondità più elevata, confermando le evidenze già note in letteratura che mostrano come individui di taglia maggiore producano un maggior numero di uova (tra gli altri Marshall et al., 1998). I valori di fecondità stimati nelle due aree sono risultati significativamente differenti ($p < 0,001$ Kolmogorov-Smirnov e $p < 0,05$ Mann-Whitney). Nonostante il numero di uova prodotte rappresenti un parametro fondamentale per l'applicazione dei modelli di previsione di abbondanza di uno stock ittico (Hunter and Macewicz, 1985; Somarakis et al., 2012), l'elevata mortalità naturale nei primi stadi di vita (sopravvivenza delle larve) dovuta alle condizioni ambientali rappresenta un elemento chiave nella fluttuazione di abbondanza e per il reclutamento dei piccoli pelagici, come l'acciuga (Basilone et al., 2013).

Le specie ittiche pelagiche a vita breve, come l'acciuga europea, vivono in un ambiente altamente esposto ai fattori ambientali. Infatti l'incidenza della variabilità ambientale sulla fisiologia riproduttiva di questa specie è stata oggetto di numerosi studi in passato e rappresenta una linea d'investigazione sempre attuale (Parker, 1980; Somarakis et al., 2004; Basilone et al., 2006). In alcuni lavori si è focalizzata l'attenzione su quelli che sono

risultati i principali parametri che sembrano influire sul potenziale riproduttivo: temperatura e disponibilità di cibo (Funamoto e Aoki, 2002; Basilone 2006; Ganas, 2008). Nello specifico la presenza di risorse abbondanti di cibo porta a condizioni migliori degli adulti di acciuga europea e ad una produzione maggiore di uova, diminuendo inoltre l'intervallo tra due eventi di deposizione consecutivi (Somarakis et al., 2004). Questa tesi viene ulteriormente avvalorata dalle conoscenze sull'utilizzo dell'energia in specie a fecondità indeterminata. L'energia utilizzata per deposizioni multiple deriva principalmente dall'energia accumulata attraverso l'alimentazione, autori indicano che il 70 % dell'energia stoccata durante l'anno è utilizzata per la riproduzione. Inoltre in zone eutrofiche l'acciuga europea riesce a trovare abbastanza risorse trofiche per stoccare l'energia per un uso futuro nella riproduzione, questo è in contrasto con le aree più oligotrofiche, dove non riescono a trovare abbastanza risorse alimentari per un adeguato surplus energetico da poter spendere durante la stagione riproduttiva (Somarakis et al., 2004). Tuttavia è importante tenere presente che i valori di fecondità presentano sempre una variabilità interannuale relativa correlata alle variabili ambientali, come ad esempio la temperatura dell'acqua, durante il periodo riproduttivo (Motos, 1994), così com'è noto che la temperatura possa incidere sulla durata del periodo riproduttivo (Somarakis et al., 2004). Infatti la differenza di fecondità nel lotto riscontrata in questo lavoro nelle due aree, può essere attribuita alle condizioni abiotiche (temperatura e nutrienti) diverse che si osservano nello Stretto di Sicilia e lungo le coste settentrionali della Sicilia. Quindi tale differenziamento può essere basato sulla differenza nella presenza di nutrienti nelle due aree di studio, causata da un modello di circolazione dell'acqua differente nelle due zone. Infatti se la biforcazione del flusso d'acqua atlantica in due getti principali da luogo a un'ampia area di upwelling costiero lungo le coste meridionali della Sicilia, le coste settentrionali siciliane risultano invece caratterizzate da vortici semipermanenti e con caratteristiche transitorie (Marullo et al., 1994; Bonanno et al., 2014; Calabrò, 2015). Gli eventi di upwelling riscontrati nel canale di Sicilia hanno una variabilità interannuale e a breve scala temporale, che portano alla formazione di aree oligotrofiche dove l'acciuga europea presenta fecondità minore (Somarakis et al., 2004).

I risultati presentati in questo lavoro di tesi rappresentano solo un approccio preliminare e su un set di campioni piuttosto ridotto, tuttavia le differenze significative emerse tra le popolazioni di acciuga delle due aree di indagine risultano un interessante spunto per ulteriori verifiche, oltre a rappresentare una conferma dell'influenza che habitat con

caratteristiche diverse determinano sui parametri riproduttivi. Non va, infatti, trascurato che alla gestione e allo sfruttamento sostenibile delle risorse ittiche è legato il concetto di potenziale riproduttivo di uno stock, che consiste nella capacità di una popolazione di produrre, in un dato anno, uova e larve che siano in grado di sopravvivere (Trippel, 1999). Essere in grado di identificare le cause e le conseguenze delle variazioni del potenziale riproduttivo di uno stock significa migliorare lo stock assessment ed anche possedere gli strumenti per un approccio ecosistemico alla gestione delle risorse, come richiesto ormai anche dalle attuali politiche comunitarie ("Marine Strategi; Directive 2008/56/EC).

Uno studio che abbia mire di questo tipo deve svolgere la sua attenzione alla stima della fecondità della popolazione ittica, perché proprio calcoli della fecondità permettono di stimare la biomassa potenziale e di capire quanta energia gli esemplari adulti intendano investire nella procreazione e quindi nel mantenimento dello stock. Questi fenomeni, assieme al fatto che numerose risorse ittiche risultano sovrasfruttate dall'industria peschiera (Rapporto Annuale sulla Pesca e sull' Acquacoltura in Sicilia, 2009), spiega bene perché uno degli scopi principali della biologia della pesca sia quello di sviluppare e applicare metodologie sempre più affidabili e veloci, come la tecnica Whole Mount applicata nel presente lavoro, che forniscano gli strumenti per una gestione adeguata degli stock e dell'area in cui vivono.

5. BIBLIOGRAFIA

- Andaloro F. and A. Rinaldi, 1998. - Fish biodiversity change in Mediterranean Sea as tropicalisation phenomenon indicator. In: Indicator for assessing Desertification in the Mediterranean (D'Angelo E.G. & C. Zanolla, eds.) pp. 201-206
- Angelini S., 2009-2010. Tesi specialistica: Valutazione degli stock di alici (*Engraulis encrasicolus*) e sardine (*Sardina pilchardus*) con metodo di dinamica di popolazione.
- Armstrong P.R., 2001. Directed motion in the sea: efficient swimming by reef fish larvae. J. Theor. Biol. 210: pp.81–91.
- Astraldi M. and Bianchi C.N., 1995. Climatic fluctuations , current variability and marine species distribution : a case study in the Ligurian Sea (north-west Mediterranean). , 18, pp.139–149.
- Basilone G., C. Guisande, B. Patti, S. Mazzola, A. Cuttitta, A. Bonanno and A. Kallianiotis, 2004. Linking habitat conditions and growth in the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Fisheries Research*, 68(1-3), pp.9–19.
- Basilone G., C. Guisande, B. Patti, S. Mazzola, A. Cuttitta, A. Bonanno, A.R. Vergana and I. Maneiro, 2006. Effect of habitat conditions on reproduction of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily. *Fisheries Oceanography*, 15(4), pp.271–280.
- Basilone G., A. Bonanno, B. Patti, S. Mazzola, M. Barra, A. Cuttitta and R. McBride, 2013. Spawning site selection by European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in relation to oceanographic conditions in the Strait of Sicily. *Fisheries Oceanography*, 22 (4), pp.309-323.
- Basilone G., K. Ganas, R. Ferreri, M. D'Elia, E.M. Quinci, S. Mazzola and A. Bonanno, 2015. Application of GAMs and multinomial models to assess the spawning pattern of fishes with daily spawning synchronicity: A case study in the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the central Mediterranean Sea, *Fisheries Research*, Volume 167, pp. 92–100.
- Bethoux J. P., 1980. Budgets of the Mediterranean Sea. Their dependence on the local climate and on the characteristics of the Atlantic Waters. *Oceanologica Acta*, 2(2): pp.157-163.

- Bhattacharya T., 1989. Appendix 6 : Bhattacharya plots. , pp.6–9.
- Bianchi F. , M. Careri, M. Musci, A. Mangia, 2007. Fish and food safety: Determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC–MS analysis, *Food Chemistry*, Volume 100, Issue 3, 2007, pp.: 1049–1053.
- Bonanno A., G. Basilone, S. Mazzola, S. Goncharov, S. Popov, B. Patti, S. Genovese, B. De Luca, S. Aronica, I. Fontana, G. Giacalone, M. Barra, 2010 - Programma nazionale Italiano per la raccolta di dati alieutici 2009-2010 (2010). Modulo G “Campagna MEDIAS - GSA 16 (Stretto di Sicilia): Rapporto tecnico e analisi dati finale della campagna “Ancheva 2010” (2010). Istituto per l’Ambiente Marino Costiero, U.O.S. di Capo Granitola (IAMC-CNR), Italia: 97 pp.
- Bonanno A., Placenti F., Basilone G., Mifsud R., Genovese S., Patti B., di Bitetto M., Aronica S., Barra M., Giacalone G., Ferrari R., Fontana I., Buscaino G., Tranchida G., Quinci E., Mazzola S., 2014. Variability of water mass properties in the Strait of Sicily in summer period of 1998-2013. *Ocean Science* 10: pp.759-770.
- Bonanno A., G. Basilone, 2015. Consiglio Nazionale delle Ricerche Rapporto finale della campagna oceanografica.
- Brown-Peterson, D. Nyonsky, F. Saborido-Rey, B. J. Macewice and S. K. Loweree-Barbieri, 2011. A Standardized Terminology for Describing Reproductive Development in Fishes. *Marine and Coastal Fisheries*, 3(1), pp.52–70.
- Calabrò Monica, 2015. Tesi di dottorato: Ecologia trofica di comunità pelagiche in due aree del Mediterraneo: Stretto di Sicilia e Mar Tirreno.
- Cuttitta A., Carini V., Patti B., Bonanno A., Basilone G., Mazzola., García Lafuente J., García A., Buscaino G., Aguzzi L., Rollandi L., Morizzo G. e Cavalcante C., 2003. Anchovy egg and larval distribution in relation to biological and physical oceanography in the Strait of Sicily. *Hydrobiologia* 503: pp.117 – 120.
- Ettahiri O., Berraho A., Vidy G., Ramdani M. and Dochi T., 2003. Observation on the spawning of *Sardina* and *Sardinella* off the south Moroccan Atlantic coast (21–26°N). *Fisheries Research* 60: pp. 207–222.
- FAO, 2015. Clupeoid fishes of the world. (Suborder clupeioidi) An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, anchovies and wolf-herrings. Species catalogue Vol. 7, part 2. Engraulididae. Whitehead, P.J.P. 1985.

- FAO Fish. Synop., (125) Vol.7 Pt. 2: pp.305-579.
- Fischer Eric A. and Preston D. Hardison, 1987. The timing of spawning and egg production as constraints on male mating success in a simultaneously hermaphroditic fish Eric A. Fischer & Preston D. Hardison *Environmental Biology of Fishes*, Vol. 20, No. 4, pp. 301-310.
- Fisheries, F.A.O., 2013. FAO Global Capture Production database updated to 2013 Summary information Fisheries and Aquaculture Department. , pp.1–5.
- Froese R., 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *J. Appl. Ichthyol.* 22, pp. 241-253.
- Fuiman L. A., 1993. Development of predator evasion in Atlantic herring, *Clupea harengus* L. *Anim. Behav.*, 45: pp.191-299.
- Funamoto T. and I. Aoki, 2002. Reproductive ecology of Japanese anchovy off the Pacific coast of eastern Honshu. *Japan. J. Fish. Biol.*, 60 (1), pp.154-169.
- Ganias K., Somarakis S., Machias A. and Theodorou A., 2003. Evaluation of spawning frequency in a Mediterranean sardine population (*Sardina pilchardus*). *Mar. Biol.* 142: pp.1169– 1179.
- Ganias K., 2008. Ephemeral spawning aggregations in the Mediterranean sardine, *Sardina pilchardus*: a comparison with other multiple-spawning Clupeoids. *Mar Biol*, 155: pp.293– 301.
- García Lafuente J., García A., Mazzola S., Quintanilla L., Delgado J., Cuttitta A. and Patti B., 2002. Hydrographic phenomena influencing early life stages of the Sicilian Channel anchovy. *Fish. Oceanogr.*, 11(1): pp.31-44.
- Ghirardelli E., 1967. I fattori che regolano la microdistribuzione superficiale del plancton: la temperatura. *Boll. Soc. Adriatica Sci.* 55, pp.: 18-86.
- Grancini G. F. and Michelato A., 1987. Current structure and variability in the Strait of Sicily and adjacent area. *Annales Geophysicae, Series B (Terrestrial and Planetary Physics)*, 5 (1): pp.75-88.
- Holden M. J. and Raitt D.F.S., 1974. Manual of fisheries science. 2. Methods of resource investigation and their application. FAO Fisheries Technical Paper, 115, Rev. 1: pp.211.

- Holt G. J. and Riley M.C., 2000. Laboratory spawning of Coral Reef Fish: effects of temperature and photoperiod. UJNR Technical Report No. 28: pp.33-38.
- Hunt von Herbing I., Gallager S.M. and Halteman W., 2001. Metabolic costs of pursuit and attack in early larval Atlantic cod. Mar. Ecol. Prog. Ser. 216: pp.201– 212.
- Hunter J.R. and Macewicz B. J., 1985. Measurement of spawning frequency in multiple spawning fishes. in R. Lasker, editor. An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: application to the northern anchovy, *Engraulis mordax*. U.S. Dept Of Commerce NOAA Technical Report, 36: pp.41–69.
- Hunter J.R., Macewicz B. J. and Sibert J.R., 1986. The spawning frequency of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the South Pacific. Fishery Bulletin: VOL. 84, NO.4: pp.895 – 903.
- Jaziri H., Ferreri R., Khoufi W., El Fehri S., Ben Meriem S., Pulizzi M., Mangano S., Bonanno A., Mazzola M. and Basilone G., 2016. Seasonal variation of reproductive traits of the caramote prawn in the Gulf of Tunis. In press in Aquatic living resources
- Khoufi W., Ferreri R., Jaziri H., El Fehri S., Gargano A., Mangano S., Ben Meriem S., Romdhane M.S., Bonanno A., Basilone G., 2014. Reproductive potential aspects in hake (*Merluccius merluccius*) in the central Mediterranean Sea: first observations from Tunisian waters. Journal of the Marine Biological Association of the UK. 94 (7),1545–1556.
- ICES WKSPMAT REPORT, 2008. Report of the Workshop on Small Pelagics (*Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus*) maturity stages (WKSPMAT).
- Irepa, 2011. Osservatorio economico sulle strutture produttive della pesca marittima in Italia 2011.
- Leonart, J. and Maynou, F., 2003. Fish stock assessments in the Mediterranean : state of the art , 67, pp.37–49.
- Mann H. B. e D. R. Whitney, 1947. On a Test of Whether one of Two Random Variables is Stochastically Larger than the Other. The Annals of Mathematical Statistics, Vol. 18, No. 1, pp. 50-60.

- Manzella G. M. R., Gasparini G.P. e Astraldi M., 1988. Water exchange between the eastern and western Mediterranean through the Strait of Sicily. *Deep Sea Research*, 35(6): pp.1021-1035.
- Marine Strategi; Directive 2008/56/EC
- Marshall C. T., Kjesbu O.S., Yaragina N.A., Solemdal P. e Ulltang, O., 1998. Is spawner biomass a sensitive measure of the reproductive and recruitment potential of Northeast Arctic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55 (7), pp..1766–1783.
- Mazzola S., García A. e García Lafuente J., 2000. Distribution, biology and biomass estimates of the Sicilian Channel anchovy DGXIV MED 96/052 Final Report.
- Mazzola S., Patti B., Bonanno A., Cuttitta A., Basilone G., Calise L., Buscaino G., Goncharov S., Cosimi G., Palumbo V., Garcia A., Quintanilla L.F., Cortes D., Baro J., Carpena A., Serna J.M., Garcia Lafuente J., Vargas J. M., Criado F., Sarhan T. and Plaza F., 2002. The Sicilian Channel anchovy fishery and the underlying oceanographic and biological processes conditioning their inter-annual fluctuations. DG XIV, MED 98-070 Final Report, 2002.
- McBride R.S., Somarakis S., Fitzhugh G.R. Albert A., Yaragina N.A., Wuenschel M.J., Alonso-Fernandez A. and Basilone G. (2013). Energy acquisition and allocation to egg production in relation to fish reproductive strategies. *Fish and Fisheries*. doi: 10.1111/faf.12043.
- Melià P., G. Albertelli, A. Mandich and M. Gatto, 2001. Applicazione di tecniche di stima non parametrica alla valutazione dello stock di acciuga (*Engraulis encrasicolus*) del Mar Ligure.
- Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali dipartimento delle politiche europee ed internazionali direzione generale della pesca marittima e dell'acquacultura, 2011. RAPPORTO ANNUALE 2011 STRUTTURE PRODUTTIVE ANDAMENTO DELLA PESCA.
- Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali, Dipartimento delle politiche Europee ed Internazionali, Direzione generale della Pesca Marittima e dell'Acquacultura, 2012. RAPPORTO ANNUALE 2012 STRUTTURE PRODUTTIVE ANDAMENTO DELLA PESCA.

- Moretti M., Sansone E., Spezie G. and De Maio A., 1993. Results of investigations in the Sicily Channel (1986-1990). *Deep-Sea Research II* 40 (6): pp.1181-1192.
- Morgan M. J. and Bratley J., 2005. Effect of changes in reproductive potential on perceived productivity of three Northwest Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks. *ICES Journal of Marine Science*, 62: pp.65–74.
- Murua H., G. Kraus, F. Sarborido-Rey, P.R Witthames, A. Thorsen and S. Junquera, 2003. Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 33, pp.33–54.
- Marullo S., Santoleri R. and Bignami F., 1994. The surface Characteristics of the Tyrrhenian Sea: Historical Satellite Data Analysis, in: *Seasonal and Interannual variability of the Western Mediterranean Sea*, American Geophysical Union, Washington, D. C.
- Onken R. and Sellschopp J., 1998. Seasonal Variability of Flow Instabilities in the Strait of Sicily. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 103, C11: pp.24799-24820.
- Parker K., 1980. A direct method for estimating northern anchovy, *Engraulis mordax*, spawning biomass. *Fish. Bull. U.S.* 78: pp.541-544.
- Patti B., Bonanno A., Basilone G., Quinci E. M. and Mazzola S., 2009. Anchovy, *Engraulis encrasicolus* – GSA 16 (South of Sicily) presented at General Fisheries Commission for the Medi-terranean, Sub-Committee On Stock Assessment (SCSA), Report of the SCSA Working Group on Stock Assessment of Small Pelagic Species, Ancona, Italy 26-30 October 2009.
- Piano di Gestione (ex art.24 del Reg. (CE) n.1198/2006), 2011. GSA 9 - Mar Ligure , Mar Tirreno Settentrionale e Centrale Strascico Maggio 2011.
- Picquelle S. J. and Stauffer G., 1985. Parameter Estimation for an Egg Production Method of Anchovy Biomass Assessment. In: Lasker R., ed. *An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, Engraulis mordax*. NOAA Technical Rep. NMFS 36: pp.7-16.
- Regione Siciliana Assessorato delle Risorse Agricole e Alimentari Dipartimento degli Interventi per la Pesca, 2009. *Rapporto Annuale sulla Pesca e sull ' Acquacoltura in Sicilia*.

- Regner S., 1996. Effects of environmental changes on early stages and reproduction of anchovy in the Adriatic Sea. *Sci. Mar.* 60: pp.167–177.
- Rice J. A., Crowder L.B. and Binkowski F.P., 1987. Evaluating potential sources of mortality for larval bloater (*Coregonus hoyi*): starvation and vulnerability to predation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44: pp.467–472.
- Robinson A. R., Warn-Varnas A., Sellschopp J., Leslie W. G., Haley P. J., Lozano C. J., Sloan N.Q. and Anderson L.A., 1999. The Atlantic Ionian Stream. Special Issue in Memory of Dr. Antonio Michelato. In press in *Journal of Marine Systems*.
- Rombough P. J., 1997. The effects of temperature on embryonic and larval development. In: Wood C.M., McDonald D.G. (Eds.), *Global Warming. Implications for Freshwater and Marine Fish*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp.177– 223.
- Salat J. and Font J., 1987. Water mass structure near and offshore the Catalan coast during winters 1982 and 1983. *Annales Geophys.*, 5B (1): 49-54. In: Salat J. (1996). Review of hydrographic environmental factors that may influence anchovy habitats in northwestern Mediterranean. *Sci. Mar.*, 60 (Supl. 2): pp.21-32.
- Schismenou E., S. Somarakis, A. thorsen and O. S. Kiesbu, 2012. Dynamics of de novo vitellogenesis in fish with indeterminate fecundity: an application of oocyte packing density theory to European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Marine Biology*, 159(4), pp.757–768.
- Simpson A. C., 1951. The fecundity of plaice. UK Ministry of Agriculture and Fisheries. *Fish. Invest.* (Ser. 2) 5, pp.25 .
- Smirnov N. V.,1950. On the construction of confidence regions for the density of distributions of random variables, *Doklady Akad. Nauk SSSR (NS)*, Vol. 74, pp. 189-19
- Somarakis S., Palomera I., Garcia A., Quintanilla L., Koutsikopoulos C., Uriarte A. e Motos L., 2004. Daily egg production of anchovy in European waters. *ICES Journal of Marine Science*, 61: 944-958.
- Somarakis, S., Schismenou, E., Siapatis, A., Giannoulaki, M., Kallianiotis, A., and Machias, A. 2012. High variability in the Daily Egg Production Method parameters of an eastern Mediterranean anchovy stock: Influence of environmental factors, fish condition and population density. *Fisheries Research*, 117– 118: 12– 21.

- Stratoudakis Y., Bernal M., Ganias K. and Uriarte A., 2006. The daily egg production method (DEPM): recent advances, current applications and future challenges. *Fish Fish.* 7: pp.35– 57.
- Taylor R. G., Grier H.J. and Whittington J.A., 1998. Spawning rhythms of common snook in Florida. *J. Fish Biol.* 53: pp.502–520.
- Thorsen A. and Kjesbu O. S., 2001. A rapid method for estimation of oocyte size and potential fecundity in Atlantic cod using a computer-aided particle analysis system. *Journal of Sea Research*, 46(3-4), pp.295–308.
- Torri M., A. Cuttitta, G. M. Armeri, F. Cali, C. Patti, B. De Luca, A. Di Maria, F. Mangiaracina, E. Quinci, F. Falco, M. Musco, I. Maneiro, C. Bennici, B. Patti, S. Mazzola, 2013. *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus , 1758) e (Valenciennes , 1847): rapporto tecnico sulla metodologia di acquisizione di dati morfometrici dei primi stadi di sviluppo del ciclo vitale Sommario. , pp.1–16.
- Trippel E.A., 1999. Estimation of stock reproductive potential: history and challenges for Canadian Atlantic gadoid stock assessments. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 25: 61-81.
- Uttieri M., Cianelli D., Buongiorno Nardelli B., Buonocore B., Falco p., Colella S. and Zambianche E, 2011. Multiplatform observation of the surface circulation in the Gulf of Naples (Southern tyrrhenian Sea). *Ocean Dynamics* 61: pp.779-796.
- Van Leeuwen C.J., P.S. Griffioen, W. H. A. Vergouw and J.L. Maas-Diepeveen, 1985. Differences in susceptibility of early life stages of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, 7: pp.59-78.
- Varagnolo S., 1965. Alcune osservazioni sulla distribuzione delle uova galleggianti di *Telcostei* nell'Alto Adriatico, *Bolletino di zoologia*, 32:2, pp: 849-858.
- Varagnolo S., 1968. Analisi della produzione ittica dei mercati di Chioggia e di Venezia. *Arch. Oceanogr. Limnol.*, 15(Suppl): pp.201-235.

Zarrad R., Missaoui H., Alemany F., Hamza A., Romdhane M. S., García A., Jarboui O. and M'rabet R., 2008. Distribution and abundance of early life stages of *Sardina pilchardus* in the Gulf of Tunis (Central Mediterranean Sea) in relation to environmental and biological factors. *Scientia Marina* 72(2): pp.299-309. Barcelona (Spain). ISSN: 0214-8358.

<http://rsb.info.nih.gov/ij/>

<http://www.fao.org/fishery/topic/16072/en>

<http://www.leica-microsystems.com/products/microscope-software/software-for-materials-sciences/details/product/leica-application-suite>

RINGRAZIAMENTI

Grazie al Dott. Gualtiero Basilone, che in qualità di correlatore mi ha prestato aiuto ed è stato sempre disponibile durante tutto il periodo della tesi.

Grazie alla Dott.ssa Rosalia Ferreri per l'auto che mi ha mostrato e per i preziosi insegnamenti per la mia formazione personale.

Grazie al Prof. Fausto Tinti che si è dimostrato un attento e disponibile relatore.

Grazie al Dott. Mario Sprovieri per avermi dato la possibilità di poter effettuare il tirocinio nelle strutture e nei laboratori dell'IAMC-CNR di Capo Granitola

Grazie ad Antonella, Maurizio e Salvo per avermi insegnato le tecniche affrontate nel tirocinio, per il vostro sostegno e per avermi sopportato in tutti questi quattro mesi.

Grazie a tutte le persone che mi hanno accolto nella "famiglia" dell'istituto di Capo Granitola, siete troppi per essere nominati tutti, grazie soprattutto per la compagnia, per avermi fatto capire che non sono l'unica ad amare il mare così tanto e per i sorrisi che mi avete sempre regalato. Grazie, anche, ai dipendenti e proprietari del bar di Torretta Granitola che mi hanno aiutato tantissimi durante questo periodo lontano dalla mia famiglia e che, tra risate e caffè, ho passato tante pause pranzo fantastiche.

Infine, ma non per ultimi, grazie ai miei familiari, perché nonostante tutto mi avete sempre sopportato e supportato nella mia carriera universitaria e nelle mie scelte, anche se non eravate pienamente d'accordo. Grazie ai miei amici, della triennale, della specialistica e di Verona, che mi trasmettete sempre la voglia di viaggiare e di affrontare nuove avventure sempre con il sorriso. Grazie a Giulia che, da anni ormai, sei diventata un porto sicuro dove rifugiarmi quando ho bisogno. Soprattutto grazie a "te" che sopporti ogni mio sbalzo d'umore, mi appoggi, mi sei sempre accanto e sei una delle persone più importanti.