



Università
Ca' Foscari
Venezia

**Dottorato di ricerca
in Scienze Ambientali
Scuola di dottorato in Scienze e Tecnologie
Ciclo XXIV
(A.A. 2010 - 2011)**

***Studio dell'ecologia riproduttiva dell'acciuga
europea (*Engraulis encrasicolus*) in relazione ai
principali parametri ambientali***

**SETTORE SCIENTIFICO DISCIPLINARE DI AFFERENZA: BIO/07
Tesi di dottorato di Rosalia Ferreri, matricola 955677**

Coordinatore del Dottorato

Prof. Bruno Pavoni

Tutori del dottorando

Dott. Fabio Pranovi

Dott. Gualtiero Basilone

*Si! L' amo! Il mare è tutto. Copre i sette decimi del
globo terrestre; il suo respiro è puro e sano; è
l'immenso deserto in cui l' uomo non è mai solo,
poiché sente la vita accanto a sé. Il mare non è altro
che il veicolo di un' esistenza straordinaria e
prodigiosa; non è che movimento e amore, è l'infinito
vivente.*

Jules Verne "Ventimila leghe sotto i mari"

CAPITOLO I.....	5
Introduzione	5
I.1. L'ACCIUGA EUROPEA: SFRUTTAMENTO ED IMPORTANZA DELLA RISORSA	5
I.2. LA BIOLOGIA RIPRODUTTIVA DELL'ACCIUGA EUROPEA.....	9
I.2.1. La fecondità	10
I.2.2. Il potenziale riproduttivo	12
I.2.3. I metodi ittioplanctonici per la stima della biomassa	16
I.3. L'AREA DI STUDIO	19
I.3.1. Lo Stretto di Sicilia	19
I.3.2. Il campionamento.....	21
I.4. OBIETTIVI DEL LAVORO.....	24
CAPITOLO II.....	25
Importanza dell'analisi microscopica per la determinazione della maturità sessuale nella valutazione dello <i>stock assessment</i>	25
II. 1. INTRODUZIONE.....	25
II. 2. MATERIALI E METODI	29
II.2.1. L'analisi istologica delle gonadi	29
II.2.2. Confronto tra due metodi di classificazione della maturità gonadica	31
II.3. RISULTATI E DISCUSSIONI	32
CAPITOLO III.....	39
Variabilità nell'abbondanza della popolazione deponente in relazione alla variabilità dei parametri riproduttivi dello stock	39
III.1. INTRODUZIONE.....	39
III. 2. MATERIALI E METODI	42

III. 2.1. Campionamento dello stock degli adulti nello Stretto di Sicilia.....	42
III. 2.1.1. Il campionamento opportunistico	45
III. 2.2. Il campionamento ittioplanctonico	45
III. 2.3. Il metodo di produzione giornaliera delle uova	47
III. 2.3.1. I parametri relativi agli adulti	49
III. 2.3.2. I parametri relativi alle uova.....	51
III. 2.4. Le stime di sensibilità.....	55
III.3. RISULTATI E DISCUSSIONI	56
III.3.1. Caratterizzare del ciclo giornaliero di deposizione	56
III.3.2. Le stime di biomassa deponente dello stock di acciughe	60
III.3.3. Le stime di <i>sensitivity</i> dei parametri riproduttivi	69
CAPITOLO IV.....	73
Validazioni delle stime di frazione deponente attraverso l'applicazione di metodi stereometrici per la datazione dei follicoli post-ovulatori	73
IV. 1. INTRODUZIONE.....	73
IV. 2. MATERIALI E METODI	76
IV.2.1. Datazione dei follicoli post-ovulatori mediante stereometria.....	76
IV.2.2. Rivalutazione delle stime di frazione deponente.....	79
IV.2.3. I dati di temperatura	80
IV.3. RISULTATI E DISCUSSIONI	82
IV.3.1. Stima della durata dei POF	82
IV.3.2. Rivalutazione delle stime di frazione deponente e biomassa	86
CAPITOLO V.....	92
Studio del potenziale riproduttivo dell'acciuga in relazione ai parametri ambientali.....	92

V.1. INTRODUZIONE	92
V.2. MATERIALI E METODI	96
V.2.1. Determinazione dell'età degli individui	96
V.2.2. Stima della frequenza di atresia negli ovari	97
V.2.3. Il fattore di condizione e l'indice gonadosomatico	98
V.2.4. Fecondità relativa e fecondità specifica giornaliera	99
V.2.5. Correlazione con i parametri ambientali e analisi statistica	100
V.3. RISULTATI E DISCUSSIONI	107
V.3.1. Il potenziale riproduttivo e la struttura d'età della popolazione.....	107
V.3.2. L'incidenza dell'atresia	109
V.3.3. Variabilità dei parametri del potenziale riproduttivo e loro correlazione con i parametri ambientali.....	116
CAPITOLO VI.....	127
Conclusioni	127
Bibliografia.....	134
Appendice.....	153
Ringraziamenti.....	159
Estratto per riassunto della tesi di dottorato.....	160

CAPITOLO I

Introduzione

I.1. L'ACCIUGA EUROPEA: SFRUTTAMENTO ED IMPORTANZA DELLA RISORSA

A causa del sovrasfruttamento, numerose risorse ittiche europee si trovano al di sotto dei limiti di sicurezza necessari ad assicurare il mantenimento di quei livelli di biomassa che assicurano la sopravvivenza delle popolazioni. Uno degli scopi principali della biologia della pesca è il mantenimento di un potenziale riproduttivo degli stock sufficiente a garantire uno sfruttamento sostenibile delle risorse in maniera indefinita nel tempo. Come tutte le specie di piccoli pelagici, anche gli stock di acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*; fig. I.1) sono soggetti ad ampie fluttuazioni interannuali nei livelli di biomassa. Tali oscillazioni sono, però, maggiormente influenzate dall'elevata variabilità dell'ambiente in cui vivono, piuttosto che dal tasso di prelievo cui sono sottoposte (Lasker, 1978; Belvéze e Erzini, 1983; Tanaka, 1984). La fecondità degli adulti e ancor di più la fase larvale risultano influenzate dalle variazioni dei parametri ambientali, primi fra tutti la temperatura e la disponibilità di cibo (Rice *et al.*, 1987; Fuiman, 1993; Rombough, 1997; Marshall *et al.*, 1998; Holt e Riley, 2000; Hunt von Herbing *et al.*, 2001; Armsworth, 2001; Funamoto e Aoki, 2002; Ettahiri *et al.*, 2003; Murua e Motos, 2006; Zarrad *et al.*, 2008).



Fig. I.1. L'acciuga europea.

A differenza dell'acquacoltura, la pesca costituisce una delle ultime attività dell'uomo che utilizza, a fini economici, le capacità produttive degli stock selvatici, senza manipolarne i cicli biologici naturali. Un'attività di pesca è quindi sostenibile soltanto se la cattura del pescato è commisurata alla capacità naturale degli stock di riprodursi ed accrescersi. Ogniquale volta la pesca preleva più del "surplus di produzione" di uno stock e cioè il prelievo da pesca non è commisurato ai tassi di natalità, accrescimento e mortalità di una popolazione si ha sovrasfruttamento e l'abbondanza degli stock comincia a diminuire. Questa diminuzione può essere più o meno grave a seconda della struttura d'età e dello stato riproduttivo dello stock, nonché della variabilità nelle condizioni ambientali ed ecologiche. L'attività di pesca è, pertanto, un'attività economica che ha le fondamenta profondamente radicate nella biologia e nell'ecologia delle specie pescate e che, se vuole durare nel tempo, non deve considerare la cattura come una variabile indipendente dalla capacità di rinnovo degli stock (Rapporto Annuale sulla Pesca e sull'Acquacoltura in Sicilia, 2009).

Oggi si assiste purtroppo ad una tragica diminuzione del pescato, molto spesso ricondotta a cause antropiche legate all'eccessivo sfruttamento delle coste e all'inevitabile inquinamento ambientale. Ecco perché la Comunità Europea ha promosso l'uso di misure selettive per proteggere, ad esempio, le classi giovanili degli stock ittici, dando impulso ad una maggiore sensibilizzazione verso il rispetto e la salvaguardia della ricca biodiversità marina mediterranea ormai così fortemente minacciata da una sempre crescente pressione antropica. Il Mediterraneo, essendo una mare quasi chiuso e a cui si affacciano numerosi paesi, è continuamente sottoposto ad uno sfruttamento intenso e a volte incontrollato, che ha reso necessaria la realizzazione di un piano di regolamentazione a livello europeo. La valutazione delle caratteristiche economiche dell'attività della pesca è strettamente collegata alla conoscenza dei relativi processi produttivi, connessi ai diversi sistemi e metodi di cattura delle specie ittiche, i quali sono strettamente dipendenti dalle caratteristiche biologiche dei pesci.

Se si considerano i piccoli pelagici nello Stretto di Sicilia, fino ad anni recenti sono stati segnalati sintomi di crisi nel caso della sardina (Patti *et al.*, 2004; Fiorentino *et al.*, 2005; Patti

et al., 2009a). Un'analoga tendenza alla diminuzione è stata riportata per le coste tirreniche siciliane (Rinelli et al., 2005). Se si considerano tuttavia le più recenti stime di biomassa condotte con le campagne idroacustiche, si è registrato, a partire dal 2006, un lieve miglioramento delle abbondanze di sardina mentre è scesa al minimo degli ultimi dieci anni l'abbondanza di acciuga (Patti et al., 2009a e b; fig. I.2). Sulla base delle recenti valutazioni presentate al *Working Group on Small Pelagics* (Patti et al., 2009a e b) si ritiene che lo stock di alici dal 2006 al 2008 sia caratterizzato da una biomassa pari a circa 5.500 t, che rappresenta il minimo storico dell'ultima decade.

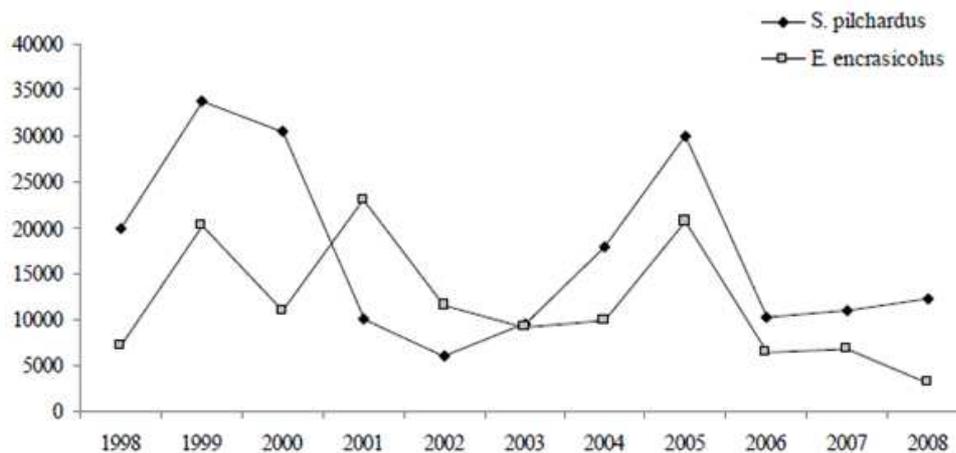


Fig. I.2. Stime idroacustiche di biomassa della popolazione di acciuga e sardina al largo della costa meridionale siciliana dal 1998 al 2008 (Patti et al., 2009).

La flotta siciliana è la più importante e numerosa di Italia. In particolare, la flotta a strascico della Sicilia meridionale rappresenta una delle maggiori realtà produttive nel contesto della pesca italiana. La produzione siciliana rappresenta il 26% di quella nazionale; mentre i ricavi conseguiti dai battelli siciliani rappresentano il 31% del fatturato complessivo. Il settore della pesca marittima siciliana risulta, quindi, rilevante per il livello delle catture e, ancor più, per i ricavi conseguiti. Tra le numerose specie pescate, vanno segnalati in ordine le acciughe, i

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).

La pesca delle acciughe rappresenta la principale risorsa di pesca, che costituisce quasi il 30% della produzione totale di pesce del Mediterraneo (Leonart e Maynou, 2003); nonostante questa specie risulti sempre la più pescata dalla nostra flotta nazionale, non va sottovalutato il calo nelle catture (pari a 16000 t) registrato nel 2008 rispetto all'anno precedente. Sempre nel 2008, dal punto di vista economico, la specie che ha fornito il maggiore contributo alla formazione del fatturato complessivo è rappresentata dal pesce spada ma le acciughe risultano comunque la seconda specie in ordine di fatturato (IREPA, 2010; fig. I.3).



Tab. I.3. Catture e ricavi (% sul totale sbarcato) delle specie ittiche più abbondanti, Sicilia 2008 (Fonte IREPA, 2010).

I.2. LA BIOLOGIA RIPRODUTTIVA DELL'ACCIUGA EUROPEA

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. 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.

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 ovocita indica con sicurezza l'inizio del successivo stadio di sviluppo. 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.

La stagione della riproduzione per l'acciuga del Mediterraneo centrale va da aprile a ottobre, con picchi di deposizione durante i mesi più caldi (Basilone *et al.*, 2006). Depone uova pelagiche di forma ellissoidale, che flottano nei primi 100 m di profondità e schiudono nell'arco di 24-36 ore (Holden e Raitt, 1974).

Le zone di deposizione dei pesci pelagici devono assicurare una produzione biologica adeguata per l'alimentazione: Lasker (1978) associa la deposizione dell'acciuga e il conseguente successo del reclutamento con la stabilità delle condizioni ambientali. 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.

L'inizio della stagione riproduttiva dell'acciuga europea è temperatura-dipendente (Furnestin e Furnestin, 1959; Palomera, 1992; Giráldez e Abad, 1995; Motos *et al.*, 1996; Millán, 1999), sebbene non si ritenga che questa sincronia sia legata al raggiungimento di una soglia di temperatura sotto la quale la riproduzione delle acciughe non possa avvenire:

infatti, questa specie si riproduce all'interno di un ampio range di temperatura, da 11,6° a 27,5°C (Regner, 1996). Le alici potrebbero, quindi, deporre tutto l'anno alle temperature del Canale di Sicilia. 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. Stabili condizioni della colonna d'acqua favoriscono l'aggregazione delle prede, ovvero una concentrazione maggiore di alimento che può garantire la sopravvivenza delle larve (Basilone *et al.*, 2006).

Il successo del reclutamento è funzione del numero di uova prodotte, della frequenza di spawning e delle cure parentali, che dipendono dalla struttura di taglia ed età della popolazione e dalla disponibilità di energia per i riproduttori (Marshall *et al.*, 1998; Cardinale e Arrhenius, 2000; Lloret e Rätz, 2000; Yaragina e Marshall, 2000; Morgan e Bratney, 2005). Molti di questi parametri possono essere stimati dall'applicazione del metodo di produzione giornaliera delle uova (Parker, 1980), che affianca alle stime di biomassa deponente la possibilità di monitorare una serie di parametri riproduttivi basilari per gli studi sull'ecologia riproduttiva di una specie a fecondità indeterminata, come l'acciuga europea.

I.2.1. La 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 dello stock riproduttore. 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.

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 ha fecondità indeterminata: in questo caso si ha un apporto continuo di uova mature durante tutto il periodo di deposizione. 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 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.

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. Nelle specie con deposizione totale, ossia quelle che depongono tutte le uova in una sola volta, la fecondità parziale e reale coincidono. In specie con sviluppo asincrono la fecondità reale dipende dalla fecondità parziale e dal numero di deposizioni durante la stagione riproduttiva, ovvero dalla frequenza di deposizione. La fecondità potenziale annuale in questo caso non è fissata a priori, oociti non maturi possono maturare per tutta la durata della stagione riproduttiva. Questo tipo di fecondità si associa a specie con sviluppo asincrono dell'ovario, al contrario della fecondità determinata che è tipica di uno sviluppo sincrono.

Esiste una relazione lineare fra fecondità e peso essendo i pesci più pesanti anche più fecondi. Di questa relazione si tiene conto anche quando si stima la fecondità del lotto, nel

calcolo della biomassa deponente tramite applicazione del metodo di produzione delle uova (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 sia sul potenziale riproduttivo della popolazione.

L'atresia è un processo apoptotico che consiste nel riassorbimento degli ovociti nell'ovario, a qualsiasi stadio di sviluppo. Nel caso dei vertebrati non-mammiferi, e specialmente nei pesci ossei, i follicoli atresici, pre-vitellogeni e vitellogeni, rappresentano un comune componente strutturale degli ovari negli individui selvatici (Saidapur, 1978; Wood e Van Der Kraak, 2001; Corriero *et al.*, 2011). Essa rappresenta un fenomeno fondamentale da considerare per ottenere la fecondità reale, in particolare nelle specie a fecondità determinata ed in misura minore per le specie a fecondità indeterminata. In queste ultime, infatti, i processi apoptotici tendono ad avere una frequenza piuttosto bassa durante il picco della stagionale riproduttiva. In entrambi i casi, risulta comunque importante riconoscere i fenomeni atresici per diversi motivi: gli stadi più vecchi di follicoli post ovulatori possono essere confusi con gli stadi più vecchi di atresia (β e γ); l'atresia rappresenta un elemento chiave per distinguere gli esemplari alla fine della stagione riproduttiva; le manifestazioni massicce di questo fenomeno possono significare che siamo alla fine del periodo di riproduzione o che forti situazioni di stress hanno indotto un individuo, o un'intera popolazione, ad interrompere il processo riproduttivo, con conseguente riduzione del potenziale riproduttivo dello stock. Alcuni studi dimostrano (Kjesbu *et al.*, 1991; Palmer *et al.*, 1995) che l'atresia follicolare indica una riduzione del potenziale riproduttivo quando si manifesta negli ovociti maturi.

1.2.2. Il potenziale riproduttivo

Gli studi sul reclutamento dei pesci marini sono tradizionalmente focalizzati sulla crescita e la sopravvivenza dei primi stadi di sviluppo. Di contro, la relazione tra fecondità della popolazione adulta e reclutamento ha ricevuto scarsa attenzione. Questo può essere

giustificato dalla difficoltà nel trovare una relazione tra biomassa deponente di uno stock ittico e il reclutamento (Rothschild, 1986). Tuttavia, in alcuni studi, le stime di fecondità della popolazione si basano sulle conoscenze relative alla composizione dello stock deponente e sulla maniera in cui la fecondità risulta correlata alla taglia degli individui e alle loro condizioni (es. l'indice gonadosomatico e il fattore di condizione). Questo approccio ha permesso di stabilire forti vincoli tra la fecondità delle femmine adulte e il reclutamento (Trippel *et al.*, 1997; Marshall *et al.*, 1998 e 1999; Lambert *et al.*, 2003). Ma l'entità del reclutamento dipende anche dalla dimensione dello stock nel suo complesso: all'aumentare della densità dello stock si verifica quasi sempre una riduzione del reclutamento medio per individuo, a testimonianza di un meccanismo densità-dipendente che determina la diminuzione della stessa popolazione (Jennings *et al.*, 2001).

Nel corso degli ultimi anni, l'approfondimento delle conoscenze sulle caratteristiche biologiche degli *stock* e sui fattori ambientali che determinano il reclutamento ha spostato l'attenzione dagli studi sulla biomassa deponente dello *stock* (*Spawning Stock Biomass*, SSB) agli studi sul concetto di potenziale riproduttivo dello *stock* (*Stock Reproductive Potential*, SRP; Trippel, 1999; tab. I.1). Esso rappresenta la variabilità annuale della capacità di una popolazione di produrre, in un dato anno, uova e larve che siano in grado di sopravvivere sino al reclutamento (Thorsen e Kjesbu, 2001). Un siffatto concetto introduce anche l'importanza delle cure parentali per il reclutamento. Il potenziale riproduttivo risulta, infatti, influenzato dalle variazioni nella struttura di popolazione e di taglia degli individui, perché depositori più vecchi o di taglia maggiore determinano una fecondità relativa più elevata e una maggiore qualità delle uova (Marshall *et al.*, 1998; Cardinale e Arrhenius, 2000; Lloret e Rätz, 2000; Yaragina e Marshall, 2000). Il concetto di potenziale riproduttivo, e di tutte le variabili che lo influenzano e definiscono, comporta delle stime più complesse, sebbene più accurate, rispetto a quelle della SSB.

Tab. I.1. Schema riassuntivo delle differenze tra SSB e SRP (Trippel, 1999).

		<p>Biomassa deponente dello stock (<i>Spawning Stock Biomass</i>, SSB):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Numero di pesci maturi per classe di età • Peso medio di pesci maturi per classe di età
		<p>Potenziale riproduttivo dello stock (<i>Stock Reproductive Potential</i>, SRP)</p>
		<p>Percentuale di esemplari maturi per classe di età Maturazione non-annuale degli adulti Produzione di uova (fecondità per classe di taglia/età) Uova vitali (fertilizzazione, successo della schiusa) <i>Sex ratio</i></p>
Cure parentali materne:		<p>Relazione taglia-età Altri fattori:</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Fattore di condizione • Lunghezza 	Femmine	<ul style="list-style-type: none"> • durata della deposizione • dimensione di uova e larve • contenuto di nutrienti e lipidi nelle uova • tempo di incubazione • attività larvale • successo della prima alimentazione • crescita di compensazione
		<p>Percentuale di esemplari maturi per classe di età Maturazione non-annuale degli adulti Peso dei testicoli Motilità spermatica</p>
Cure parentali paterne:		<p>Effetto dei maschi sul benessere larvale e la sopravvivenza dei primi stadi di vita Densità spermatica Tasso di fertilizzazione, competizione dello sperma <i>in vivo</i></p>
<ul style="list-style-type: none"> • Fattore di condizione • Lunghezza 	Maschi	<p>Altri fattori: valore stock-specifico interazione/effetti della temperatura dell'acqua interazioni materne/paterne</p>

Morgan e Bratney (2005) hanno mostrato come 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. Tali luoghi risultano solitamente i più appropriati in termini di densità di prede: studi condotti sull'acciuga del Nord hanno dimostrato l'importanza della giusta densità di prede per garantire il corretto sviluppo dei primi stadi di vita della specie (Jennings *et al.*, 2001). Come dimostrato per le aringhe (Ma *et al.*, 1998; Hay *et al.*, 1988), la variazione delle condizioni nutrizionali può interferire nella deposizione, alterando la fecondità, ma anche la qualità delle uova (Brooks *et al.*, 1997) e inducendo un aumento di mortalità precoce. Esperimenti in cattività, condotti sull'acciuga del Nord (Hunter e Macewicz, 1985) e sulla sogliola comune, *Solea solea* (Witthames *et al.*, 1995), hanno dimostrato il ruolo dell'atresia oltre che sulla regolazione della fecondità anche su quella del budget energetico. L'acciuga, essendo a fecondità indeterminata, prolunga la maturazione degli oociti durante tutta la stagione riproduttiva, se la condizione fisica e la disponibilità di cibo sono favorevoli. Se la somministrazione di cibo viene ridotta, l'aumento dell'atresia è una rapida conseguenza, così come rapida è la tendenza inversa: se la somministrazione di cibo riprende regolarmente, la presenza di follicoli atresici diminuisce nuovamente.

Molto spesso alterazioni a livello di habitat ed ecosistema hanno fatto registrare variazioni nei livelli di produttività di una specie, da qui l'evidente necessità di un approccio ecosistemico per una gestione sostenibile delle risorse ittiche. Conoscere approfonditamente l'ecologia riproduttiva di una specie, così da 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 integrato alla gestione delle risorse.

I.2.3. I metodi ittioplanctonici per la stima della biomassa

Come evidenziato da Murua *et al.* (2003), quando si fanno studi mirati al miglioramento dello *stock assessment* attraverso la valutazione del potenziale riproduttivo, è necessario tenere sempre presente il tipo di strategia riproduttiva adottata dalla specie in esame. Tra i metodi per la stima della biomassa degli stock ittici quelli diretti sono indubbiamente i più affidabili e precisi, dal momento che non risentono di quei problemi che derivano dalle stime sullo sbarcato (per es., una taglia preferenziale di cattura da parte dei pescatori) e, al contrario, sono basati su osservazione diretta dello stock e su un piano di campionamento accurato e mirato al monitoraggio della specie target.

Una review dei più diffusi metodi ittioplanctonici è disponibile in Stratoudakis *et al.* (2006): la scelta della metodologia di stima più appropriata va fatta in relazione alla strategia riproduttiva della specie in esame e al tipo di diffusione in acqua delle uova prodotte.

Il metodo di produzione giornaliera della uova (*Daily Egg Production Method*, DEPM) è stato sviluppato alla fine degli anni 70 dal *Coastal Division of the Southwest Fisheries Center*, La Jolla, CA, USA (Parker, 1980), in risposta alla crescente necessità di utilizzare un opportuno metodo diretto per la gestione della popolazione di acciuga del Nord (*Engraulis mordax*), un depositore multiplo, a fecondità indeterminata e con uova a distribuzione pelagica (Hunter *et al.*, 1980). Il metodo si fonda sul numero di ovociti rilasciati per pesce durante ciascun evento di deposizione (fecondità del lotto) e sulla porzione di femmine che si riproducono per giorno (frazione deponente). Negli anni 80, l'applicazione del DEPM si è estesa

rapidamente alle principali popolazioni di acciughe in tutto il mondo e dal 1998 il DEPM viene utilizzato con successo per le alici del Canale di Sicilia (Mazzola *et al.*, 2000; Quintanilla e Garcia, 2001a e b). Il DEPM ha prodotto risultati soddisfacenti anche quando applicato ad altre specie pelagiche (per es., *Sardinops sagax*, *Sardina pilchardus*, *Sprattus sprattus*, *Scomber scomber*) e, ultimamente, anche a specie demersali, come *Pagrus auratus* (una review in Stratoudakis *et al.*, 2006).

Il maggior vantaggio del metodo di produzione delle uova è dato dal fatto che la biomassa dei riproduttori può essere stimata da dati ottenuti in maniera del tutto indipendente dalla pesca. Inoltre, la produzione delle uova basata sui modelli di *stock assessment* ingloba differenti aspetti del potenziale riproduttivo fornendo indicazioni aggiuntive sulla dinamica di popolazione.

Revisioni del metodo pubblicate negli ultimi due decenni (Alheit, 1993; Hunter & Lo, 1997; Stratoudakis *et al.*, 2006) ne hanno confermato l'attendibilità, la robustezza e la sua diffusione su scala mondiale e hanno suggerito anche possibili miglioramenti per rendere ancora più accurate le stime DEPM. Tale scopo può essere raggiunto attraverso l'uso di software o di modelli statistici appositamente sviluppati per facilitare la valutazione dei parametri che concorrono alla stima, aumentando la precisione e riducendo la varianza; attraverso l'affiancamento di analisi biochimiche o sul bioritmo, per esempio per identificare con maggiore precisione l'età dei POF all'interno degli ovari o l'intervallo tra due deposizioni consecutive; o ancora attraverso l'affiancamento di software geostatistici che, prevedendo la distribuzione spaziale sia dello stock di adulti che quella di uova e larve, facilitino l'individuazione delle aree in cui effettuare il campionamento (Stratoudakis *et al.*, 2006).

Nonostante la provata robustezza del metodo, non possono essere sottovalutati i problemi da cui le stime di biomassa possono risultare influenzate. Tali problemi sono legati soprattutto alla variabilità dei parametri necessari alla determinazione della biomassa, mentre la variabilità può essere associata sia ad errori derivati dal campionamento, sia ad errori derivanti dalle stime delle singole misure. L'accuratezza del metodo è strettamente

dipendente anche dalla capacità di investigare l'intera area di deposizione durante il campionamento. Nelle specie delle zone temperate, che hanno uova a dispersione pelagica, l'area di *spawning* ha un'ampiezza elevata, aumentando lo sforzo di campionamento e la difficoltà di una copertura completa dell'areale.

La determinazione della frazione deponente, ovvero il numero di femmine che rilascia le uova durante ciascun evento riproduttivo, può causare gravi problemi nelle applicazioni del DEPM alle specie di pesci pelagici come acciughe e sardine, perché questa fase di deposizione attiva delle uova è effimera e appare difficile anche osservarne le tracce nelle successive fasi del ciclo riproduttivo femminile (Hunter e Lo, 1997; Stratoudakis *et al.*, 2006). La misura della frazione deponente si ottiene dall'applicazione del metodo dei follicoli postovulatori (POF), che può risultare affetto da errori relativi al campionamento, al riconoscimento e alla datazione dei POF e alla stima vera e propria.

Stime di sensibilità permettono di identificare quali parametri risultino maggiormente determinanti nella variabilità della stima finale, individuando i parametri "importanti" che indubbiamente determinano in maniera sostanziale l'incertezza dei risultati e i parametri "sensibili" che hanno un'influenza significativa sui risultati (Crick *et al.*, 1987). La variabilità, o incertezza, associata al parametro sensibile di input si può propagare attraverso il modello apportando un contributo determinante nella variabilità risultante dalle stime finali; oppure il modello può essere così altamente correlato con quel parametro, che piccoli cambiamenti nel valore di quest'ultimo comportano cambiamenti significativi nel risultato finale.

I.3. L'AREA DI STUDIO

I.3.1. Lo Stretto di Sicilia

Lo Stretto di Sicilia è un'area compresa tra la costa meridionale della Sicilia, a Nord, e la costa settentrionale africana, a Sud. 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 (fig. I.4).

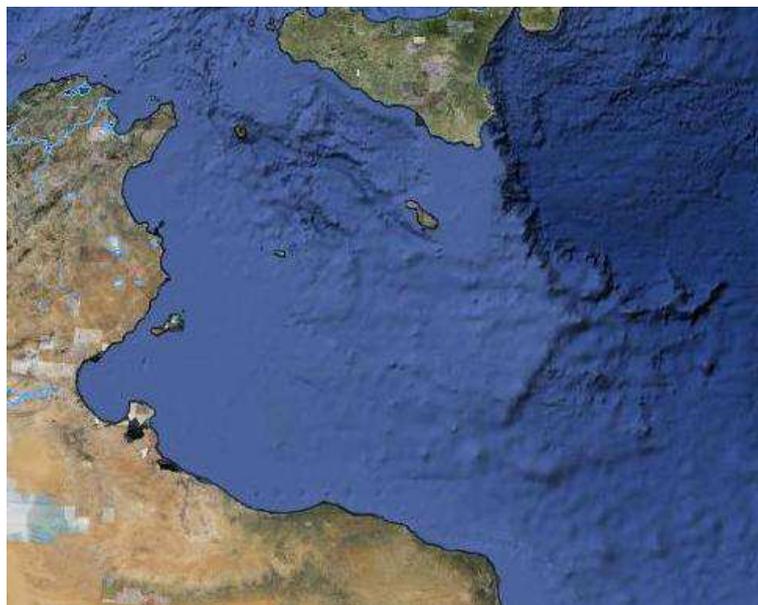


Fig. I.4. L'area di studio: lo Stretto di Sicilia.

I fenomeni fisici che si manifestano nello Stretto di Sicilia sono determinati dal fatto che esso mette in comunicazione i due bacini occidentale e orientale del Mar Mediterraneo (tra gli altri, Bethoux, 1980; Manzella *et al.*, 1988 e Robinson *et al.*, 1999).

All'interno del Canale c'è una circolazione a due strati. Le due correnti sono note come Modified Atlantic Water (MAW) e Levantine Intermediate Water (LIW). La circolazione

superficiale è controllata dal flusso della MAW, che nello Stretto di Sicilia è stata rinominata Atlantic-Ionian Stream (AIS) (Robinson *et al.*, 1999). La corrente entra nel Canale da Ovest, formando un largo meandro ciclonico che abbraccia il Banco Avventura, 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; fig. I.5).

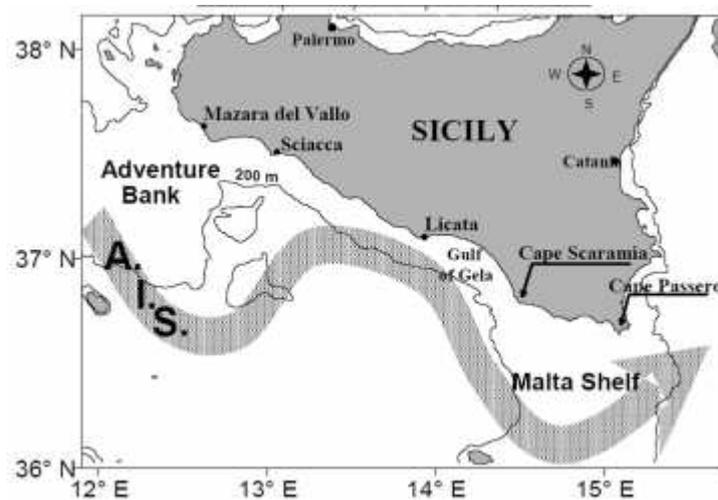


Fig. I.5. La circolazione delle acque nell'area di studio.

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. Nell'area è stata evidenziata una zona di affioramento dovuta all'AIS e alla LIW e/o al vento di Nord-Est (upwelling da vento) che origina l'ascensione di acqua subsuperficiale 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).

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.

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.

La salinità del Mediterraneo è uniformemente elevata, con qualche variazione nelle zone più estreme sia occidentale che orientale. 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‰.

I.3.2. Il campionamento

Durante tutti gli anni per i quali sono state effettuate le stime di biomassa deponente e considerati in questa ricerca, l'areale di campionamento si è mantenuto invariato (fig. 6). L'area antistante la costa meridionale della Sicilia rappresenta la zona di raccolta sia per quanto riguarda la popolazione adulta che per le campagne ittioplanctoniche, perché in essa

sono state localizzate sia le principali aree di deposizione che di *nursery* (Mazzola *et al.*, 2000; García Lafuente *et al.*, 2002).

I campioni di adulti di acciuga europea sono stati ottenuti da peschate sperimentali, durante *survey* elettroascustici mirati al monitoraggio (abbondanza e distribuzione spaziale) degli stock di piccoli pelagici (sardine e acciughe), lungo la piattaforma continentale nello Stretto di Sicilia. In particolare, il campionamento è stato condotto lungo tutta la costa settentrionale siciliana, tra Mazara del Vallo e Siracusa, e in corrispondenza della piattaforma maltese, all'interno dell'isobata dei 200 m. Il monitoraggio con gli strumenti acustici viene accompagnato da catture di controllo, effettuate in corrispondenza di transetti costa-largo, lungo i quali sono condotte le osservazioni con l'acustica. Da queste catture sono stati prelevati random 50 individui per la stima dei parametri necessari all'applicazione del metodo di produzione delle uova. Generalmente, vengono effettuate da tre a quattro cale nell'arco della giornata, di cui una soltanto durante le ore notturne.

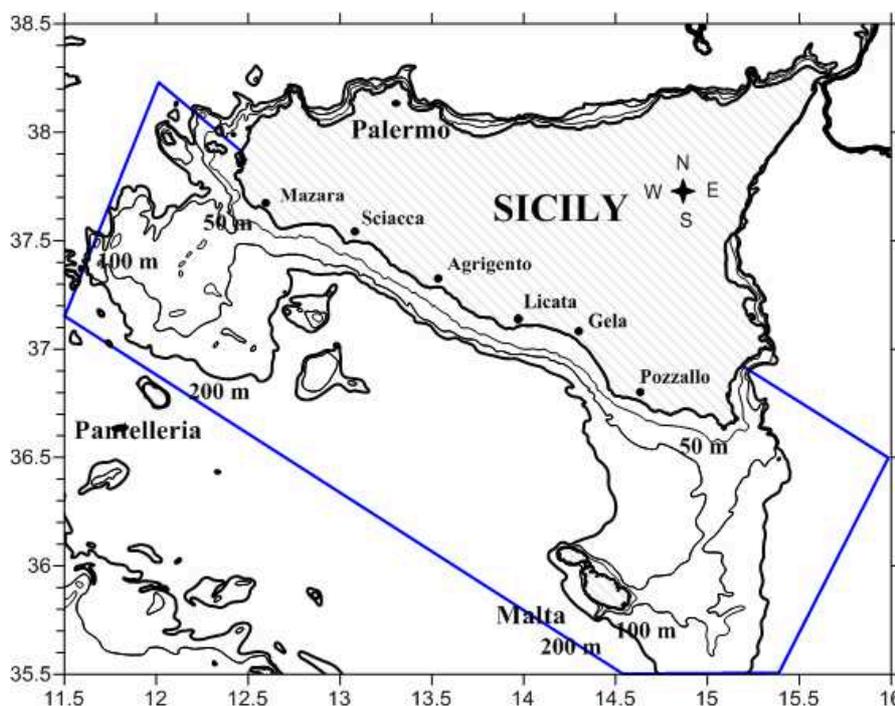


Fig. I.6. la linea azzurra indica l'area in cui è stato effettuato il campionamento ittioplanctonico durante tutti gli anni di studio. Le cale per la cattura degli adulti sono state effettuate nella stessa area, ma all'interno dell'isobata dei 200 m.

Anche i *survey* per il campionamento dell'ittioplancton (uova e larve) sono stati effettuati nell'area di studio durante il picco riproduttivo dell'acciuga, a bordo della nave da ricerca Urania. Il campionamento è stato effettuato ricorrendo al cosiddetto schema adattativo (Hunter e Lo 1997; Jackson e Cheng, 2001); esso prevede una griglia regolare che però si intensifica laddove il *sorting* effettuato direttamente a bordo mostra presenza di uova della specie target. Lo schema di base nello Stretto di Sicilia pone le stazioni di campionamento con rete CalVET a 4 miglia nautiche l'una dall'altra, ma la distanza si riduce a 2 miglia nel caso di intensificarsi dei prelievi. Inoltre il campionamento prevede che lungo i transetti venga effettuata la raccolta di campioni sino ad incontrare almeno 2 stazioni negative consecutive, al fine di potere chiudere l'areale di deposizione con maggior accuratezza possibile.

Ulteriori dettagliate informazioni relative alle modalità di raccolta dei campioni sia di adulti che di uova di acciughe sono presenti all'interno delle sezioni dei materiali e metodi.

I.4. OBIETTIVI DEL LAVORO

L'obiettivo generale di questo lavoro di tesi è quello di investigare l'ecologia riproduttiva di una specie chiave dell'ecosistema pelagico con fecondità indeterminata. In particolare, l'attenzione è stata focalizzata sulla variabilità del potenziale riproduttivo in relazione alla variabilità ambientale durante il picco di deposizione. Tale obiettivo si inquadra all'interno dell' "approccio ecosistemico allo sfruttamento sostenibile delle risorse", permettendo di acquisire informazioni necessarie alla definizione di piani di gestione che tengano conto degli effetti dell'ecosistema sulla fluttuazioni degli stock ittici sfruttati.

L'obiettivo generale è stato perseguito mediante i seguenti obiettivi specifici:

- Valutare l'errore commesso nella determinazione della maturità sessuale mediante analisi macroscopica delle gonadi, in specie a fecondità indeterminata, rispetto all'analisi microscopica effettuata su sezioni istologiche.
- Ottenere informazioni sulla biologia riproduttiva dell'acciuga nello Stretto di Sicilia, mediante l'utilizzo di una serie di 9 anni di dati derivanti dall'applicazione di un metodo diretto di *stock assessment*, quale il DEPM.
- Valutare l'effetto della variabilità nella stima dei parametri riproduttivi sulla variabilità interannuale delle stime di abbondanza.
- Valutare gli effetti dell'applicazione di un'errata relazione temperatura vs. età dei follicoli post-ovulatori, esistente in letteratura solo per aree oceaniche, alle stime di frazione deponente e di biomassa.
- Valutare l'effetto sul potenziale riproduttivo della presenza ed abbondanza di fenomeni apoptotici negli ovari (atresia) in relazione ai parametri ambientali.
- Valutare la variabilità del potenziale riproduttivo in relazione alla condizione fisiologica e alla struttura d'età della popolazione, considerando anche i principali fattori ambientali in cui la specie si riproduce, quali temperatura e disponibilità di cibo.

CAPITOLO II

Importanza dell'analisi microscopica per la determinazione della maturità sessuale nella valutazione dello *stock assessment*

II. 1. INTRODUZIONE

Negli ultimi decenni, l'approfondimento delle conoscenze sulla crescita e lo sviluppo degli ovociti (Yanamoto e Yoshoka, 1964; Wallace e Selman, 1981) e sulla biologia riproduttiva (Begenal, 1973; Hunter e Goldberg, 1980) delle specie ittiche ha permesso una più precisa definizione e determinazione della fecondità nei pesci, nonché della biomassa deponente e del potenziale riproduttivo dello stock. A tal fine, sono necessarie un'accurata distinzione tra individui immaturi e maturi e un'attenta valutazione dello stadio di maturità sessuale raggiunto da ciascun esemplare. Le suddette valutazioni possono essere effettuate attraverso due tipi di osservazioni del campione: macroscopica o microscopica.

La classificazione macroscopica si effettua assegnando agli individui caratteristiche che si possono differenziare a occhio nudo. Tra le principali caratteristiche osservate ci sono la dimensione delle gonadi rispetto alla cavità addominale, il colore, la presenza di vasi sanguigni visibili a occhio nudo e la turgidità. Il metodo macroscopico è il più semplice, economico e rapido, però può essere soggettivo e la sua precisione è sempre incerta: la maturazione è un processo continuo e la sua divisione in stadi discreti di sviluppo è difficile, soprattutto negli stadi di transizione.

La classificazione microscopica si basa sull'analisi delle sezioni istologiche delle gonadi e fornisce un'informazione molto precisa sullo stato di sviluppo degli oociti. I principali parametri osservati sono la presenza di ovociti immaturi e/o vitellati, la presenza di follicoli post-ovulatori e di atresia.

Esistono diverse scale di classificazione macroscopica, alcune proposte per una specie in particolare e altre nate semplicemente dal lavoro dei singoli laboratori ed istituti di ricerca, nonostante a livello microscopico esista scarsa differenza nella variazione del modello di sviluppo gonadico nei teleostei e quindi non è giustificata la proliferazione di schemi di maturazione per singole specie. La scelta della scala più appropriata da adottare risulta uno step fondamentale negli studi di fecondità. Per i piccoli pelagici, un punto di riferimento è rappresentato dalla scala a cinque gradi di maturità proposta da Holden e Raitt (1974) e successivamente modificata dall'*International Council for the Exploration of the Sea* (ICES, 2004). Recentemente, un ulteriore sforzo è stato prodotto dall'ICES, per ottenere una scala ancora più precisa per le acciughe e le sardine e con caratteristiche più chiare e definite per ciascuno stadio. Tale scala a sei stadi di maturità è il frutto di un workshop a cui hanno partecipato ricercatori di tutta Europa (ICES, 2008; tabb. II.1a e II.1b).

Infine bisogna sottolineare che, dal momento che lo sviluppo degli oociti è di tipo progressivo, è necessario determinare un criterio da adottare per fare una classificazione in stadi. La classificazione può essere basata sulla percentuale di abbondanza di ciascun grado di sviluppo degli oociti nell'ovario, ma più correttamente, ed è anche il caso di questo lavoro, gli ovari si classificano per lo stadio di sviluppo più avanzato riscontrato nell'analisi indipendentemente dalla sua frequenza, perché l'apparizione di un tipo di oocita nell'ovario indica inequivocabilmente l'entrata nel successivo stadio di sviluppo.

In questo capitolo è stata testata l'importanza delle analisi istologiche rispetto alla sola indagine macroscopica, quando si conducono studi sulla fecondità e la biomassa deponente di uno stock.

Tab. II.1a: Caratteristiche macroscopiche delle gonadi nei 6 stadi di sviluppo (ICES, 2008).

Stadio	Attività	Nome	Femmine	Maschi
1	<i>Inattivo</i>	Immaturo (o a riposo)	Ovari invisibili o molto piccoli, filiformi, trasparenti o lievemente colorati (se a riposo).	Ovari molto piccoli e trasparenti, difficili da identificare. Quando a riposo, di colore arancio-rossastro.
2		In maturazione	Gli ovari occupano da $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{3}$ della cavità addominale; di colore rosato o giallastro. Non ci sono ovociti visibili.	I testicoli occupano circa $\frac{1}{3}$ della cavità addominale. Di colore bianco-grigiastro.
3		Deposizione imminente	Gli ovari occupano dai $\frac{3}{4}$ a quasi tutta la cavità addominale; opachi di colore giallo o arancio. Sono visibili ovociti opachi.	Testicoli biancastri lunghi fino a $\frac{2}{3}$ della cavità addominale. A seguito di una leggera pressione, non espellono sperma.
4	<i>Attivo</i>	Deposizione	Ovari grandi che occupano per intero la cavità addominale. Dall'aspetto gelatinoso, parzialmente o totalmente traslucidi. Sono visibili oociti ialini.	Testicoli rigonfi e dall'aspetto lattiginoso occupano l'intera cavità addominale. Espellono immediatamente lo sperma, a seguito di una leggera pressione.
5		Post-deposizione parziale	Ovari grandi da $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ della cavità addominale, non turgidi e con zone emorragiche, che conferiscono colorazione rosso scuro.	Testicoli defilate occupano fino a $\frac{2}{3}$ della cavità addominale. Di colore marrone/rossastro.
6	<i>Inattivo</i>	Esausto	Ovari rossastri e raggrinziti e flaccidi, di dimensioni inferiori a $\frac{2}{3}$ della cavità addominale. Può essere ancora visibile qualche piccolo ovocita opaco.	Testicoli flaccidi e sottili, dall'aspetto emorragico.

Tab. II.1b: Caratteristiche microscopiche delle gonadi nei 6 stadi di sviluppo (ICES, 2008).

Maturità	Attività	Stadio	Stadio degli	POF			Atresia		
			ovociti più maturi	Prevalenza	Stadio	Incidenza	Prevalenza	Stadio	Incidenza
Immatero	<i>Inattivo</i>	1	Ovociti primari	No	-	-	No	-	-
		2	Alveoli corticali	No	-	-	Sì	β, γ, δ	Varia
	<i>Attivo</i>	3	Vitellogenicici (primari, secondari, terziari)	Sì	Varia	Varia	Sì	Tutti	Varia
Maturo	<i>Attivo</i>	4	Idratati	Sì	Molto vecchi	Molto bassa	Sì	Tutti	Varia
		5	Vitellogenese primaria	Sì	Molto recenti	100%	Sì	Tutti	Varia
	<i>Inattivo</i>	6	Ovociti primari o con alveoli corticali	Sì	Vari	Bassa	sì	α β, γ, δ	100% Varia

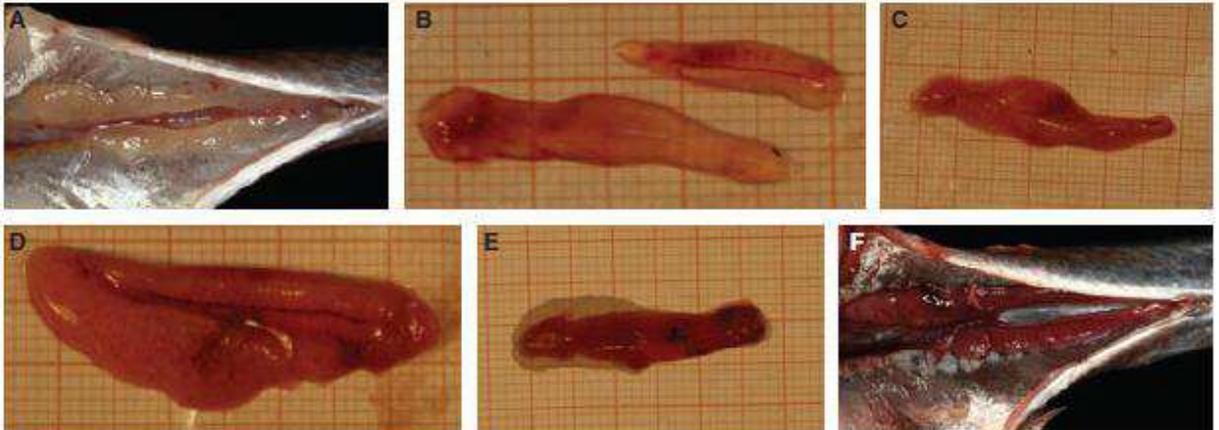


Fig. II.1. Le sei fasi di maturità macroscopica dell'ovario. A: stadio I; ovario immaturo all'interno della cavità addominale. B: stadio II; ovario all'avvio della maturazione. C: stadio III; ovario maturo e prossimo alla deposizione. D: stadio IV, idratazione. E: stadio V; post-deposizione parziale delle uova. F: stadio VI; ovario in post-deposizione all'interno della cavità addominale.

II. 2. MATERIALI E METODI

II.2.1. L'analisi istologica delle gonadi

Dal 2001 al 2009 sono stati raccolti esemplari di femmine adulte di acciuga europea. I campionamenti sono stati effettuati nel corso di campagne oceanografiche (di veda par. I.2) durante il picco riproduttivo della specie (giugno, luglio e agosto). Inoltre per alcuni anni il campionamento è stato integrato ricorrendo a catture effettuate da pescherecci commerciali, nello stesso periodo dei campionamenti sperimentali (si veda par. III.2).

Per ogni cattura sono stati selezionati random 25-50 individui, che sono stati misurati (lunghezza totale, 1 mm), ne sono stati rilevati il peso totale e somatico (0.01 g) e per i quali sono stati determinati sesso e maturità sessuale mediante analisi macroscopica. Gli ovarii sono stati estratti integri dalla cavità addominale e fissati in formalina al 4% tamponata con

sodio fosfato mono e bibasico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). I tessuti sono stati trasportati presso i laboratori dell'IAMC-CNR per le analisi istologiche.

Una volta in laboratorio, dopo un periodo di assestamento dei tessuti in formalina di almeno un mese, gli ovari sono stati pesati (0.001 g) e sono state apportate le opportune correzioni dovute all'aumento di peso a causa della formalina e dell'idratazione quando si trattava di femmine deponenti (Hunter e Macewicz, 1985). L'equazione utilizzata per ottenere il peso fresco a partire da quello fissato è stata ottenuta a seguito di opportuni esperimenti condotti nell'area di studio e presenti in letteratura (Bonanno *et al.*, 2001). In particolare, per ottenere il peso gonadico corretto è stata usata l'equazione di seguito riportata:

$$Gw = 0.94F_{gw} + 0.0484$$

Dove:

Gw = peso fresco della gonade;

F_{gw} = peso delle gonadi a seguito della conservazione in formalina.

Sebbene numerosi studi hanno mostrato che non vi siano differenze significative tra le porzioni laterali e centrali né tra i due lobi destro e sinistro degli ovari (Sanz e Uriarte, 1989; Mazzola *et al.*, 2000), si è scelto di prelevare da ciascun lobo di ogni gonade una o due porzioni di tessuto (dello spessore di circa 2 mm) per la preparazione delle sezioni sottili.

Questa operazione consta di una fase preliminare durante la quale i tessuti vengono opportunamente predisposti, utilizzando un processatore automatico di tessuti (Leica TP 1020) che disidrata le gonadi, attraverso immersioni successive in etanolo a differenti concentrazioni (70%, 96%, e assoluto) e in toluene. Il secondo passo è l'inclusione in paraffina: utilizzando un dispensatore automatico (Leica EG1150H) di paraffina liquida a 65°C, i tessuti vengono incorporati in essa per formare, una volta raffreddati e solidificati, dei blocchetti resistenti che fungono da supporto per la successiva operazione di taglio. A

questo punto, vengono tagliate le sezioni vere e proprie utilizzando un microtomo rotativo (Leica RM2255). Le fettine tagliate sono generalmente di 4 μm di spessore e, dopo una rapida immersione in un bagno termostato (Leica HI1210) con acqua a 40°C per facilitarne la distensione e il posizionamento su un vetrino portaoggetto, vengono poste in stufa per asciugare, a 48°C per 48 ore. Infine, le sezioni vengono tinte col metodo di Harys di ematossilina ed eosina (Luna, 1968). Il procedimento, che dura in totale meno di un'ora, è stato effettuato con un coloratore di vetrini automatizzato (Leica AutoStainer XL). Il protocollo prevede come primo step la rimozione della paraffina e la reidratazione delle sezioni sottili, altrimenti è impossibile che il colorante si fissi sul tessuto. Successivamente si ha la colorazione vera e propria a seguito di immersioni in ematossilina, che tinge di blu il nucleo e le altre strutture acide (RNA, reticolo endoplasmatico, ecc.), e in una soluzione di eosina e floxina b, che colora da rosa a rosso le proteine citoplasmatiche.

La lettura delle sezioni è avvenuta con l'ausilio di un microscopio ottico, ad ingrandimenti di 10x e 20x. Usando i criteri microscopici (tab. II.1b), ad ogni ovario è stato assegnato lo stadio di maturità raggiunto dagli ovociti ed è stata segnalata la presenza di follicoli post-ovulatori e di follicoli atresici.

II.2.2. Confronto tra due metodi di classificazione della maturità gonadica

Per ciascuno stadio di maturità sessuale è stata valutata la corrispondenza tra l'individuazione dello stadio raggiunto dall'ovario, utilizzando le caratteristiche macroscopiche (tab. II.1a) e quelle microscopiche (tab. II.1b). Una tabella mostra le percentuali di corrispondenza tra i risultati ottenuti con i due metodi di classificazione.

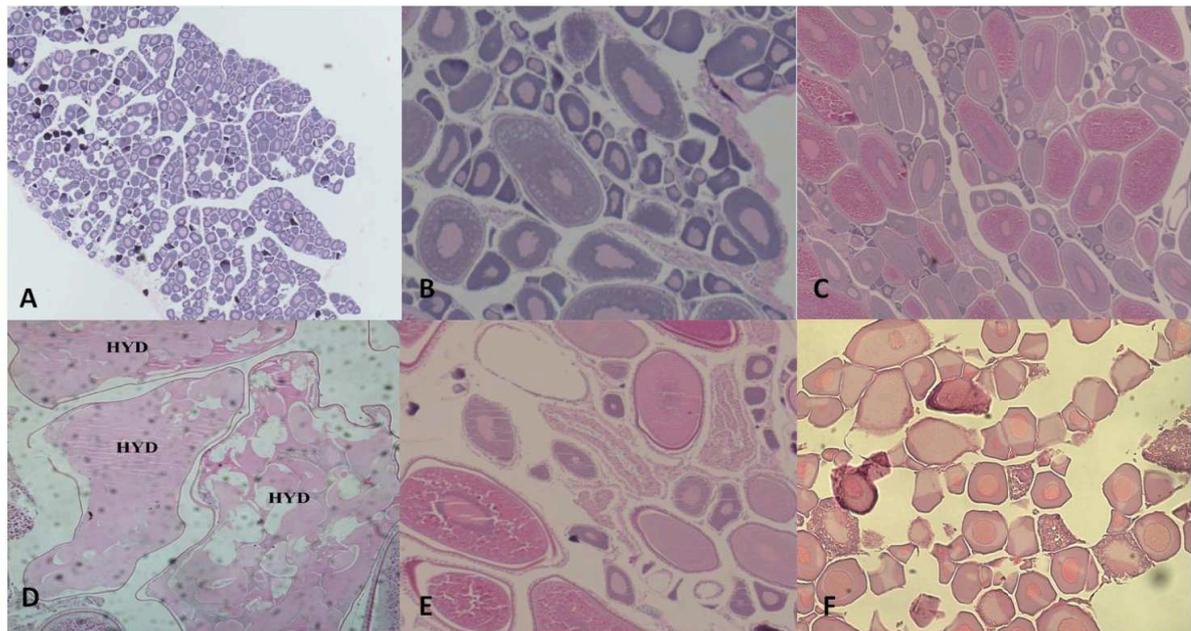


Fig. 1.2. Le sei fasi di maturità microscopica dell'ovario. A: stadio I; ovociti immaturi. B: stadio II; ovario all'inizio dello sviluppo, ovociti con alveoli corticali . C: stadio III; ovario maturo e pronto alla riproduzione con ovociti vitellogenici. D: stadio IV; ovario pronto alla deposizione imminente con ovociti idratati (HYD). E: stadio V; ovario in fase di post-deposizione parziale con POF vecchi (POF 2). F: stadio VI; ovario che ha concluso il periodo di riproduzione con follicoli atresici e privo di uova mature.

II.3. RISULTATI E DISCUSSIONI

Nei depositori multipli la determinazione macroscopica dello stadio di maturità va validata attraverso un'analisi microscopica. Infatti, a causa della elevata soggettività dell'operatore legata anche ad una non univocità delle caratteristiche descrittive ed identificative della classificazione macroscopica, l'uso di questo tipo di analisi deve essere affiancato dall'osservazione microscopica soprattutto nell'applicazione di metodi di stima della biomassa o nella determinazione della taglia di prima maturità sessuale, importanti fattori per fornire indicazioni gestionali necessarie alla sfruttamento sostenibile delle specie monitorate.

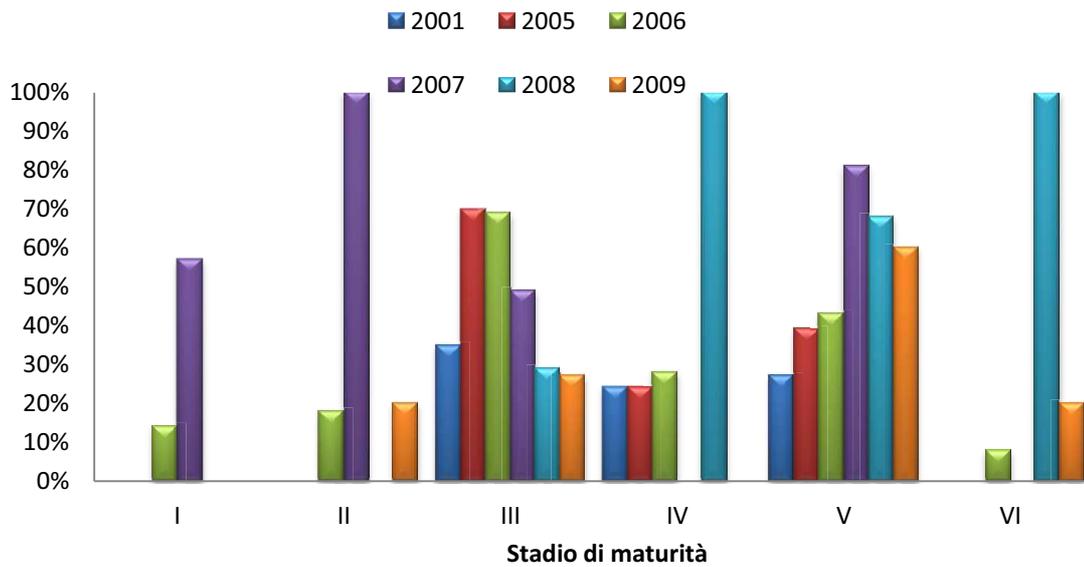


Fig. II.3. Istogramma con le percentuali di corrispondenza tra le due classificazioni.

Le osservazioni delle sezioni istologiche, prodotte a partire dalle gonadi raccolte durante i campionamenti effettuati dal 2001 al 2009, ha permesso di assegnare ciascuno degli ovari l'esatto grado di maturità raggiunto, secondo le indicazioni della scala di maturità in tabella II.1.b. Queste informazioni hanno confermato che i campionamenti sono stati effettuati durante il picco riproduttivo per le alici del Canale di Sicilia, dal momento che gli stadi di maturità più rappresentati sono stati quelli III e V, che indicano che gli esemplari sono in una fase attiva di riproduzione. Al contempo, poco numerosi sono stati i campioni immaturi (stadio I) e quelli che hanno già concluso la stagione di *spawning* (stadio VI).

In seguito all'analisi delle sezioni sottili, è stato effettuato un confronto tra l'assegnazione dello stadio di maturità dell'ovario, ottenuta secondo criteri macroscopici e microscopici, al fine di evidenziare eventuali discordanze.

Lo stadio I (figg. II.1a e II.2a) è poco rappresentato, probabilmente per il fatto che il campionamento è stato effettuato nel periodo del picco riproduttivo della popolazione ove si prevede una scarsa presenza di individui immaturi. Esso rappresenta poco meno del 3% del totale e in alcuni anni risulta completamente assente (2001 e 2008, tab. II.2).

Tendenzialmente, durante l'indagine macroscopica lo stadio I viene confuso con il II e il V (per esempio, 56% e 44% rispettivamente nel 2009). Invece c'è da segnalare una corrispondenza maggiore del 50% per il 2007, sebbene basata su un numero piuttosto ridotto di esemplari (fig. II.3).

Gli ovari allo stadio II (figg. II.1b e II.2b) sono meno dell'1% del totale esaminato durante gli anni di studio, anche in questo caso la spiegazione è legata al periodo di campionamento, avvenuto durante la stagione di deposizione. Per questi c'è corrispondenza tra le due classificazioni nel 2007 (100% ma è stato catturato un solo esemplare appartenente a questo stadio) e 2009 (20%; fig. II.3). La più comune delle confusioni a livello macroscopico è con lo stadio VI (es., 60% nel 2009, tab. II.2): in entrambi i casi gli ovari sono di dimensioni ridotte e senza ovociti visibili (tab. II.1.a). La misclassificazione che si riscontra tra gli stadi I e II e il V può risultare particolarmente problematica quando si ha lo scopo di discriminare tra individui maturi e immaturi.

La classificazione microscopica ha assegnato la maggior parte degli ovari allo stadio III (figg. II.1c e II.2c): 61.72% del totale delle gonadi analizzate. Questa fase è stata classificata correttamente e con percentuale abbastanza elevata in ciascuno degli anni di studio: le percentuali migliori si hanno nel 2001 (76%) e nel 2005 (65%; fig. II.3). La maggior fonte di errore per questo stadio è generata dalla confusione con la classe V. Tale misclassificazione ha registrato il maggior numero di casi nel 2009: 70% (tab. II.2, fig. II.3). Comparando questi risultati con quelli in letteratura (ICES, 2004) si nota che questo è un fenomeno ricorrente, che però tende ad attenuarsi, e in alcuni casi ad annullarsi, nel caso i due stadi vengano considerati congiuntamente: in questo caso si raggiungono percentuali comprese tra 80% (2006 e 2008) e 100% (2007). La confusione tra lo stadio di deposizione imminente e quello di post-deposizione parziale è dovuta principalmente al fatto che essi risultino differenti solo per un breve periodo dopo l'ovulazione, quando i POF non sono stati ancora riassorbiti. Nelle specie a deposizione multipla, il passaggio da stadio III a V e viceversa è un processo continuo e piuttosto rapido, durante la stagione riproduttiva e fino al raggiungimento dell'ultimo evento riproduttivo.

La quarta delle classi di maturità, quella corrispondente alla idratazione (figg. II.1d e II.2d), dovrebbe essere la più facile da riconoscere (ICES, 2004), ma si incontra solo durante il picco giornaliero di deposizione delle uova, tra le 22:00 e le 24:00 circa (si veda par. III.3). Questo spiega la bassa presenza di questa fase nei campioni: poco più del 2% (tab. II.2). Il 100% di corretto riconoscimento si raggiunge solo nel 2008 (fig. II.3), quando però è stata catturata solo una femmina in deposizione. La percentuale più alta di confusione è stata riscontrata nel 2005 con lo stadio III (60% tab. II.2). Lo stadio IV diventa rapidamente stadio V appena ha inizio la deposizione. Quando sono state ovulate solo poche uova, macroscopicamente l'aspetto dell'ovario non ha ancora subito modificazioni, sebbene di fatto esso sia già entrato nello stadio di post-deposizione parziale. La corretta corrispondenza tra le due analisi per la classe IV è risultata debole per tutti gli anni (tab. II.2, fig. II.3).

Lo stadio V (figg. II.1e e II.2e) è il secondo per abbondanza: circa 30% delle gonadi esaminate. Il più delle volte questa categoria viene classificata correttamente anche attraverso l'analisi macroscopica, con percentuali sempre maggiori del 40% e che superano l'80% nel 2007 (tab. II.2; fig. II.3). Macroscopicamente queste gonadi vengono confuse con quelle della terza classe di maturità, ma questo fenomeno risulta in attenuazione durante il periodo di studio (da oltre il 50% nel 2001 e 2005 al 19% nel 2007 e 2008).

Infine, le analisi istologiche hanno mostrato meno dell'1% di ovari al VI stadio di maturità (figg. II.1f e II.2f). Per essi è stata trovata corrispondenza tra le due classificazioni solo nel 2008 e 2009, ma generalmente essi vengono classificati come II durante l'indagine macroscopica (es., 60% nel 2009; tab. II.2.), ma anche come stadio V e più ancora come stadio I (es., 80% nel 2001; tab. II.2). Sia per le acciughe che per parecchie altre specie, molto comune è la confusione tra l'ultimo e i primi due stadi di maturità (Trippel e Morgan, 1997; Saborido-Rey e Junquera, 1998; Domínguez-Petit, 2007): questo tipo di errore potrebbe portare ad annoverare erroneamente gli esemplari alla fine della stagione deponente tra quelli ancora immaturi.

Tab. II.2. Percentuali di corrispondenza tra classificazione microscopica e valutazione macroscopica. In parentesi il numero di esemplari.

anno	macro	micro						III+V
		I	II	III	IV	V	VI	
2001	I	-	-	-	-	-	-	-
	II	-	-	-	-	-	-	-
	III	1 (1)	-	76 (72)	4 (4)	17 (16)	2 (2)	95
	IV	-	-	14 (3)	67 (14)	19 (4)	-	-
	V	-	-	52 (13)	4 (1)	44 (11)	-	97
	VI	-	-	-	-	-	-	-
2005	I	0	-	-	-	20 (1)	80 (4)	-
	II	33 (1)	0	-	-	33 (1)	33 (1)	-
	III	-	1 (2)	65 (145)	-	34 (76)	0,5 (1)	99
	IV	-	-	60 (3)	-	40 (2)	-	-
	V	-	2 (2)	54 (61)	-	42 (48)	3 (3)	96
	VI	-	-	-	-	-	-	-
2006	I	0	35 (6)	41 (7)	-	6 (1)	18 (3)	-
	II	-	0	100 (1)	-	-	-	-
	III	3 (3)	10 (11)	56 (63)	4 (5)	25 (28)	2 (2)	81
	IV	-	-	-	75 (3)	25 (1)	-	-
	V	4 (3)	13 (9)	35 (24)	-	45 (31)	3 (2)	80
	VI	(25) 1	75 (3)	-	-	-	-	-
2007	I	57 (4)	29 (2)	-	-	-	14 (1)	-
	II	-	100 (1)	-	-	-	-	-
	III	-	-	49 (26)	-	49 (26)	2 (1)	98
	IV	-	-	-	0	100 (1)	-	-
	V	-	-	19 (8)	-	81 (34)	-	100
	VI	-	-	-	-	-	-	-
2008	I	-	-	-	-	-	-	-
	II	-	0	100 (1)	-	-	-	-
	III	-	5 (4)	29 (22)	25 (19)	51 (39)	3 (2)	80
	IV	-	-	-	100 (1)	-	-	-
	V	-	1 (1)	19 (13)	12 (8)	68 (46)	-	87
	VI	-	-	-	-	-	100 (1)	-
2009	I	0	56 (5)	-	-	-	44 (4)	-
	II	-	20 (1)	-	-	20 (1)	60 (3)	-
	III	-	1 (3)	27 (69)	0,4 (1)	70 (178)	2 (5)	97
	IV	-	-	-	-	-	-	-
	V	-	2 (2)	37 (36)	-	60 (58)	1 (1)	97
	VI	-	60 (3)	-	-	20 (1)	20 (1)	-

In figura II.3 sono riportate le percentuali delle corrette classificazioni effettuate per ciascuna classe di maturità, per ciascuno degli anni esaminati.

L'identificazione e la classificazione della maturità sessuale sono fondamentali negli studi sull'ecologia riproduttiva della specie: per la definizione della stagione deponente, in accordo alle differenti aree geografiche e alle differenti condizioni ambientali, e per studiare le relazioni tra taglia di prima maturità sessuale e sfruttamento dello stock da parte della pesca (Picquelle e Hewitt, 1983; Armstrong *et al.*, 1988; Pérez *et al.* 1989; Millán, 1999; Basilone *et al.*, 2006). Le ragioni che determinano le discrepanze tra valutazione macroscopica e osservazioni istologiche sono principalmente le seguenti: giorno di campionamento, compromissione del pesce a causa dello stress dovuto alla cattura, il tempo trascorso dalla cattura all'esame dei campioni, imprecise descrizioni dei diversi stadi di maturità nelle tabelle di riferimento, soggettività dell'operatore. I risultati ottenuti mostrano, però, un aumento nel tempo nella percentuale di corretto riconoscimento, a livello macroscopico, dello stadio di maturità sessuale: una maggiore esperienza da parte dell'operatore può quindi assicurare una maggiore precisione delle valutazioni, anche se una precisione assoluta è impossibile da raggiungere, soprattutto nel caso degli ovari di piccole dimensioni, ovvero negli stadi antecedenti alla maturazione o successivi alla fase di deposizione.

La preparazione istologica appare essere l'unico modo per ottenere una classificazione accurata quando gli obiettivi di studio richiedono elevati standard. Nel caso si voglia ricorrere alla sola indagine macroscopica, gli studi su esemplari maturi devono essere basati su campioni raccolti durante il picco riproduttivo, prendendo in considerazione le variazioni geografiche: è quasi impossibile distinguere macroscopicamente le femmine immature da quelle a riposo, ma la percentuale di femmine a riposo durante il picco della stagione riproduttiva è inferiore a quella del resto dell'anno. Se il campionamento viene effettuato durante l'apice della stagione riproduttiva, la sola classificazione macroscopica potrebbe essere usata quando si ha necessità di distinguere tra immaturi e maturi, per esempio al fine di stabilire la taglia di prima maturità sessuale, anche in considerazione del fatto che gli

immaturi (spesso confusi con lo stadio VI) risultino scarsamente rappresentati in estate. Al contrario, la percentuale di errata classificazione tra valutazione macroscopica e microscopica può determinare errori significativi nelle stime di fecondità lotto (F) e frazione deponente (S) e di conseguenza nelle valutazioni di abbondanza di depositori attivi degli stock, per esempio quando si applica il metodo di produzione delle uova. Come è noto dalla letteratura (Hunter e Macewicz, 1985; Hunter, 1985; ICES, 2004) e come sostenuto dai presenti dati, l'analisi istologica risulta fondamentale quando si ha lo scopo di studiare l'ecologia riproduttiva della specie, per esempio valutando la maturazione progressiva degli esemplari in relazione all'ambiente in cui vivono.

CAPITOLO III

Variabilità nell'abbondanza della popolazione deponente in relazione alla variabilità dei parametri riproduttivi dello stock

III.1. INTRODUZIONE

Il metodo di produzione giornaliera delle uova (*Daily Egg Production Method*, DEPM) è stato sviluppato negli anni settanta del secolo scorso, presso il *Coastal Division of the Southwest Fisheries Center*, La Jolla (CA, USA; Parker, 1980), per rispondere alla crescente necessità di un metodo diretto di stima delle popolazioni di acciuga del Nord (*Engraulis mordax*). Da allora il metodo si è rapidamente esteso a molte specie ittiche con uova pelagiche e si è diffuso in varie aree del mondo. Più recentemente, il metodo è stato anche applicato a specie demersali (Stratoudakis *et al.*, 2006). Dagli anni novanta esso viene utilizzato anche per la valutazione degli stock di acciughe e sardine che vivono nelle acque europee, attorno alla penisola Iberica, includendo la Baia di Biscaglia, nonché in Mediterraneo. A partire dal 1998 il DEPM è stato applicato anche nello Stretto di Sicilia alla specie *Engraulis encrasicolus* (Mazzola *et al.*, 2000; Somarakis *et al.*, 2004).

Per stimare la biomassa di uno stock deponente, tramite DEPM, i parametri necessari sono numerosi ed essenzialmente suddivisibili in due categorie: quelli ottenibili mediante campionamento ittioplanctonico e quelli provenienti da campionamento della popolazione deponente. È noto come la biomassa dei piccoli pelagici sia soggetta ad ampie fluttuazione interannuali, principalmente legate alle variazioni ambientali nel periodo che va dalla schiusa delle uova al reclutamento (Hjort, 1914, Lasker, 1978; Belvéze e Erzini, 1983; Tanaka, 1984). Per questo motivo nel passato si è posta gran parte dell'attenzione ai processi che interessano la mortalità delle larve e dei giovanili. Tuttavia, più recentemente, si è anche considerato come la variabilità nel potenziale riproduttivo di una popolazione costituisca

un'importante causa di fluttuazione negli stock ittici (Trippel, 1999; Jakobsen *et al.*, 2009). Tali oscillazioni risultano determinate, in maniera diretta o indiretta, da cambiamenti sostanziali nello stato fisiologico della popolazione che vengono indicizzati mediante parametri che sono riconducibili al potenziale riproduttivo dello stock e contemporaneamente determinano la biomassa nelle applicazioni DEPM. Ad esempio, si è visto in letteratura come variazioni nella temperatura o nella disponibilità di cibo influiscono sulla quantità di uova deposte (Lambert *et al.*, 2003; Kamler, 2005).

Tuttavia la variabilità nella stima della biomassa dipende anche da come si ottengono i parametri implicati nella stima stessa e variazioni nelle stime finali possono insorgere anche a seguito di errori nel campionamento sia ittioplanctonico che degli adulti (Piquelle, 1985; Alheit, 1985 e 1993; Ganas, 2008). Per esempio, nel caso si abbia abbondanza di campioni provenienti da imbarcazioni commerciali si potrebbe avere uno sbilanciamento del rapporto sessi a favore delle femmine, ma anche una sovrastima del peso medio delle femmine mature. I pescherecci, generalmente, pescano durante le ore di buio e prediligono gli esemplari di dimensioni maggiori, ovvero le femmine prossime alla deposizione, il cui peso risulta aumentato a causa del fenomeno di idratazione, che segregano dal resto del banco perché vanno in cerca delle aree più adatte allo *spawning* (Motos, 1994; Ganas *et al.*, 2008) e che si sono dimostrate più vulnerabili alla cattura proprio per via della loro particolare situazione (Alheit *et al.*, 1984). Un'altra fonte di variabilità deriva dai parametri ottenuti dal campionamento ittioplanctonico, infatti, solitamente si fa ricorso ad uno schema adattativo che consiste nel trovare un compromesso tra la necessità di delimitare l'intero areale di deposizione e la necessità di intensificare il campionamento delle uova, al fine di definire accuratamente lo strato positivo (con uova) ed avere, al tempo stesso, un numero sufficiente di uova per l'applicazione del modello esponenziale per la stima della mortalità e della produzione di uova. Si parte quindi dalla adozione di un grigliato di campionamento prestabilito, ma che può essere esteso o intensificato in base all'osservazione in tempo reale della presenza di uova e larve della specie target nella zona di indagine, attraverso un *sorting* a bordo dei campioni di CalVET (Lo *et al.*, 1996; ICES, 2004).

Conoscere la variabilità dei parametri nella determinazione della variabilità della biomassa costituisce un importante elemento per discriminare tra l'incertezza legata a fattori esterni e quella legata ai parametri riproduttivi dello stock. Al fine di valutare l'effetto della variabilità dei parametri riproduttivi sulla variabilità della biomassa si è deciso di effettuare un'analisi della sensibilità della variazione di biomassa alla variazione dei singoli parametri. Tale analisi è conosciuta con il termine "*sensitivity*" che si riferisce ai gradi di libertà con cui un parametro di input influenza un modello di output (Downing *et al.*, 1985; Margulies *et al.*, 1991). Grazie a tale analisi è possibile effettuare una distinzione tra quei parametri "importanti" che indubbiamente determinano in maniera sostanziale l'incertezza dei risultati e i parametri "sensibili" che hanno un'influenza significativa sui risultati (Crick *et al.*, 1987). La sensibilità del modello al parametro è indotta per due vie. Nella prima, la variabilità, o incertezza, associata al parametro sensibile di input si propaga attraverso il modello apportando un contributo determinante nella variabilità risultante dalle stime finali; nella seconda, il modello potrebbe essere così altamente correlato con quel parametro, che piccoli cambiamenti nel valore di quest'ultimo comportano cambiamenti significativi nel risultato finale. Un parametro importante è sempre sensibile, perché la variabilità dei parametri non apparirà nel risultato a meno che il modello non sia sensibile a quel determinato input. Un parametro sensibile, tuttavia, non è necessariamente importante perché può essere stimato con una certa precisione, ottenendo così una variabilità piuttosto piccola che poco influisce sul risultato finale del modello. Un coefficiente di sensibilità è fondamentalmente il rapporto tra la variazione del risultato in risposta al cambiamento di un parametro, mentre tutti gli altri parametri rimangono costanti (Krieger *et al.*, 1977).

In questa fase del lavoro sono state preparate e analizzate le sezioni istologiche dei campioni dal 2007 a 2009. Sono stati revisionati i database relativi agli anni dal 2001 al 2006 e sono state prodotte le stime di biomassa dal 2001 al 2009. In questo capitolo vengono presentati i dati di una serie temporale di nove anni di applicazione del DEPM all'acciuga nello Stretto di Sicilia, utilizzando i dati ottenuti durante questi anni di dottorato insieme a dati già ottenuti e riportati in letteratura (1998-2000; Mazzola *et al.*, 2000). Sulla base di questo ampio data

set è stata valutata la variabilità dei parametri riproduttivi, sia relativi agli adulti che alle uova, in relazione alle oscillazioni nella biomassa deponente, al fine di stabilire quali tra essi siano stati maggiormente determinanti nella variabilità delle stesse.

III. 2. MATERIALI E METODI

III. 2.1. Campionamento dello stock degli adulti nello Stretto di Sicilia

I campioni di adulti di acciuga europea sono stati ottenuti da peschate sperimentali, durante survey elettroacustici (si veda par. I.2). L'*echosounder* scientifico Simrad EK60, con trasduttori *split beam* (38B e ES120-7) a scafo aventi frequenze 38 e 120 kHz, permette l'individuazione e il monitoraggio degli stock ittici nella colonna d'acqua, grazie all'emissione di onde acustiche a 38, 120 e 200 kHz e alla ricezione del segnale di ritorno emesso dal bersaglio colpito dall'onda. Il monitoraggio con gli strumenti acustici viene accompagnato da cale di controllo, effettuate in corrispondenza di transetti costa-largo, lungo i quali sono condotte le osservazioni con l'acustica; tali cale hanno il compito di mostrare quale sia la composizione in specie relativa al segnale di ritorno ricevuto dai trasduttori acustici. Generalmente, vengono effettuate da tre a quattro cale nell'arco della giornata, di cui una soltanto durante le ore notturne.

Le imbarcazioni utilizzate durante le campagne oceanografiche sono equipaggiate con reti pelagiche opportunamente modificate per il campionamento scientifico. I prelievi di esemplari adulti della specie target sono stati effettuati durante i mesi del picco riproduttivo dell'acciuga: giugno-agosto (Basilone *et al.*, 2006). La rete adoperata (fig. III.1) è di tipo "Volante Monobarca": lunghezza complessiva di 78m, lunghezza sacco di 22 m con maglia di 18mm, apertura verticale ed orizzontale della bocca rispettivamente di 7 m e 13 m. I divergenti, che ne permettono l'apertura durante la cala, sono rettangolari, ognuno dei quali con dimensione di 190x115 cm, e pesano circa 380 kg.

La rete è dotata di sistema acustico Simrad ITI per il controllo della geometria della rete durante il campionamento. Per l'impiego del sistema Simrad ITI, i trasduttori sono stati collocati sulla parte superiore della bocca della rete (fig. III.2B) mentre l'idrofono, per la trasduzione dei segnali acustici ricevuti in segnali elettrici, è stato posizionato su un corpo da traino (fig. III.2A) che, calato in acqua dalla parte destra dell'imbarcazione, è stato trainato per la durata della cala. Durante la cala l'imbarcazione ha viaggiato ad una velocità di 3.5-4.5 nodi.

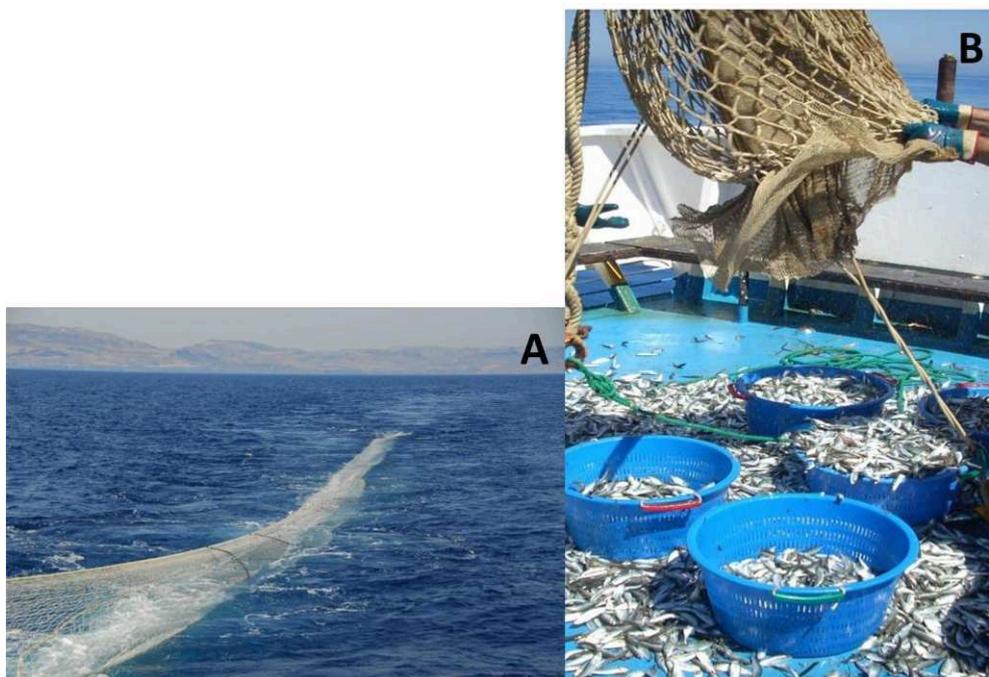


Fig. III.1A e B. La rete utilizzata per il campionamento degli esemplari adulti a bordo della N/O Dallaporta.

Per ogni cattura sono stati selezionati random 50 individui e misurati; le variabili erano: taglia (1 mm), peso (0.01 g), sesso e maturità sessuale macroscopica. La prima operazione è stata quella di prendere la lunghezza totale di ogni individuo, quindi il pesce veniva pesato sia intero che eviscerato, usando una bilancia di precisione stabilizzata Modello Pols Marine Scale. Individuate le gonadi del pesce, si procedeva ad una classificazione dello stadio di

maturità, in base alle caratteristiche macroscopiche (tab. II.1.a); le gonadi delle femmine sono state prelevate dal pesce e conservate singolarmente in barattoli da 100 ml, con formaldeide tamponata al 4%, così da poterli pesare con maggior accuratezza in laboratorio e per la preparazione delle sezioni istologiche. Tutti gli ovari sono stati presi e conservati entro e non oltre le due ore successive alla cattura così da evitare l'instaurarsi dei processi di degradazione e così da poter applicare i criteri istologici per la determinazione microscopica dello stadio di maturità (Alheit, 1985).



Fig. III.2. **A:** corpo da traino su cui viene installato l'idrofono per la ricezione del segnale acustico. **B:** sistema acustico Simrad ITI per il controllo della geometria della rete durante il campionamento.

Nel caso che dall'indagine preliminare risultasse la presenza di femmine in stato di idratazione, il numero di esemplari prelevati aumentava oltre le 50 unità (sino ad un massimo di 100 esemplari), al fine di avere un maggior numero di individui su cui basare la stima della fecondità per mezzo del metodo del conteggio degli ovciti idratati (si veda paragrafo III. 2.3) e aumentare così l'accuratezza delle stima.

III. 2.1.1. Il campionamento opportunistico

Alcuni anni a causa di cattive condizioni meteo-marine o per altri problemi, non è stato possibile completare adeguatamente la copertura dell'area investigata con un numero sufficiente di pesche. Per incrementare il numero di catture per la determinazione dei parametri DEPM, il campionamento è stato integrato da pesci provenienti da imbarcazioni commerciali. In questo caso, al personale di bordo veniva consegnato un recipiente riempito con formalina tamponata la 4%. Nella stessa area e durante lo stesso periodo di campionamento sperimentale, l'equipaggio dei pescherecci coinvolti era stato incaricato di preservare in formaldeide circa 50 esemplari per ogni cattura effettuata. I sacchetti che contenevano il pesce venivano opportunamente forati, per migliorare l'ingresso della soluzione dentro gli stessi e venivano riposti nel recipiente col fissante, insieme ad un foglietto di carta vegetale con le informazioni relative alla cattura: coordinate, data, ora, profondità, ammontare totale della cattura in peso.

Una volta in laboratorio i pesci venivano processati nella stessa maniera di quelli freschi esaminati a bordo della nave da ricerca. Per ovviare alle inevitabili alterazioni del peso, dovute alla fissazione in formaldeide, si è fatto ricorso ad un'apposita relazione ricavata da esperimenti mirati condotti sulle acciughe (Bonanno *et al.*, 2001):

$$Sw = 1.027 \times Fsw + 0.3676$$

Dove:

Sw = peso somatico;

Fsw = peso somatico dell'esemplare fissato in formalina.

III. 2.2. Il campionamento ittioplanctonico

Il campionamento di plancton si svolge con una rete CalVET (fig. III.3), dotata di due bocche (PairoVET) con base da 25 cm di diametro e maglie di 150 μ m (Smith e Hewitt, 1985). Essa

viene calata in verticale fino ad una profondità massima di 100 m, dove il fondo lo permette, ad una velocità di circa 1 m/sec. Il volume di acqua filtrata durante la percorrenza è stato calcolato tramite misuratori di portata per controllare la qualità del campionamento e assumendo un'efficienza di filtraggio del 100%. Per ogni campagna sono stati effettuati, in media, 230 campionamenti. I campioni di plancton di ciascuna stazione sono stati analizzati a bordo per osservare la presenza/assenza di uova di acciuga e, successivamente, conservati in formalina tamponata al 5%.



Fig. III.3. La rete CalVET per il campionamento ittioplanctonico.

Al cavo del retino viene fissata una sonda *stand alone* della Seabird (SBE39) per la registrazione di temperatura e pressione da utilizzare successivamente nel modello di mortalità delle uova, che è strettamente correlato alla temperatura incontrata dalla deposizione alla cattura delle uova stesse. Ad ogni stazione si è provveduto anche alla misurazione della temperatura e degli altri parametri chimico-fisici della colonna d'acqua attraverso l'uso di una sonda CTD (*Conductivity-Temperature-Depth*, conducibilità-temperatura-profondità) con sensori anche per la fluorescenza e l'ossigeno.

In realtà non è facile tenere in considerazione anche possibili *patches* di uova al largo, tuttavia grazie all'utilizzo di un altro retino (Bongo 40) con frequenza ridotta ma sino alla fine dei transetti, si può integrare l'informazione sull'areale di deposizione. Il Bongo 40 (fig. III.4) è un retino doppio con bocche di diametro di 40 cm equipaggiate con flussimetri GO (*General Oceanics*) per la determinazione dei volumi filtrati, che si cala in obliquo sino alla profondità di 100 m.



Fig. III.4. Il retino Bongo 40 usato per il campionamento ittioplanctonico.

III. 2.3. Il metodo di produzione giornaliera delle uova

La stima della biomassa deponente, attraverso l'applicazione del DEPM, si basa sulla equazione di Parker (1980), modificata da Piquelle e Stauffer (1985) per l'applicazione alle popolazioni di *Engraulis mordax* nelle acque californiane:

$$B = k \frac{P * A * W}{R * F * S}$$

Dove:

B = biomassa deponente in tonnellate metriche;

k = fattore di conversione da grammi a tonnellate metriche;

P = produzione giornaliera di uova (numero di uova per unità di campionamento);

A = area totale campionata (in unità di campionamento);

W = peso medio delle femmine mature (in grammi);

R = *sex ratio* (frazione di femmine mature espressa in peso);

F = fecondità del lotto (numero medio di uova deposto per femmina matura in un singolo evento deposizionale);

S = frazione di femmine mature che depone in un giorno.

La varianza della biomassa è calcolata a partire dal metodo Delta (Seber, 1973) come funzione delle varianze e covarianze dei vari parametri:

$$\text{Var B} = B^2(\text{CV}(P)^2 + \text{CV}(W)^2 + \text{CV}(F)^2 + \text{CV}(R)^2 + \text{CV}(S)^2 + 2\text{covS})$$

Dove:

$$\text{COVS} = \text{COV}(PW)/PW - \text{COV}(PR)/PR - \text{COV}(PF)/PF - \text{COV}(PS)/PS - \text{COV}(WR)/WR - \\ \text{COV}(WF)/WF - \text{COV}(WS)/WS + \text{COV}(RF)/RF + \text{COV}(RS)/RS + \text{COV}(SF)/SF$$

Di fatto la covarianza è calcolata dai soli parametri relativi agli adulti (F, S, R e W). Poiché P, ovvero il parametro relativo alle uova, deriva dalle campagne ittioplanctoniche mentre quelli relativi agli adulti dalle campagne di bioacustica, la covarianza tra parametri degli adulti e uova si assume essere 0.

Assumendo che la covarianza delle stime sia molto bassa e quindi trascurabile (Armstrong *et al.*, 2001) e poiché il rapporto sessi è praticamente costante, quindi R si può assumere come nota, questi contributi possono considerarsi nulli nella stima della varianza di B. Il

coefficiente di variazione (CV) della B può essere facilmente calcolato a partire dalle stime di varianza o come segue (Murua *et al.*, 2010):

$$CV^2(B) = CV^2(P_0) + CV^2(W) + CV^2(F) + CV^2(S)$$

III. 2.3.1. I parametri relativi agli adulti

Essi sono il rapporto sessi, la frazione deponente, il peso medio delle femmine mature e la fecondità del lotto. Di questi, F ha un suo modo specifico di essere calcolata, mentre i valori medi di S, R e W vengono calcolati dall'applicazione di un'equazione proposta da Piquelle e Stauffer (1985), che permette di calcolare la media pesata di ciascun parametro a partire dai dati forniti dalle cale sperimentali e dal campionamento opportunistico:

$$Y = \frac{\sum_{i=1}^n m_i y_i}{\sum_{i=1}^n m_i}$$

e

$$Var Y = \frac{\sum_{i=1}^n m_i^2 (y_i - Y)^2}{\sum_{i=1}^n \left[\frac{m_i}{n} \right]^2 * n * (n - 1)}$$

Dove:

Y = stima di un parametro per gli adulti dell'intera popolazione;

y_{ij} = è il valore osservato per il j^{esimo} campione nella i^{esima} cala;

m_i = numero di esemplari nella i^{esima} cala;

n = numero di cale;

y_i = valore medio del parametro nella i^{esima} cala: $\sum_{j=1}^m y_{ij} / m_i$.

La fecondità del lotto è stimata in base al numero di uova per ogni lotto deponente (F_{ij}). Il numero di uova in un ovario si ottiene dall'applicazione del metodo gravimetrico (Hunter e Goldberg, 1980; Hunter *et al.*, 1985). Consiste nel pesare l'ovario e contare, con l'ausilio di un binoculare (10x), il numero di uova in tre sub-campioni dell'ovario di peso conosciuto

(generalmente, 30-40 mg). Il numero medio di uova contenuto nei sub-campioni si moltiplica per il peso totale dell'ovario.

Il parametro fecondità viene calcolato effettuando una regressione lineare del numero di uova nel lotto ed il peso somatico (escluse le gonadi, W_{ij}^*) delle femmine con ovari idratati, ma senza la presenza di follicoli post-ovulatori, informazione che deriva dall'analisi e dall'interpretazione delle sezioni istologiche degli ovari stessi. Il peso utilizzato è quello somatico per evitare di incorrere in possibili errori dovuti all'aumento di peso legato al fenomeno dell'idratazione, che si verifica precedentemente all'ovulazione.

La fecondità media del lotto è stata calcolata mediante relazione lineare (Picquelle e Stauffer, 1985):

$$F_{ij} = a + b * W_{ij}^*$$

La varianza è stimata come descritto in Draper e Smith (1966), dal momento che F_{ij} non rappresenta un valore misurato direttamente ma una stima con una propria varianza associata.

$$Var(F) = \frac{\sum_{i=1}^n m_i^2 \left[\frac{(F_j - F)(F_j - F)^2}{n - 1} + \frac{S_h^2}{n_h} + (W_i^* - W_h^*) * Var(B) \right]}{\left[\sum_{i=1}^n \frac{m_i}{n} \right]^2 * n}$$

Dove:

F = stima della fecondità del lotto per l'intera popolazione di femmine mature;

F_i = media della fecondità del lotto per la pescata i: $\sum_{j=1}^{m_j} \frac{F_{ij}}{m_i}$;

F_{ij} = stima della fecondità del lotto per la femmina j nel subcampioni;

m_i = numero di pesci subcampionati da ogni pescata;

n = numero di pescate;

S_h^2 = varianza della regressione;

n_h = numero di femmine idratate usate nella regressione;

W_i^* = media del peso somatico per la pescata i;

W_h^* = media del peso somatico per le n_h femmine idratate;

Var(b) = varianza della pendenza della regressione.

L'idratazione è un fenomeno che si manifesta in un lasso di tempo molto breve (poche ore) e a ridosso dell'ora in cui si verifica il picco di deposizione (0:00 GMT). Oltre a ciò, non bisogna trascurare il fenomeno di dispersione di cui i banchi di piccoli pelagici sono protagonisti durante le ore notturne (Alheit, 1985; Motos, 1994; Gantias *et al.*, 2008). Tenendo conto del fatto che i parametri (a e b) della regressione che lega numero di uova e peso degli individui, possono essere utilizzati per una stima indiretta della fecondità (tra gli altri, Cubillos *et al.*, 2007), nel caso che le femmine catturate durante il campionamento non fossero idratate e non si potesse procedere al conteggio degli oociti, negli anni in cui non è stato possibile catturare femmine con ovociti idratati, generalmente per esigenze di navigazione o per le avverse condizioni meteomarine, la *batch fecundity* è stata determinata ricorrendo alla regressione costruita con le informazioni ottenute per i precedenti anni di campionamento e da dati di letteratura (Somarakis *et al.*, 2004).

III. 2.3.2. I parametri relativi alle uova

La produzione giornaliera delle uova deposte a mare è stimata dalla regressione di un modello esponenziale di mortalità, determinato dal numero di uova per ciascuno stadio di sviluppo embrionale. Per produrre questi dati di densità delle uova è necessario sottoporre il campione prelevato con le reti CalVET ad un *sorting*, per individuare le uova di acciughe. Esse sono facilmente riconoscibili per la loro forma ovoidale. Successivamente alle uova viene assegnato uno stadio di appartenenza in base al loro grado di sviluppo. Gli undici stadi di sviluppo (fig. III.5) si basano su criteri strutturali scelti dalla sequenza di cambiamenti morfologici che si manifestano durante l'embriogenesi (Moser e Ahlstrom, 1985).

La fase successiva alla stadiazione è la datazione. Per assegnare un'età alle uova, in base allo stato di sviluppo embrionale, è necessario conoscere l'orario del picco di deposizione. La chiave stadio/T/età è una curva di crescita embrionale per ciascuno stadio di sviluppo, che pone in correlazione il tempo di sviluppo e la temperatura di incubazione. Da questa curva,

considerando che la temperatura dell'acqua al momento del campionamento sia uguale a quella di incubazione, tenendo conto del tempo in giorni intercorso dal momento della deposizione al campionamento, è possibile effettuare la datazione. I valori di mortalità istantanea, il tasso di residenza e l'età media di ciascuno stadio vanno aggiustati tenendo conto di un fattore di correzione relativo alla temperatura (Regner, 1996). I fattori di correzione (tab. III. 1.) vengono usati unitamente al tempo di sviluppo che è funzione della temperatura di incubazione.

Tab. III. 1. Tempo di permanenza e fattori di correzione per l'età media per ciascuno stadio di sviluppo delle uova, per la determinazione dei tassi di mortalità istantanea delle uova di acciuga (Regner, 1996).

Stadio	Tempo medio di residenza	Fattore di correzione del tempo medio
I + II	0.16	0.08
III	0.08	0.20
IV	0.15	0.32
V	0.08	0.44
VI	0.19	0.57
VII	0.12	0.73
VIII	0.11	0.84
IX	0.06	0.92
X	0.05	0.98

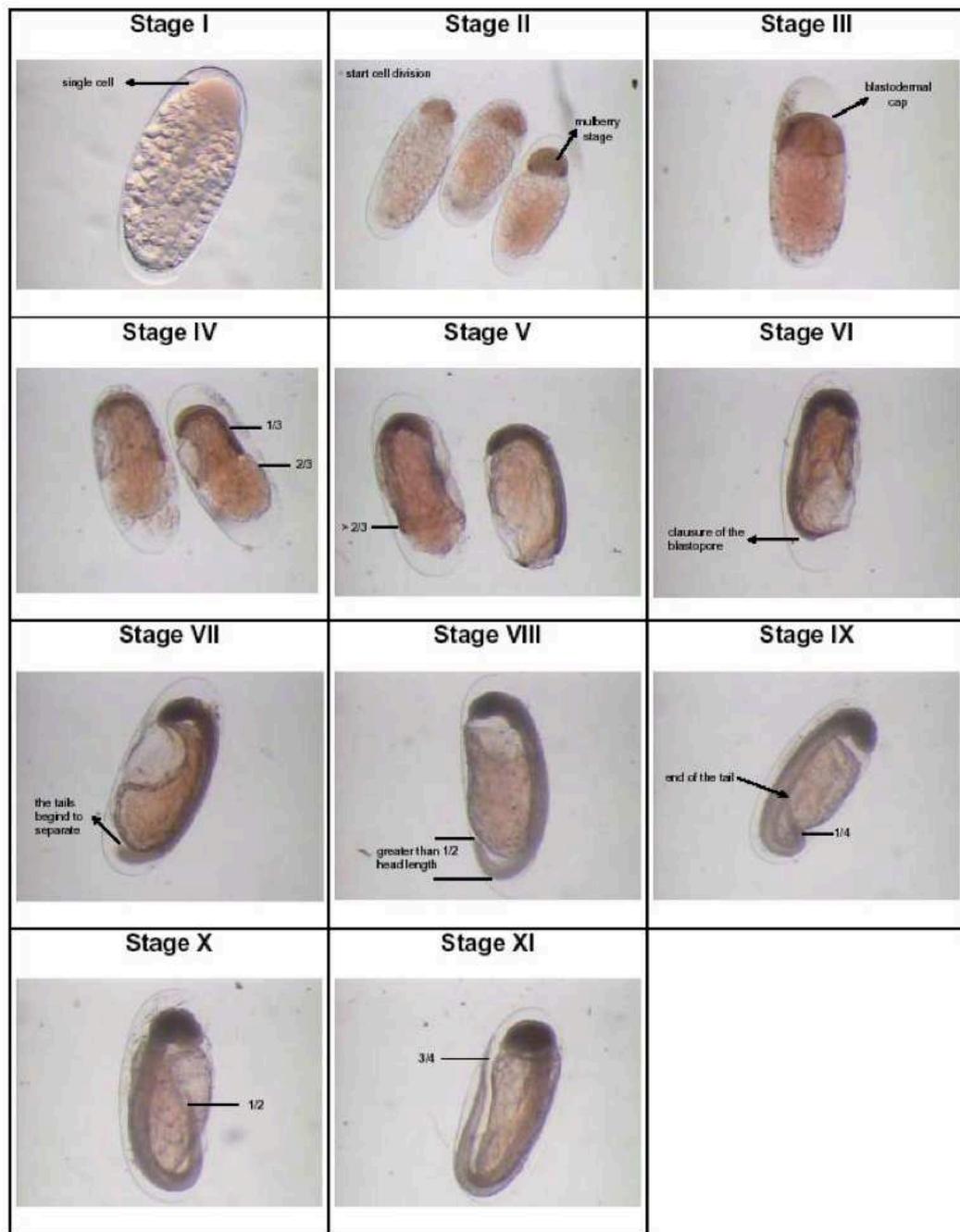


Fig. III.5. Gli undici stadi di sviluppo delle uova di acciuga.

L'area totale (A) in cui è avvenuto il campionamento è stata determinata dalle superfici campionate all'interno di una griglia prestabilita di 4x4 miglia nautiche, dove una unità di campionamento 0.1 m^2 (la somma delle aree delle due bocche CalVET) rappresenta il centro

di questo riquadro. Quando questa griglia di base ha subito modifiche (per es., nel caso venga intensificato il campionamento), la variazione è stata compensata da un fattore di peso che è proporzionale alla superficie che la stazione rappresenta. In fase di elaborazione dei dati raccolti durante le campagne oceanografiche, le stazioni sono state stratificate con lo scopo di diminuire la varianza. Alcune stazioni sono situate al di là delle zone di riproduzione delle acciughe, tali stazioni danno un contributo pari a 0 per il conteggio delle uova. Per ridurre il loro impatto sulla varianza, l'area totale di *survey* viene post-stratificata in due strati: strato 0, contenente l'area geografica in cui non è stata osservata alcuna deposizione delle uova ($P=0$), e strato 1, contiene le stazioni in cui il conteggio delle uova è positivo.

La produzione di uova è stimata da una funzione esponenziale di mortalità delle uova per classe di età. L'intercetta al tempo zero di questa funzione è la stima della produzione di uova al momento della deposizione delle uova. Questo modello esponenziale della mortalità è stato ricavato utilizzando una regressione non lineare (Dixon e Brown, 1979):

$$P_t = P * e^{-zt}$$

Dove:

P_t = il numero di uova per età in $0,1 \text{ m}^2$;

P = la produzione giornaliera di uova per unità di campionamento ($0,1 \text{ m}^2$);

z = il tasso giornaliero di mortalità istantanea;

t = età in giorni misurata come tempo trascorso dalla deposizione al campionamento.

Questo modello è realizzato dai dati dello strato 1 per ottenere la stima del P_1 (intercetta) e la corrispondente mortalità delle uova z (pendenza).

La stima finale di P è calcolata come la media pesata dei due strati, in cui i pesi degli strati u_i sono proporzionali all'area A_i (l'area dello strato i^{esimo}), P_0 è zero per definizione, e i pesi sono le aree relative dei due strati, cioè:

$$u_i = \frac{A_i}{A_0 + A_1}$$

$$P = u_1 P_1 + u_0 P_0 = u_1 P_1$$

La varianza, aggiustata per la stratificazione *post-survey*, è (Jessen, 1978):

$$VarP = \left(1 + \frac{1}{n}\right) \left[\left(\frac{A_1}{A}\right) VarP_1 + \left(\frac{A_0}{A}\right) VarP_0\right]$$

Dove:

A_i = area dello strato i ;

A = area totale ($A_0 + A_1$);

n = numero totale di campionamenti del *survey*;

$VarP_1$ = stima della varianza dello stato 1 calcolata dalla regressione;

$Var P_0$ = zero per definizione.

III. 2.4. Le stime di sensibilità

Hoffmam e Gardner (1983) hanno suggerito un metodo semplice per la determinazione della *sensitivity* di un parametro. Esso è calcolato come differenza in percentuale nella stima finale quando uno dei parametri che la determinano viene sostituito dal suo valore minimo e da quello massimo. Come intervallo di valori possibili al fine di valutare la sensibilità di un parametro si è adoperato $x \pm 2\sigma_x$, dove x è ciascuno dei parametri che concorrono alla stima finale (nel nostro caso, quella della biomassa) e σ_x è la deviazione standard associata a ciascun parametro. L'indice di sensibilità (*Sensitivity Index*, SI) si calcola:

$$SI = \frac{(D_{max} - D_{min})}{D_{max}}$$

Dove D_{\min} e D_{\max} rappresentano i valori di output minimi e massimi, rispettivamente, risultanti dalle variazioni dei parametri di input all'interno del proprio possibile range. I risultati per ciascuno dei parametri considerati sono confrontabili tra loro, dal momento che gli indici ottenuti risultano normalizzati per quel parametro.

Hoffman e Gardner (1983) hanno introdotto anche l'indice di importanza (*Importance Index*, I_i) che è uguale alla varianza del valore di un parametro (S_x^2) diviso per la varianza del valore dipendente (S_y^2):

$$I_i = \frac{S_x^2}{S_{xy}^2}$$

Questa misura di importanza si basa sulla percentuale di contributo di ciascun parametro alla variabilità, o incertezza, totale. Al fine di normalizzare la misura della dispersione sono stati utilizzati i coefficienti di variazione al posto delle varianze dei parametri di input, così da rendere i risultati per ciascun parametro confrontabili tra loro.

III.3. RISULTATI E DISCUSSIONI

III.3.1. Caratterizzare del ciclo giornaliero di deposizione

Per effettuare una caratterizzazione del ciclo giornaliero di deposizione delle acciughe del Canale di Sicilia si è fatto riferimento all'ora di cattura degli esemplari e alla frequenza delle classi di maturità sessuale nelle diverse ore del giorno. Inoltre, dal momento che l'indice gonadosomatico (GSI, si veda par. V.2) risulta un buon indicatore dello stato riproduttivo dell'esemplare, sia quando si vuole individuare il picco della stagione riproduttiva che il picco giornaliero (West, 1990; Somarakis *et al.*, 2004), si è fatto ricorso anche a questo indice corporeo per un'ulteriore conferma del momento della giornata in cui tale evento si verifica.

L'andamento dei valori medi di GSI è stato confrontato con l'orario di cattura degli esemplari adulti.

La tabella III.2 e l'istogramma in fig. III.6 mostrano come la maggior parte dei campioni provenga da pesche a bordo di navi da ricerca. Negli anni 2005, 2008 e 2009 si è fatto ricorso al campionamento opportunistico. In particolare, nel 2008 le cale commerciali sono state più numerose di quelle sperimentali. Sebbene questo dato non si traduca in un maggior numero di esemplari catturati (89 femmine dalle cale sperimentali e 57 dalle commerciali), poiché il numero di esemplari proveniente da ciascuna cattura commerciale è inferiore a quello delle singole pesche a bordo delle imbarcazioni scientifiche. Sempre per lo stesso anno si nota come la differente provenienza dei campioni comporti anche una distinzione relativamente all'orario di cattura: ore di luce (6:00-21:00) per le sperimentali; ore di buio (21:00-6:00) per le commerciali. Negli anni esaminati le catture sono prevalentemente diurne, pattern in parte comparabile con gli anni antecedenti il periodo di studio eccetto il 1998 (tab. III.2). Il 2006 risulta l'anno con il minor numero di femmine campionate durante le ore successive al tramonto: 4 su 190 (tab. III.2). Il 2007 è risultato l'anno con il minor numero di cale effettuate e femmine catturate (tab. III.2).

Tab. III. 2. Numero di femmine adulte catturate e cale effettuate per anno, in relazione al tipo e all'ora di cattura. Su sfondo grigio dati di letteratura (Mazzola *et al.*, 2000).

Anno	Catture sperimentali		Catture commerciali		Giorno		Notte	
	# cale	# femmine	# cale	# femmine	# cale	# femmine	# cale	# femmine
1998	16	321			5	61	11	260
1999	11	313			9	252	2	61
2000	19	486			12	258	7	228
2001	15	141			7	64	8	77
2005	15	260	3	83	14	255	4	88
2006	15	190			14	186	1	4
2007	7	104			5	93	2	11
2008	4	89	8	57	4	89	8	57
2009	14	261	6	102	13	259	7	104

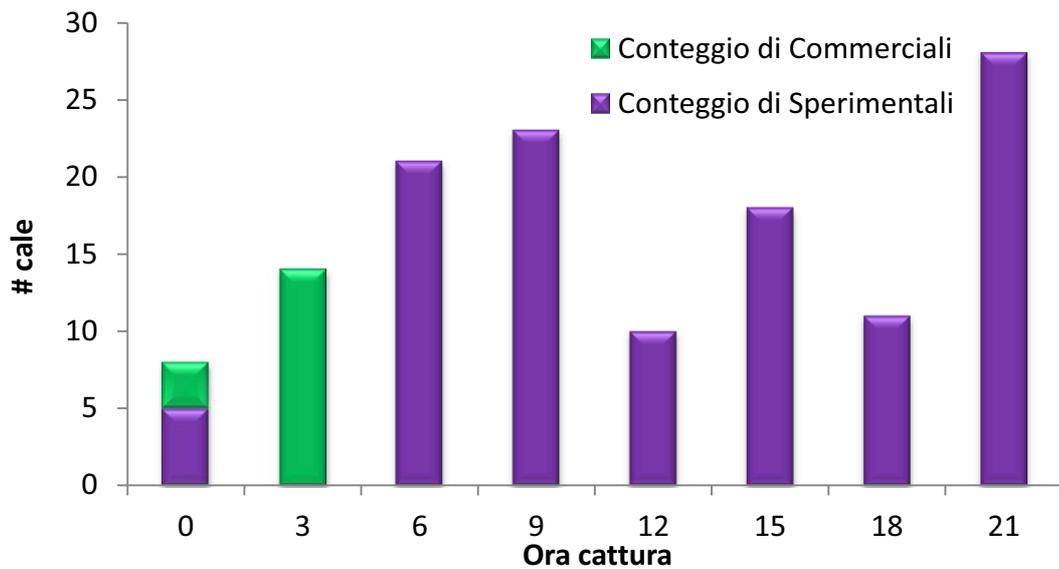


Fig. III. 6. Numero di cale effettuate per ora del giorno e per tipo di campionamento (sperimentale o opportunistico).

Al fine di caratterizzare il ciclo giornaliero di deposizione e determinare l'orario del picco di deposizione si è ripartita l'abbondanza di femmine per stadio di maturità nell'arco delle 24 h (fig. III.7). I dati mostrano come il picco di deposizione della specie si verifichi nelle prime ore della notte. La maggior parte di femmine idratate (stadio IV) è stata trovata tra le 21:00 e le 23:00 confermando precedenti osservazioni nella stessa area (Mazzola *et al.*, 2000). Gli esemplari maturi sono nettamente i più abbondanti e le classi di maturità che indicano deposizione imminente (stadio III) e deposizione appena avvenuta (stadio V), oltre ad essere le più rappresentate in tutti gli anni di campionamento (si veda par. II.3), sono presenti in maniera costante e abbondante durante le 24h (fig. III.7). Poiché la maggior parte degli esemplari è stata catturata durante le ore diurne (tab. III.2), le femmine idratate risultano sottorappresentate (fig. III.7). Per questo motivo, ai fini del calcolo della *batch fecundity*, in presenza di femmine IV il campionamento è stato intensificato (si veda par. III.2).

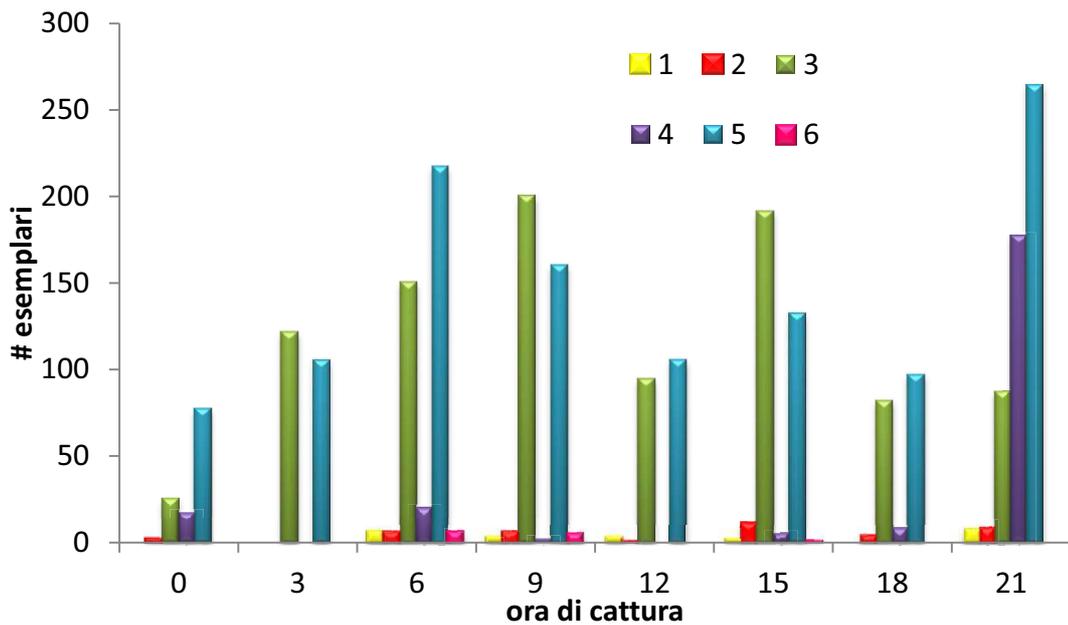


Fig. III.7. Distribuzione della presenza delle sei classi di maturità sessuale in relazione all'ora di cattura. I dati sono raggruppati in gruppi di tre ore a partire da quella che compare come etichetta sull'asse delle ascisse.

La più elevata quantità di POF 0 nel 2008 rispetto agli altri anni (tab. III.4) può essere spiegata dal maggior numero di catture effettuate durante le ore notturne (tab. III.2), dal momento che la più giovane delle classi dei follicoli risulta quasi del tutto riassorbita prima della fine della notte (si veda cap. IV).

Il ciclo giornaliero di deposizione è stato caratterizzato anche tramite osservazione dell'andamento dell'indice gonadosomatico nelle 24h. Dal momento che i fenomeni di maturazione degli ovociti e il fenomeno di idratazione determinano un aumento delle dimensioni e del peso delle gonadi, i valori del rapporto tra peso degli ovari e peso totale delle femmine adulte e mature sono indicativi dello stato riproduttivo raggiunto dall'esemplare. Le stime dei GSI sono state osservate in relazione all'ora di cattura ed hanno confermato che il picco di deposizione si verifica intorno alle 22:00 (fig. III.8). La maggior parte dei pesci è rappresentata da depositori notturni, soprattutto perché la deposizione notturna riduce il rischio di predazione sia per gli adulti che per le uova (Johannes, 1978; Ferraro, 1980; Robertson, 1991). La deposizione dopo il tramonto diminuisce tale rischio sia

per via della minore luminosità sia perché il numero di pesci che si ciba di zooplancton è inferiore rispetto ad altri momenti del giorno (Wootton, 1998).

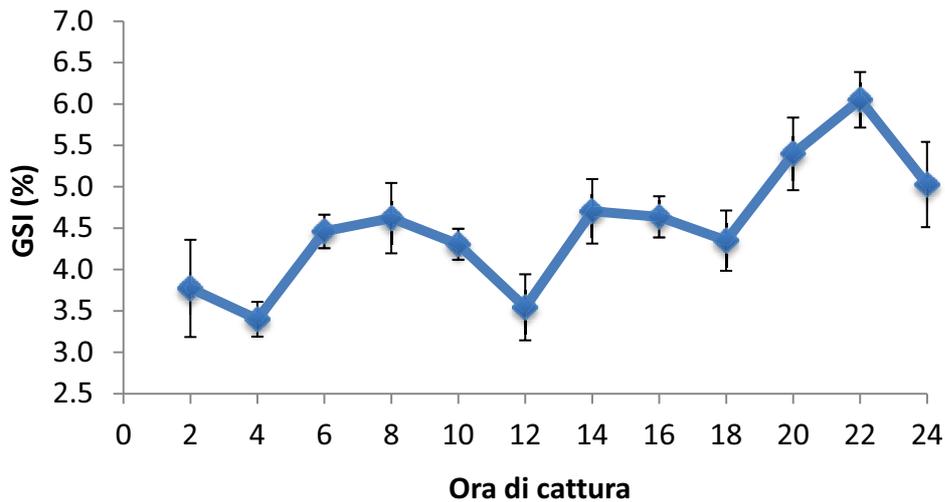


Fig. III.8. Andamento dell'indice gonadosomatico (GSI, in %) in relazione all'ora di cattura. I dati sono raggruppati in gruppi di tre ore a partire da quella che compare come etichetta sull'asse delle ascisse.

III.3.2. Le stime di biomassa deponente dello stock di acciughe

Il metodo di produzione giornaliera delle uova dalla sua introduzione (Parker, 1980) ad oggi ha avuto un'ampia diffusione sia a livello geografico che relativamente alla varietà di specie di applicazione (tra gli altri, Somarakis *et al.*, 2004; ICES, 2004; Stratoudakis *et al.*, 2006). Dal 1998 esso viene applicato con successo anche alle acciughe del Canale di Sicilia (Mazzola *et al.*, 2000; Quintanilla e García, 2001a e b), ma finora non era stato possibile effettuare uno studio su un data set così corposo (9 anni di dati) ed omogeneo. Tale base di dati è stata ricostruita cercando di standardizzare il più possibile le metodologie per il calcolo dei singoli parametri, così da ottenere dati comparabili fra anni successivi. Tuttavia tale lavoro ha anche comportato un ulteriore sforzo, in termini di tempo uomo, per l'espletamento di attività che hanno riguardato tutte le fasi della ricerca dal campionamento in mare al processamento ed

interpretazione dei tessuti in laboratorio, nonché al controllo di qualità e all'elaborazione finale dei dati.

Peso medio delle femmine mature (W)

Una volta eseguite le eventuali ed opportune correzioni per ottenere il peso esatto (si veda par. III.2.1.1.) per quei campioni che erano stati conservati in formalina tamponata al 4%, è stato calcolato il peso medio delle femmine mature (Piquelle e Stauffer, 1985) a partire dal peso totale degli esemplari. I valori di W sono compresi tra i 15.59 g (CV 0.04) del 2001 e i 22.16 g (CV 0.07) del 2008 (tab. III.3). Bisogna ricordare che nel 2008 il numero di catture commerciali supera quello delle sperimentali (tab. III.2): come noto (Motos, 1994; Ganius *et al.*, 2008) i pescherecci hanno taglie preferenziali di cattura e questo spiega perché proprio nel 2008 si trovi il valore di W più elevato. Ad ulteriore riprova, per lo stesso anno si è stimato il peso medio delle femmine considerando separatamente le cale sperimentali e quelle commerciali. Per le prime si è ottenuto $W=19.08$ g (CV 0.09), per le seconde $W=26.84$ g (CV 0.03). Nonostante la differenza significativa tra il peso medio del 2008 e quello degli altri anni, la variabilità delle stime finali di biomassa non sembra risultare influenzata da questo risultato, come mostrato dagli indici di importanza e sensibilità (si veda par. III.3.3).

I dati di W ottenuti nel periodo di studio sono comunque confrontabili con quelli registrati nelle acque europee per questa specie (tab. III.5; Somarakis *et al.*, 2004).

Rapporto sessi (R).

Negli anni per i quali si è effettuata la stima di biomassa DEPM, il rapporto sessi (Piquelle e Stauffer, 1985) si è mantenuto piuttosto costante (tab. III.4), dimostrando che la proporzione di maschi e femmine nell'arco del periodo di studio permane equamente ripartita all'interno della popolazione. Anche questa informazione è in accordo con i dati di letteratura che

riportano valori di R che si mantengono costanti nel tempo, sia nel caso delle acciughe (Palomera e Pertierra, 1993; Somarakis *et al.*, 2004) che di altre specie (Murua *et al.*, 2010). Sebbene anche la *sex ratio* può risentire dell'effetto delle catture preferenziali operate dalle imbarcazioni commerciali (Alheit *et al.*, 1984), la R calcolata per il 2008 non mostra valori anomali rispetto agli altri anni (tab. III.3).

Tab. III.3. Parametri e biomassa DEPM per gli anni dal 2001 al 2009 (in parentesi i CV). A in Km²; W in g; B in t.

Anno	P	A	W	F	S	R	B
2001	2.01 (0.16)	16406	15.59 (0.04)	5564 (0.14)	0.15 (0.23)	0.50 (0.08)	12418 (0.31)
2005	2.69 (0.13)	18984	17.83 (0.07)	7305 (0.15)	0.17 (0.15)	0.51 (0.08)	14271 (0.27)
2006	1.65 (0.18)	11028	16.66 (0.10)	6951 (0.15)	0.19 (0.14)	0.50 (0.11)	4717 (0.28)
2007	1.38 (0.21)	12181	15.93 (0.07)	6732 (0.15)	0.22 (0.14)	0.53 (0.07)	3399 (0.26)
2008	1.38 (0.19)	12935	22.16 (0.07)	8606 (0.15)	0.22 (0.07)	0.52 (0.08)	4006 (0.15)
2009	2.48 (0.13)	16131	18.18 (0.05)	7410 (0.15)	0.16 (0.18)	0.50 (0.06)	12044 (0.28)

Produzione giornaliera di uova (P) e Area di campionamento (A)

La produzione giornaliera di uova e l'area sono gli unici parametri necessari alla stima della biomassa che derivano dalle campagne oceanografiche ittioplanctoniche. I valori più elevati di P sono stati riscontrati nel 2001, 2005 e 2009 (tab. III.3) e corrispondono ai più alti valori di biomassa deponente dello stock di acciughe. Negli stessi anni si registrano anche le ampiezze maggiori per quanto riguarda l'areale di deposizione (tab. III.3). P ed A risultano infatti strettamente legati, dal momento che la produzione di uova si calcola anche a partire dall'estensione dell'area di campionamento. I risultati ottenuti sono confrontabili con quelli

calcolati per le acciughe dello Stretto di Sicilia in anni precedenti al periodo di studio (Mazzola *et al.*, 2000; si veda anche tab. V.II).

Frazione deponente (S)

Per ogni anno di studio, la stima della frazione deponente è stata realizzata tenendo conto dei risultati sulla durata dei POF ottenuti durante questo dottorato (si veda cap. IV) e in relazione alla rappresentatività di ciascuna classe di età dei POF nei diversi anni di campionamento (tab. III.4). In base alla regola della rappresentatività (Piquelle e Stauffer, 1985) si vuole ovviare agli eventuali problemi del sotto o sovra-campionamento di alcuni degli stadi dei follicoli. Vista la rapidità della degenerazione e, soprattutto, in relazione al momento della giornata in cui si concentrano le catture una classe può risultare più rappresentata dell'altra, solo in virtù di un errato campionamento, senza essere misura di una situazione reale. Per esempio, se le catture si concentrano tutte vicino all'orario in cui si ha il picco di deposizione, avremo abbondanza di femmine idratate e POF 0 rispetto alle classi più vecchie di follicoli, determinando una sovrastima delle femmine che hanno deposto quel giorno. Questo fenomeno può facilmente verificarsi nel caso si abbia abbondanza di campioni provenienti da imbarcazioni commerciali che non solo pescano durante le ore di buio, ma prediligono gli esemplari di dimensioni maggiori, che normalmente sono proprio quelli che segregano dal resto del banco perché vanno in cerca delle aree più adatte allo *spawning* (Motos, 1994; Gantias *et al.*, 2008). A tal proposito, la maggiore rappresentatività dei POF 0 nel 2008 (tab. III.3) può essere spiegata dal fatto che in tale anno i campioni provenienti dalle imbarcazioni commerciali sono più numerosi di quelli catturati con il campionamento sperimentale (tab. III.2). Come mostrato nel paragrafo precedente, le catture sperimentali avvengono prevalentemente durante il giorno. In questi casi, gli esemplari prossimi alla deposizione o con all'interno i POF più giovani saranno meno rappresentati (tab. III.4).

Tab. III.4. Quantità di POF di ciascuna classe di età (0, 1 e 2) e numero di femmine mature per anno esaminato.

Anno	POF 0	POF 1	POF 2	# Femmine
2001	5	2	21	141
2005	1	25	94	346
2006	0	14	55	185
2007	3	37	3	91
2008	19	46	2	146
2009	1	37	58	356

Fecondità del lotto (F)

A causa delle difficoltà cui si è già accennato sulla possibilità di catturare femmine in idratazione, è stato possibile applicare il metodo gravimetrico e ottenere una stima diretta della fecondità esclusivamente nel 2001 ($F=5564$; CV 0.14). Per gli altri anni si è fatto ricorso ad una determinazione indiretta a partire dal peso medio delle femmine mature. In tabella III.5 e in figura III.9 sono mostrati i dati e le regressioni utilizzati per calcolare la fecondità del lotto e i relativi CV per gli anni dal 2005 al 2009, in cui le femmine al IV stadio di maturità sessuale sono risultate troppo poche per effettuare una stima diretta accurata e attendibile: 5 su 346 femmine mature nel 2005, 4 su 186 nel 2006, ancora meno negli anni successivi. I risultati ottenuti con le stime indirette sono risultati coerenti con quelli ottenuti in anni passati per le acciughe sia nello Stretto di Sicilia che nel resto del Mediterraneo (tabb. III.3 e III.5). Per gli anni esaminati, la F maggiore è stata trovata nel 2008, risultato del resto in linea col fatto che sia anche l'anno in cui il peso medio delle femmine mature fa registrare il valore più alto (tab. III.3).

Tab. III.5. I dati utilizzati per costruire la regressione per il calcolo della fecondità del lotto. La colonna "Origine" indica area e anno di provenienza dei dati. In grassetto il 2001, per il quale la stima di F è stata effettuata all'interno del presente studio.

Origine	W	F	CV(F)
CAT90	14.3	8006	0.02
CAT93	14.3	4958	0.11
CAT94	22.9	7039	0.02
LIG93	14.2	4894	0.10
ADR94	18.6	11866	0.03
ION99	15.6	9428	0.08
CAE99	15.8	4725	0.06
NAE93	24.9	12451	0.05
NAE93	20.9	10474	0.04
NAE95	25.6	7781	0.06
NAE95	22.7	5128	0.11
SIC98	15.2	4835	0.16
SIC99	14.1	5871	0.11
SIC00	18.9	8379	0.06
SIC01	15.59	5564	0.140

Legenda: CAT90: Catalan Sea 1990; CAT93: Catalan Sea & Gulf of Lions 1993; CAT94 : Catalan Sea & Gulf of Lions 1994; LIG93: Ligurian & Tyrrhenian Seas 1993; ADR94:SW Adriatic 1994; ION99:Central Ionian Sea 1999; CAE99: Central Aegean Sea 1999; NAEe93: NE Aegean Sea 1993; NAEw93: NW Aegean Sea 1993; NAEe95: NE Aegean Sea 1995; NAEw95: NW Aegean Sea 1995; SIC98: Sicilian channel 1998; SIC99: Sicilian channel 1999; SIC00: Sicilian channel 2000 (Somarakis et al., 2004).

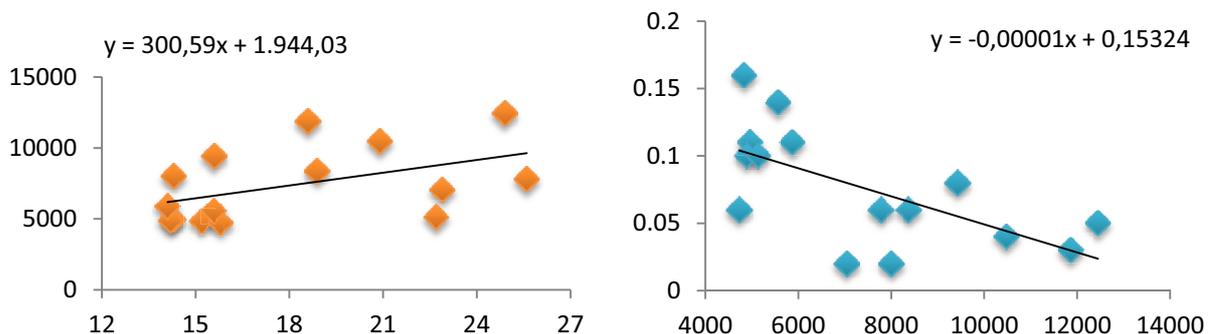


Fig. III.9. Le regressioni create con i dati in tabella III.3 e utilizzate per la determinazione della F (grafico a dx) e relativo CV (grafico a sx) per gli anni in cui non è stato possibile applicare il metodo gravimetrico.

Biomassa deponente (B)

Le stime di biomassa DEPM ottenute per gli anni analizzati sono riportate in tab. III.3, dove sono presentati anche i valori dei parametri necessari per le suddette stime. I risultati mostrano che l'acciuga dello Stretto di Sicilia è soggetta ad un'ampia fluttuazione tra i vari anni valutati, anche dell'ordine di 10000t.

Le specie di piccoli pelagici sono, normalmente, soggette ad ampie fluttuazioni interannuali, dovute alla variabilità ambientale del sistema in cui vivono, piuttosto che alla pressione di pesca (Lasker, 1978; Belvéze e Erzini, 1983; Tanaka, 1984), seppure molto elevata (Leonart e Maynou, 2003; IREPA, 2010). L'abbondanza minore è stata riscontrata nel 2007 con 3399 t (CV 0.26), ma valori piuttosto bassi si sono riscontrati, in generale, nei tre anni centrali dello studio (dal 2006 al 2008; tab. III.3). Questi valori sono comunque assimilabili a quelli disponibili in letteratura per il 1999 e il 2000 (fig. III.10; Mazzola *et al.*, 2000; Quintanilla e Garcia, 2001a e b; Somarakis *et al.*, 2004). L'abbondanza maggiore di acciughe è relativa all'anno 2005 (14271 t, CV 0.27), ma anche per il 2001 e il 2009 sono stati trovati valori piuttosto elevati di biomassa deponente, superiori alle 12000 t (tab. III.3). I valori così elevati di questi tre anni sono simili a quelli già riscontrati nel 1998, come mostrato in figura III.10.

Utilizzando i coefficienti di variazione, è stato possibile predire i minimi ($-B \cdot cv(B) + B$) e i massimi ($B \cdot cv(B) + B$) di biomassa per gli anni analizzati (tab. III.6). I coefficienti di variazione ottenuti mostrano un range di variabilità di 0.16 dal minimo del 2008 (0.15) al massimo del 2001 (0.31; tab. III.3). Non stupisce che le maggiori variazioni si osservino più che per gli anni in cui si hanno i maggiori CV, negli anni in cui si hanno le biomasse più abbondanti. E altresì vero che nel 2001 oltre a registrarsi il secondo valore in termini di grandezza dello stock (12418 t) si ha anche il maggiore coefficiente di variazione per gli anni di studio (0.31), questo si riflette in un range piuttosto ampio nei valori di biomassa: 8623 t di biomassa minima e 16214 t di biomassa massima (tab. III.6).

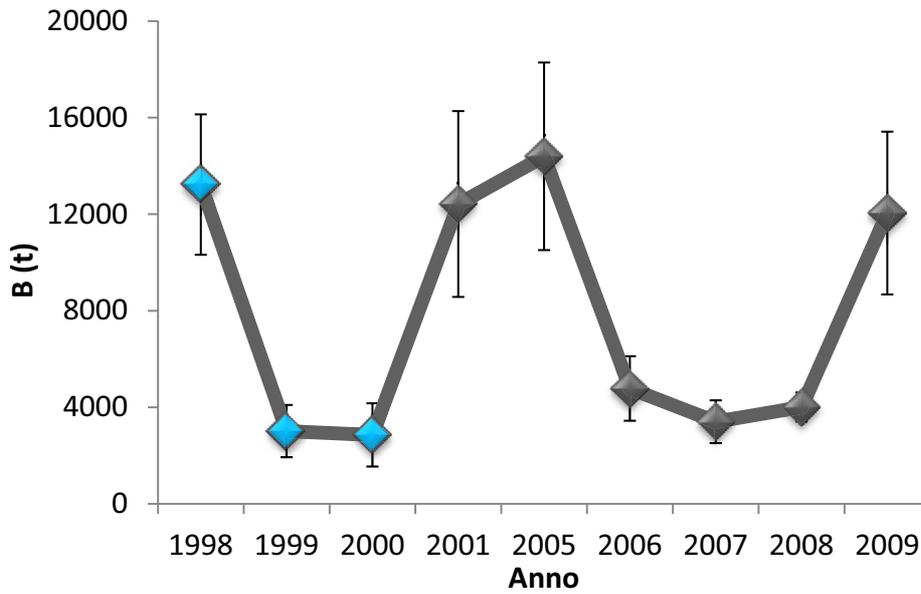


Fig. III.10. Fluttuazioni di biomassa deponente dello stock di acciughe nello Stretto di Sicilia, per gli anni studiati (dal 2001 al 2009); in azzurro gli anni dal 1998 al 2000 (informazioni di letteratura, Mazzola *et al.*, 2000; Quintanilla e Garcia, 2001a e b).

I valori registrati per i coefficienti di variazione corrispondono ad analoghe fluttuazioni della varianza della biomassa. L'incertezza delle stime finali deriva dall'incertezza nella determinazione di uno o più parametri necessari a calcolare B. Negli anni per i quali sono state effettuate le stime di biomassa DEPM i CV più elevati sono stati registrati, generalmente, per S e P. E' noto dalla letteratura che questi ultimi siano i parametri che determinano la maggior parte della varianza nelle stime finali (Motos, 1994; Zeldis e Francis, 1998; Somarakis *et al.*, 2006; Murua *et al.*, 2010). In particolare, la variabilità della produzione di uova può derivare da una scarsa accuratezza nella stima del tasso di mortalità delle uova (Cotero-Altamirano e Green-Ruiz, 1997; Zeldis e Francis, 1998). La varianza della frazione deponente può dipendere anche dal tipo di stima che si sceglie di fare, ovvero alcuni studi dimostrano che le valutazioni di S effettuate utilizzando le sole femmine che hanno depresso il giorno precedente alla cattura hanno una maggiore variabilità (Lo *et al.*, 2011). Diversi autori (Motos, 1994; Cotero-Altamirano e Green-Ruiz, 1997; Zeldis e Francis, 1998; Lo *et al.*, 2011), infine, concordano sul fatto che un più accurato piano di

campionamento e un numero di campioni più elevato possibile garantiscono una maggiore precisione nella determinazione sia dei singoli parametri che della stima finale di biomassa.

Tab. III.6. Valori massimi e minimi di biomassa DEPM (t) per gli anni dal 2001 al 2009.

Anno	Biomassa minima	B	Biomassa massima
2001	8623	12418	16214
2005	6570	14271	21973
2006	3406	4717	6028
2007	1622	3399	5175
2008	3396	4006	4616
2009	8697	12044	15390

Contemporaneamente alle valutazioni dello stock con il DEPM, l'abbondanza delle popolazioni di acciuga nel Mediterraneo centrale è stata stimata utilizzando un altro metodo diretto, quello dei *survey* acustici (*echosurvey*), durante i quali si è effettuato anche il campionamento della popolazione adulta della specie target. Tali *echosurvey* si inquadrano all'interno di un programma europeo di raccolta dati (MEDIAS) ed i risultati sono stati ottenuti dai rapporti tecnici annuali forniti dallo IAMC-CNR al Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MIPAF) ed allo *Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries* (STECF) della Commissione Europea. Le valutazioni prodotte con i due metodi di stima vengono confrontate in fig. III.11 e mostrano valutazioni di abbondanza simili tra loro. Salvo che in alcuni anni, ovvero tra il 1998 e il 1999 e tra il 2001 e il 2005, i trend registrati con le due metodologie di indagine hanno andamenti simili tra loro, sia nel caso si registrino dei crolli nella biomassa, per esempio tra il 2005 e il 2006, sia quando si evidenzia un nuovo aumento nelle dimensioni della popolazione, come tra il 2008 e 2009. Bisogna però tenere conto del fatto che per gli anni 1999 e 2001, le campagne acustiche si sono svolte nel mese di ottobre, quindi le stime ottenute non sono quelle dello stock di adulti durante il periodo riproduttivo, ma quelle di popolazioni di esemplari giovanili, più rappresentativi del reclutamento dello stock (Sinovčić, 1996; Uriarte *et al.*, 2001; Cermeño *et al.*, 2003). Salvo le eccezioni cui si è appena fatto riferimento, i due metodi di stima possono essere considerati

perfettamente confrontabili. Infatti, sebbene compito del DEPM sia quello di fornire una valutazione della sola biomassa deponente, se il campionamento avviene durante il periodo del picco riproduttivo della specie, quando la quasi totalità degli individui dello stock risulta adulta e matura per la riproduzione, la stima ottenuta dall'applicazione del metodo è da considerarsi una valutazione rappresentativa dell'intera popolazione (Stratoudakis *et al.*, 2006).

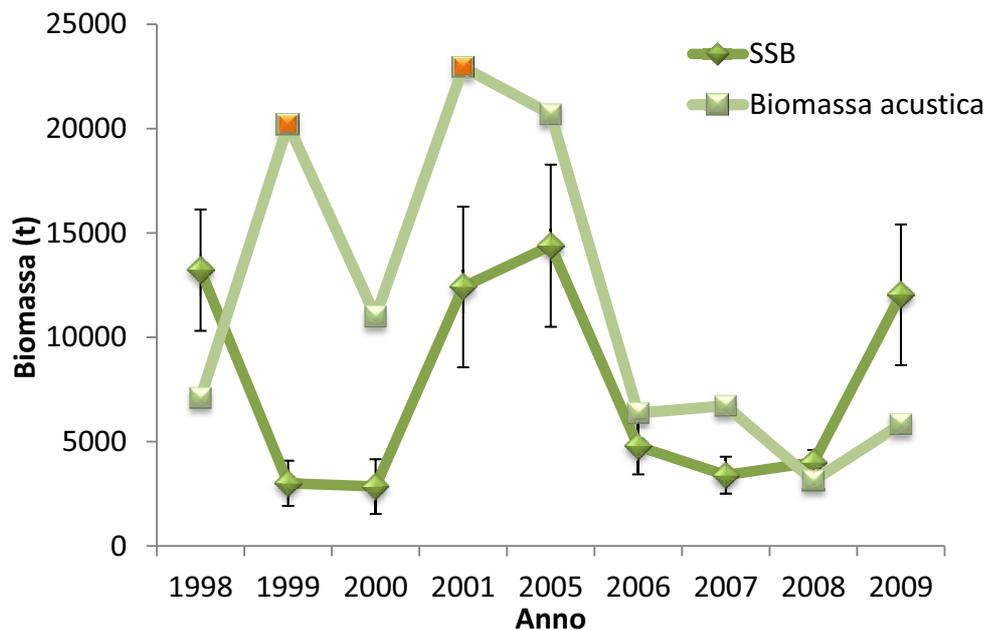


Fig. III.11. Confronto tra la biomassa DEPM e quella acustica (t) di acciuga nel Canale di Sicilia, dal 1998 al 2001 e dal 2005 al 2009. In arancio i campionamenti acustici effettuati in un periodo dell'anno differente da quello in cui è stato effettuato il campionamento per le stime di B.

III.3.3. Le stime di *sensitivity* dei parametri riproduttivi

Infine sono state valutate l'importanza relativa di ciascun parametro all'interno delle stime di biomassa DEPM e la sensibilità della stima finale alle variazioni di ognuno degli elementi di input. In questa fase sono stati considerati tutti i dati a disposizione a partire dal 1998. Nelle stime di sensibilità, non sono state prese in considerazione la A e la F. La prima perché la sua variabilità è già indirettamente considerata poiché insita nelle stime di P; la seconda in quanto ottenuta da W per l'intero periodo analizzato, eccetto il 2001.

Entrambi gli indici (I_i ed S_i) danno informazioni interessanti. In generale si può dire che anno per anno l'importanza dei parametri considerati varia anche in maniera consistente, indicando che non necessariamente lo stesso parametro è sempre importante nella variabilità della stima finale di biomassa.

In particolare, I_i mostra fra le variabili analizzate che quelle con maggiore importanza sono la produzione giornaliera di uova e la frazione deponente, che in anni differenti mostrano valori mediamente più elevati delle altre variabili (fig. III.12). In altri termini si può dire che principalmente la variabilità nei parametri P e S determina l'incertezza nella stima finale della biomassa. Inoltre si nota come la stima del 2008 sia particolarmente influenzata dalla P mentre il 1998 ed il 2009 risentono principalmente dell'importanza di S.

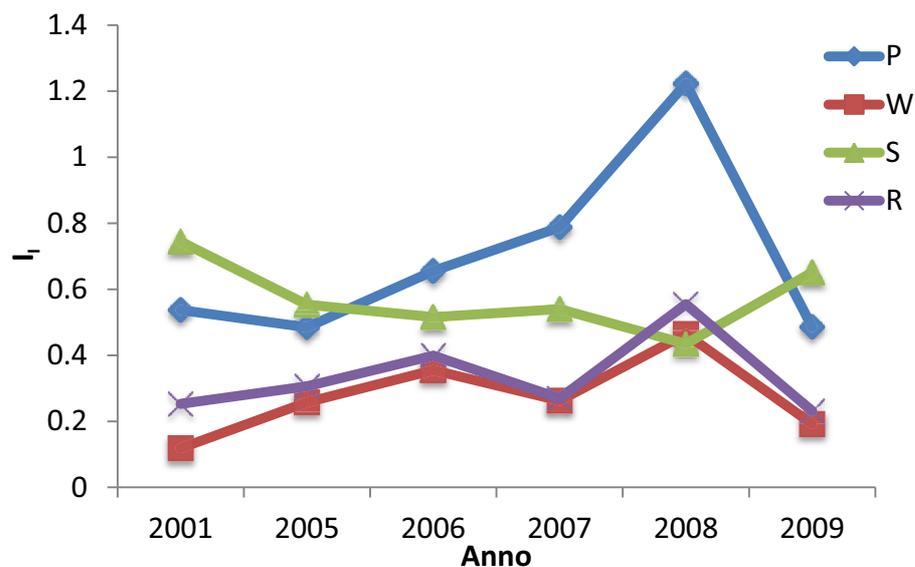


Fig. III.12. Indici di importanza (I_i) calcolati a partire dai coefficienti di variazione delle stime di biomassa DEPM delle acciughe.

Similmente gli indici di sensibilità (fig. III.13) mostrano come la variabilità nella biomassa sia dovuta principalmente alla sensibilità di S e P, eccetto per il 2008 dove l'indice di sensibilità di S è confrontabile con quelli di R e W. Anche questo indice evidenzia che un'incertezza della stima della frazione deponente e della produzione di uova si traduce in una maggiore

variabilità della stima finale, ma anche che questi due parametri forniscono un contributo fondamentale per la determinazione della biomassa riproduttiva.

Quando la stima di alcuni parametri risulta incerta o meno precisa, non si può dunque essere sicuri di ottenere una stima di biomassa ragionevolmente accurata.

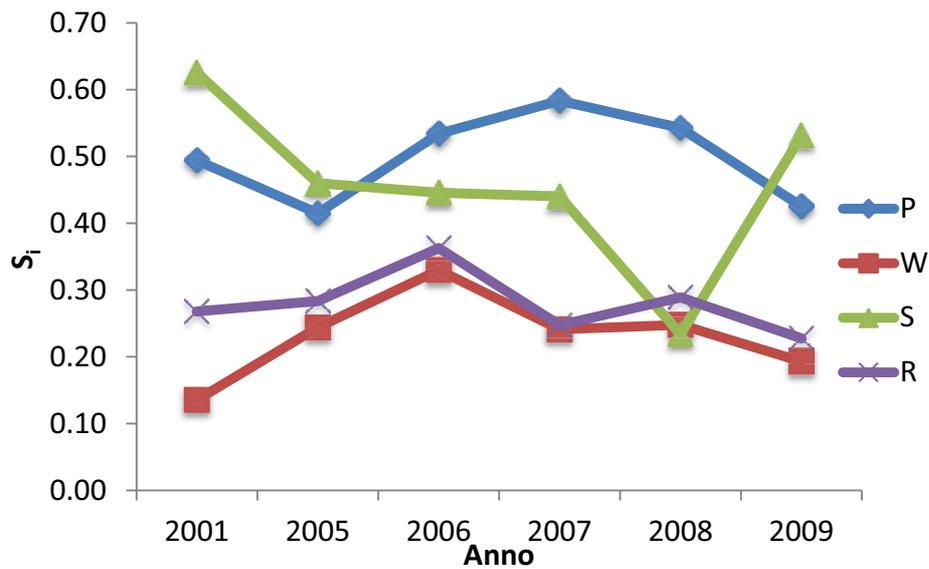


Fig. III. 13. Indici di sensibilità (S_i) per le stime di biomassa DEPM delle acciughe.

Aggiungendo e sottraendo i valori della σ^2 al valore del singolo parametro e ricalcolando la biomassa per ognuno dei suddetti casi si ottiene il grafico riportato in figura III.14. Nel periodo esaminato la biomassa varia essenzialmente attorno a due differenti livelli uno a 13000 t ed uno a 4000 t. La variabilità della biomassa in base alla deviazione standard dei singoli parametri mostra come i livelli più alti siano proprio in corrispondenza delle stime più alte di biomassa. Nel 2001, 2005 e 2009, si nota come il parametro che determina la maggiore variabilità nella biomassa sia la frazione deponente (fig. III.12). Negli stessi anni anche la produzione di uova influisce significativamente sulle variabilità della biomassa anche se in minor misura.

I risultati ottenuti da queste stime confermano quanto già osservato considerando la variabilità della biomassa e dei suoi singoli parametri. Gli esiti derivati dalle stime di biomassa e, in particolare, quelli relativi alla varianza della stima appaiono particolarmente influenzati da P ed S che sono i parametri per i quali sono state calcolati i CV maggiori per quasi tutti gli anni. D'altra parte, come noto anche da letteratura, tali parametri risultano quelli più difficili da ottenere con elevati standard di accuratezza (Somarakis *et al.*, 2006; Murua *et al.*, 2010; Lo *et al.*, 2011).

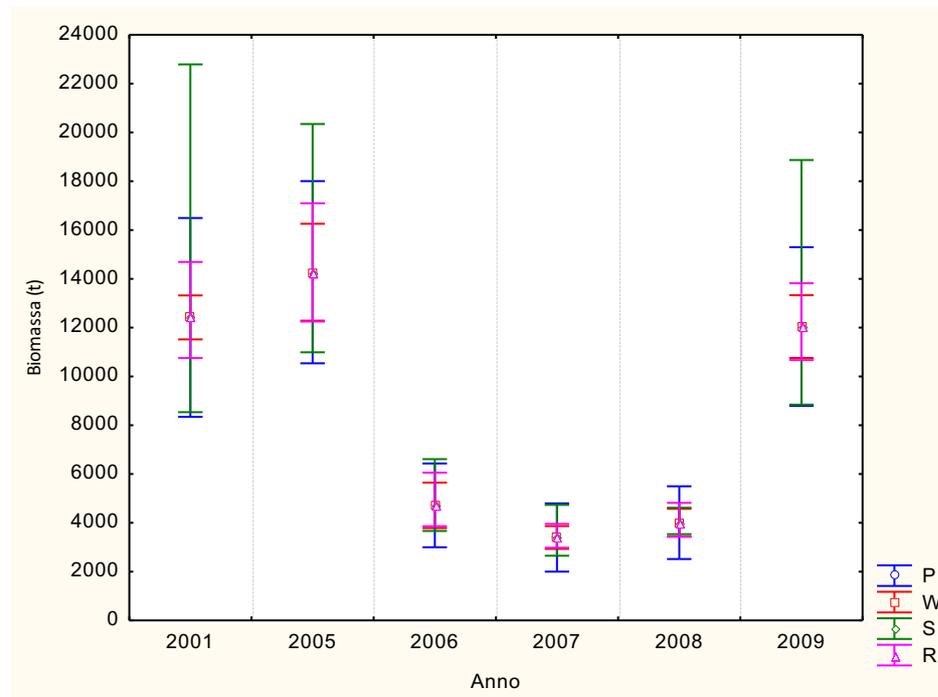


Fig. III. 14. Variazioni di biomassa DEPM delle acciughe calcolate aumentando o diminuendo ciascun parametro della sua stessa deviazione standard, per gli anni dal 2001 al 2009.

CAPITOLO IV

Validazioni delle stime di frazione deponente attraverso l'applicazione di metodi stereometrici per la datazione dei follicoli post-ovulatori

IV. 1. INTRODUZIONE

I follicoli sono dei tessuti gonadici di sostegno e nutrizione per gli oociti (fig. I.6). Quando gli oociti vengono emessi nel lume dell'ovario (ovulazione), i residui cellulari delle strutture di sostegno rimangono all'interno della gonade. Inizialmente i follicoli postovulatori (POF) si presentano come strutture distinte, ma subiscono una rapida degenerazione fino a diventare difficilmente individuabili e riconoscibili (Hunter e Goldberg, 1980). La presenza di POF all'interno di un ovario può essere osservata per alcune ore o pochi giorni dopo la deposizione e il loro riassorbimento ha una velocità che è specie-specifica e fortemente influenzata dalla temperatura dell'ambiente (Hunter e Goldberg, 1980; Hunter e Macewicz, 1980 e 1985; Saidapur, 1982; Ganas *et al.*, 2003; Alday *et al.*, 2008).

Tra i parametri relativi agli adulti, la frazione deponente (S) è probabilmente quello più importante e, allo stesso tempo, il più difficile da ottenere (Stratoudakis *et al.*, 2006), perché richiede tempo e costose analisi istologiche. Generalmente la S viene stimata dalla percentuale di femmine mature che appartengono ad una riconoscibile classe giornaliera di deposizione (Hunter e Macewicz, 1985). In alternativa, può essere ottenuta dalla porzione di femmine mature in condizione di pre-deposizione imminente (idratazione) (Dickerson *et al.*, 1992; Priede e Watson, 1993; Lowerre-Barbieri *et al.*, 1996; Zeldis e Francis, 1998; Yamada *et al.*, 1998; Yoneda *et al.*, 2002; McBride *et al.*, 2002; Roumillat e Brouwer, 2004). Tuttavia questo metodo è poco applicabile ai piccoli pelagici, poiché le femmine in tale avanzato stadio di maturità risultano spesso sovracampionate per via delle abitudini comportamentali

della specie, che inducono le acciughe prossime alla deposizione ad allontanarsi dal resto del banco (Ganias, 2008). Il metodo dei follicoli postovulatori è stato introdotto da Hunter e Goldberg (1985) negli anni '80 e rimane il metodo più popolare per la stima della frazione deponente nelle popolazioni dei pesci a deposizione multipla. Durante gli ultimi 30 anni il metodo è stato applicato a più di 50 stock in quasi tutti i mari del mondo. Sebbene il metodo sia stato proposto per *Engraulis mordax*, è stato utilizzato per numerose altre specie (una review in Ganias, 2011). A dispetto della sua elevata diffusione, il metodo può risultare piuttosto poco accurato quando i suoi criteri sono applicati ad altre specie o popolazioni, senza una validazione preventiva. Esso può essere affetto da quattro tipi di errore relativi alla stadiazione dei POF, alla datazione dei POF, al campionamento e alla stima della frazione deponente (Ganias, 2011).

Il metodo ideale per assegnare l'esatta durata a ciascuna classe di follicoli è quello che richiede esperimenti in mesocosmo, per mezzo dell'induzione della deposizione nei pesci maturi sotto condizioni ambientali conosciute e campionando ad intervalli di tempo regolari dopo la deposizione (Hunter e Goldner, 1980; Pérez *et al.*, 1992; Fitzhugh e Hettler, 1995; Alday *et al.*, 2008). Tuttavia risultati soddisfacenti sono stati forniti anche da un altro metodo di datazione. In questo caso una serie di campioni provenienti da popolazioni a mare viene esaminato in relazione all'ora di cattura e al momento del picco di deposizione (Goldberg *et al.*, 1984; Macewicz *et al.*, 1996; Ganias *et al.*, 2003). Un requisito fondamentale per l'applicazione di questo secondo metodo è che la popolazione mostri sincronismo nella deposizione giornaliera, manifestazione comune nei depositori multipli (Ganias, 2008).

Finora sono stati condotti studi su acciuga del Nord (*Engraulis mordax*, Hunter e Macewicz, 1985), acciuga giapponese (*Engraulis japonicus*; Funamoto e Aoki, 2002) e peruviana (*Engraulis rigens*; Alheit *et al.*, 1984) e anche sull'acciuga europea nel Golfo di Biscaglia (*Engraulis encrasicolus*; Motos, 1994; Alday *et al.*, 2008), solo per citarne alcuni. Le ricerche condotte sono relative a regimi di temperatura inferiori a quelli del Mar Mediterraneo nel periodo del picco riproduttivo (luglio – agosto) della specie. È probabile che i criteri utilizzati fino a questo momento per datare i POF delle acciughe nel Mediterraneo e quindi nelle

acque siciliane non siano quelli più appropriati, dal momento che si sono mutuati quelli stabiliti per gli Oceani Pacifico e Atlantico e quindi per temperature ben più basse di quelle del *Mare Nostrum*. D'estate, durante la stagione riproduttiva dell'acciuga, si registrano temperature superficiali medie intorno ai 25°C, con punte superiori ai 28°C. Lungo la colonna d'acqua, invece, durante gli ultimi anni, nel periodo riproduttivo dell'acciuga, ci sono state temperature comprese tra i 16° e i 24°C.

Al fine di ottenere corrette valutazioni della biomassa deponente, risulta di fondamentale importanza conoscere la velocità di riassorbimento dei POF alle temperature dell'area in cui la popolazione target si riproduce. Alcuni studi hanno dimostrato che una sottostima del tasso di riassorbimento dei follicoli produce misure di frazione deponente più basse di quelle reali (Uriarte *et al.*, 2011). Nell'applicazione del DEPM la variabilità di alcuni parametri può determinare ampie oscillazioni nelle stime finali di biomassa (cfr. par. III.3.3) per cui, ad esempio, una sottostima della frazione deponente comporta una sovrastima della biomassa. Inoltre, nell'ottica degli studi sulla biologia riproduttiva di una specie non si può trascurare che accurate determinazioni della S permettano una più attenta definizione del potenziale riproduttivo e delle dinamiche che ne determinano la variabilità.

Obiettivo di questa fase del lavoro è stato quello di definire la velocità di riassorbimento dei follicoli postovulatori alle temperature dello Stretto di Sicilia durante la stagione di riproduzione della alici. Successivamente è stato valutato l'effetto che sistemi differenti di datazione dei POF possono avere sulla valutazione della frazione deponente e della biomassa dello stock.

IV. 2. MATERIALI E METODI

IV.2.1. Datazione dei follicoli post-ovulatori mediante stereometria

I Campioni di gonadi femminili di *Engraulis encrasicolus* utilizzati per questo lavoro sono stati raccolti durante le campagne del 2007 e 2008, sia a bordo di navi da ricerca che da imbarcazioni commerciali, così come descritto nel paragrafo II.2.1. Le sezioni istologiche di questi 2 anni sono state preparate ed interpretate durante un periodo di stage in Spagna, presso l'*Instituto de Investigaciones Marinas (IIM) del Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (CSIC)* di Vigo, grazie ad una borsa di studio per una *Short Term Scientific Mission* ottenuta all'interno del Programma FRESH (Fish reproduction and Fisheries) *COST action finanziata dalla European Science Foundation*.

L'interpretazione e le misure stereometriche sono state effettuate con un sistema di analisi d'immagine costituito da una fotocamera digitale ed un microscopio LEICA collegati ad un computer con un software per l'analisi d'immagine (AnalySIS 3.2© Soft Imaging System GmbH). Mediante questo sistema, sono state acquisite n°471 immagini a partire da n°32 sezioni sottili di gonadi. Successivamente alle immagini veniva sovrapposto un reticolo quadrato, al fine di delimitare l'area che volta per volta doveva essere investigata (fig. IV.1). Per convenzione, questo riquadro possiede il lato superiore e sinistro di colore verde mentre quello inferiore e destro sono rossi, ad indicare che gli oociti che si trovano in corrispondenza di questi ultimi due lati non vanno considerati come facenti parte di quella area. Essi, invece, verranno contati nel riquadro successivo, il cui perimetro inizierà laddove si chiudeva il precedente (margini destro e inferiore). Di ciascun oocita maturo all'interno del quadrato veniva presa la misura del raggio minore, passando per il nucleo (fig. IV.1).

I campioni sono stati divisi in 4 gruppi (senza POF, con POF 0, con POF 1 e con POF 2) e a ciascuno è stata assegnata una misura media di diametro. Lo scopo era quello di confermare che si manifesti un aumento delle dimensioni medie degli oociti con l'approssimarsi degli eventi di deposizione e correlare questo andamento all'età dei follicoli postovulatori, al fine

di migliorare le stime di durata degli stessi. I campioni senza POF sono stati utilizzati per avere delle misure di riferimento.

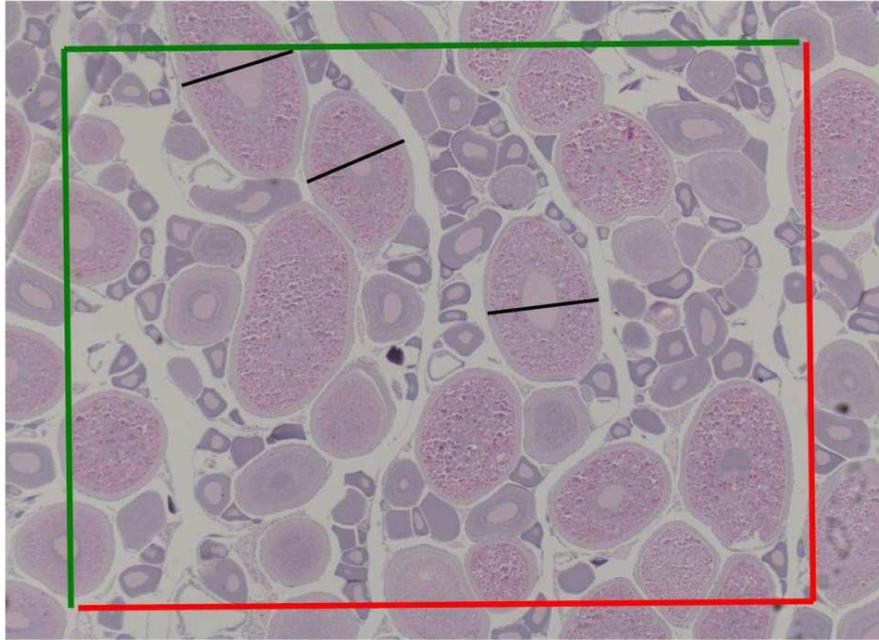


Fig. IV.1. Esempio del riquadro sovrapposto alla sezione dell'ovario per effettuare la misurazione e delle misure di diametro effettuate passando per il nucleo.

Contemporaneamente, è stato effettuato il riconoscimento dei follicoli postovulatori. I POF sono stati stadiati in base alle caratteristiche morfologiche, secondo quanto descritto in ICES (2004):

- POF 0: all'inizio, quando la deposizione è ancora in corso, non ci sono segni evidenti di degenerazione. Le cellule della granulosa appaiono allungate. Conclusa la liberazione delle cellule uovo, la struttura follicolare appare strettamente ripiegata con forma irregolare e ampio lume. La granulosa ha cellule cubiche o filiformi ordinate e i nuclei delle pareti cellulari sono prominenti. Le dimensioni del POF sono grandi e cominciano ad apparire piccoli vacuoli (fig. IV.2a).

- POF 1: dall'aspetto più rinsecchito e con un minor numero di pieghe. I vacuoli sono più grandi e numerosi. Le cellule della granulosa subiscono modificazioni morfologiche e le pareti cellulari cominciano a rompersi. Il lume è più piccolo e può contenere materiale granulare. Le cellule non sono più disposte ordinatamente, sebbene qualche pattern di disposizione sia riconoscibile. Lo strato sottostante di cellule della teca è ancora presente ma poco distinguibile (fig. IV.2b).
- POF 2 e >2: la grandezza si riduce da $\frac{1}{2}$ a $\frac{1}{4}$ delle dimensioni originali. La teca è indistinguibile; le pareti cellulari della granulosa sono ormai assenti e i nuclei pochi. La loro incidenza è bassa sia per la riduzione delle loro dimensioni che per l'aumento di quelle degli ovociti circostanti, che si accrescono avvicinandosi al successivo evento di deposizione. Quest'ultimo stadio di degenerazione dei follicoli è facilmente confondibile con gli stadi atresici più vecchi (fig. IV.2c).

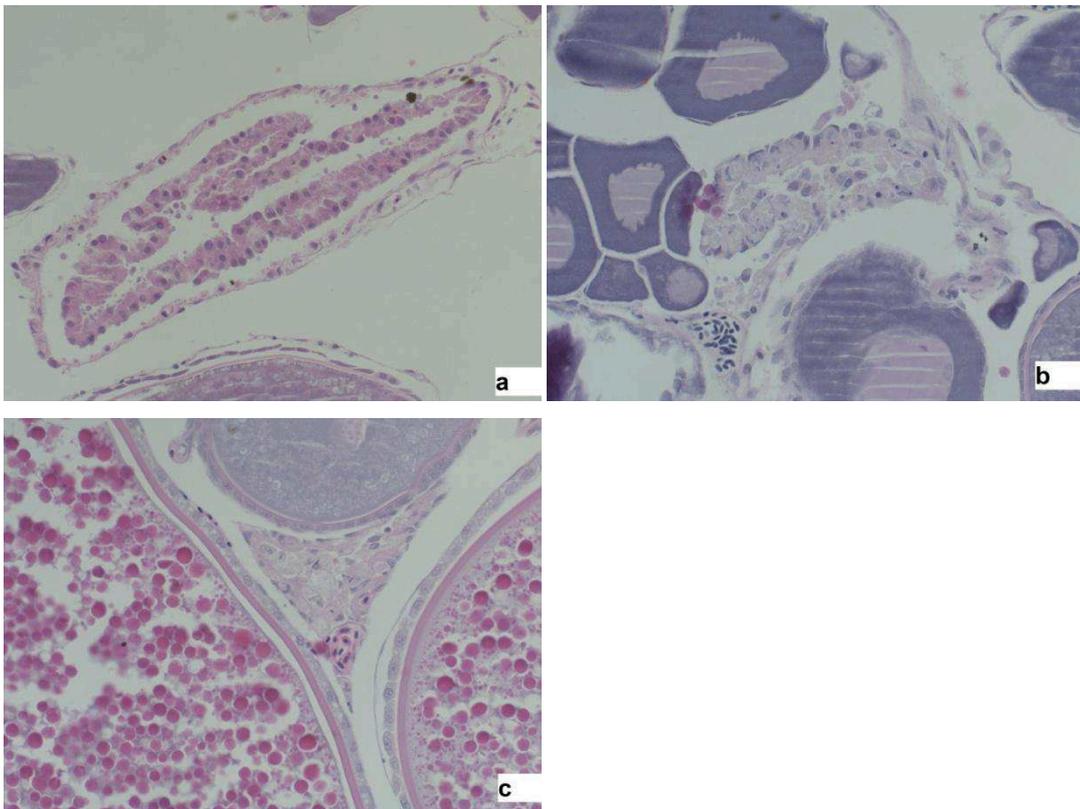


Fig. IV. 2. Le tre fasi di riassorbimento dei follicoli post-ovulatori.

La velocità di riassorbimento dei follicoli è stata stimata anche con un secondo metodo, tenendo in considerazione il fatto che il picco di riproduzione si verifichi intorno alle 22:00 (si veda. par. III.3.1). A tale scopo sono state utilizzate solo cale notturne e consecutive e con una percentuale decrescente di POF della stessa età. In particolare, 2 cale per i POF 0 e 2 per i POF 1: le uniche corrispondenti alle condizioni necessarie. Nessuna cale con caratteristiche opportune è stata trovata per i POF 2.

Pur non trascurando le limitazioni legate al fatto di avere solo 2 punti per i POF 0 e 2 per i POF1, i dati di abbondanza sono stati plottati con l'orario della cattura e la regressione lineare ottenuta ha fornito un'equazione che ha permesso di calcolare la velocità di riassorbimento dei follicoli.

Per i POF 0: $y = -19.156x + 53.312$;

Per i POF 1: $y = -17.743x + 198.34$;

Dove: x = età e y = % di riassorbimento.

Per ciascuno dei due metodi l'età è stata misurata come differenza tra l'orario di campionamento e l'ora del giorno in cui si verifica il picco di riproduzione (intorno alle 22:00; si veda par. III.3.1).

IV.2.2. Rivalutazione delle stime di frazione deponente

La *spawning fraction* è la frazione di femmine mature che depongono per giorno, determinabile attraverso un'analisi istologica dei follicoli post-ovulatori (Hunter *et al.*, 1985). Essa viene calcolata utilizzando l'equazione riportata nel paragrafo III.2. e andrebbe stimata dal numero di femmine classificate come "day0", cioè quelle che mostrano evidenti segni di deposizione in atto (idratate) o appena conclusa al momento della cattura (POF 0). Tuttavia, i POF 0 risultano spesso sotto- o sovra-campionati rispetto agli altri stadi. In passato, evidenze di tale sovrastima sono state mostrate per l'area di studio in Mazzola *et al.* (2000). Le

femmine POF 0, dunque, dovrebbero essere escluse dalla stima e la proporzione di femmine deponenti al giorno e per pescata viene determinata dalle altre classi di POF, tenendo conto del principio di rappresentatività di ciascuna classe di POF, valutato in base alla distribuzione d'abbondanza di POF 0, 1 e 2 (Hunter e Goldberg, 1980; Piquelle e Stauffer, 1985).

Per gli anni dal 1998 al 2001 e dal 2005 al 2006, sono state ricalcolate S e B (par. III.2). La S questa volta è stata stimata accorpendo le due classi più giovani di POF (0 e 1), entrambe presenti nelle prime 24 ore dopo la deposizione. I nuovi valori di S sono stati adoperati per effettuare nuove stime di biomassa.

I due valori di S e di B ottenuti sono stati confrontati. In particolare, sono state calcolate sia la variazione assoluta, come differenza tra i valori ottenuti col primo e col secondo metodo, che la relativa, come percentuale di variazione tra le due misure.

IV.2.3. I dati di temperatura

Al fine di associare le velocità di degradazione follicolare a precisi range di temperatura in mare si sono ottenuti i valori in corrispondenza delle pescate relative al campionamento utilizzato per la datazione dei POF. In particolare durante le campagne oceanografiche si è provveduto anche alla misurazione della temperatura d'acqua sia superficiale che lungo la colonna attraverso l'uso di una sonda CTD con sensori anche per la fluorescenza e l'ossigeno. La sonda viene calata a un ritmo pressoché costante di 50 m/min e i dati vengono registrati sia in discesa che in salita, ma solo i dati campionati durante la fase discendente sono stati elaborati. Per le catture commerciali, non avendo a disposizione misure dirette della temperatura dell'acqua marina, le informazioni relative alla superficie sono state ottenute da immagini via satellite scattate dai satelliti NOAA AVHRR (<http://eoweb.dlr.de:8080/servlets/template/welcome/entryPage.vm>).

Queste immagini (fig. IV.3) sono rese disponibili attraverso il sito web EOWEB come immagini con valori in scala di grigi (da 0 a 255, impostando come 0 la Terra e 255 le nuvole)

e riportano la temperatura superficiale con una risoluzione per pixel di circa 1 km. Le foto analizzate sono giornaliere e coprono tutto il Mediterraneo. I valori di SST sono stati determinati dalle immagini elaborandole attraverso un'applicazione del software MATLAB®. La temperatura in colonna d'acqua è stata ottenuta da una regressione lineare tra la temperatura superficiale al momento della cala e le temperature in colonna d'acqua misurate, nello stesso periodo, durante le campagne oceanografiche (fig. IV.4).

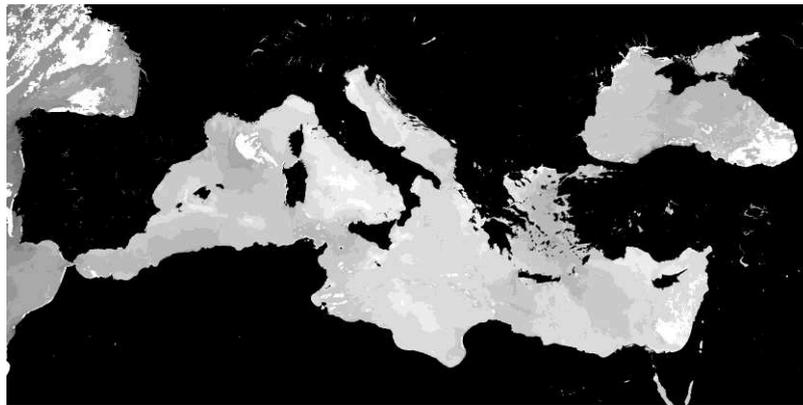


Fig. IV.3. Un esempio delle immagini scaricate dal sito EOWEB ed utilizzate per ricavare i valori di temperatura superficiale delle acque.

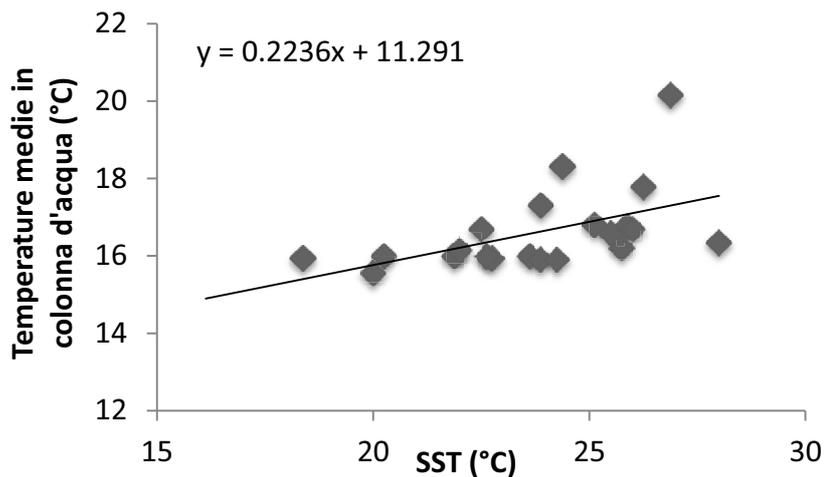


Fig. IV.4. Regressione tra temperatura media misurata in colonna d'acqua e temperature superficiali (SST).

IV.3. RISULTATI E DISCUSSIONI

IV.3.1. Stima della durata dei POF

L'età dei POF e il diametro degli oociti sono stati analizzati in relazione all'ora della cattura per valutare i cambiamenti morfologici e morfometrici nell'arco delle 24 ore (figg. IV.5 e IV.6).

In relazione alla stadiazione morfologica dei follicoli sono state individuate tre categorie differenti di POF, le cui caratteristiche d'aspetto e dimensioni confermano le progressive fasi di riassorbimento (fig. IV.2); ovvero non è stato individuato nessun follicolo con caratteristiche riconducibili ad una categoria più vecchia dei POF 2 e definita dalla letteratura come POF 3 o POF>2 (ICES, 2004).

In figura IV.5 è rappresentato l'andamento nelle variazioni diametriche degli oociti vitellogenici per ovari sia con POF che senza.

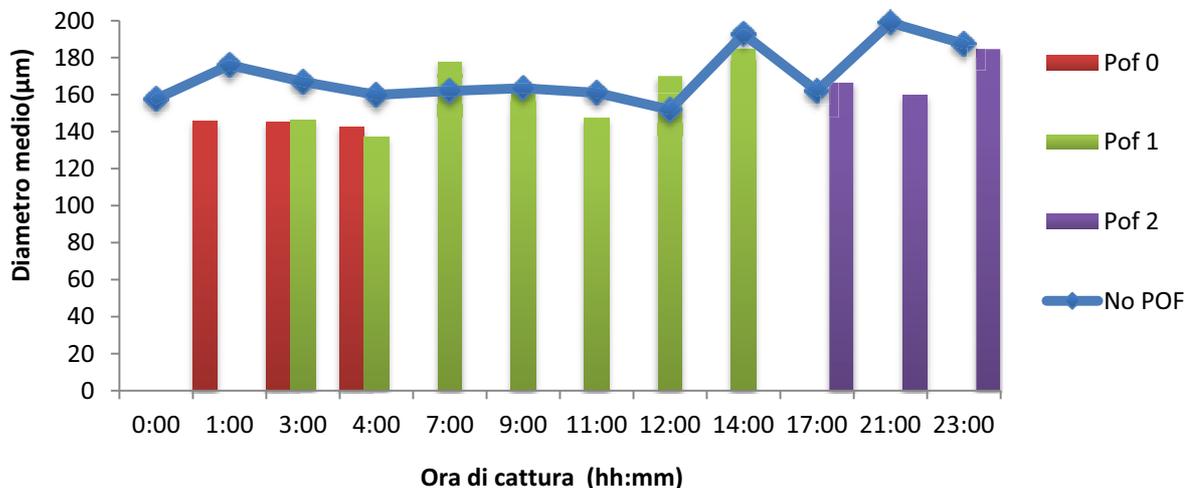


Fig. IV.5. Distribuzione del diametro medio degli oociti in ovari con differenti classi di età dei POF (POF 0, POF 1 e POF 2) e senza POF (No POF) in relazione all'orario di cattura.

I POF 0 sono presenti sino alle 4:00 indicando un'età minima di circa 4-6 ore in relazione al picco di deposizione giornaliero stimato nella sezione III.3.1 (22:00-24:00). I POF 1

compaiono già all'1:00 ma sono più abbondanti dalle 4:00 fino alle 12:00, indicando un'età minima di 12-14 ore; infine i POF 2 sono stati registrati dalle 17:00 in poi suggerendo un'età minima di 19-22 ore (figg. IV.5 e IV.6).

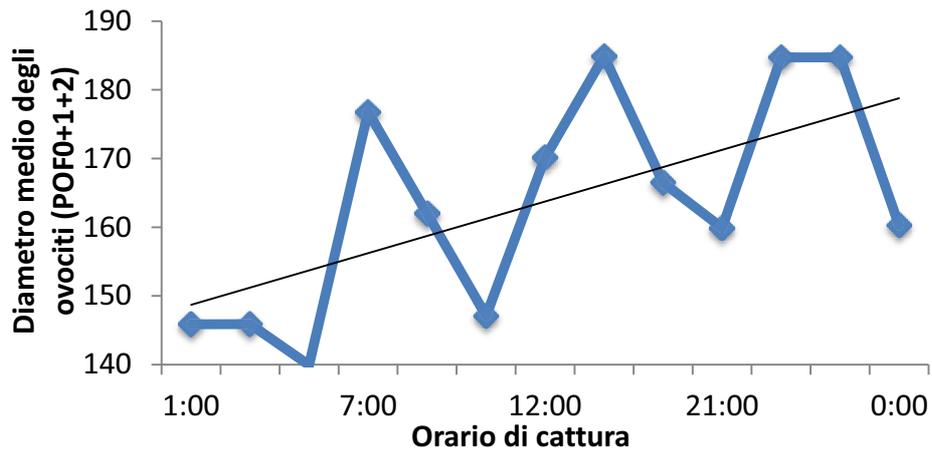


Fig. IV.6. Distribuzione del diametro medio (μm) degli ovociti in ovari con differenti classi di età dei POF (POF 0, POF 1 e POF 2) in relazione all'orario di cattura.

Per quanto riguarda le prime due classi di follicoli (POF 0 e 1), vi è una netta separazione tra i gruppi dimensionali delle uova all'interno delle gonadi (fig. IV.7): $147(\pm 8) \mu\text{m}$ e $167(\pm 9) \mu\text{m}$, rispettivamente. Al contrario, tra le ultime due classi di follicoli postovulatori (1 e 2) vi è una parziale sovrapposizione, che non permette una distinzione netta e sicura fra le due (fig. IV.7): il diametro medio degli ovociti nelle gonadi con l'ultima classe di follicoli è $172(\pm 12) \mu\text{m}$. Le misurazioni del diametro degli ovociti si sono confermate come un buon indicatore dei POF 0, almeno quando l'intento dello studio condotto è quello di definire le classi dimensionali dei diametri degli ovociti durante ciascuna fase di riassorbimento dei POF.

La valutazione della durata dei follicoli effettuata con il secondo metodo ha consentito di ottenere il tasso di riassorbimento orario per le cale consecutive e alle temperature registrate: due per i POF 0 e due per i POF 1. Per i POF 0 è stato del 19% ad una temperatura media della colonna d'acqua di 16.7°C e per i POF 1 del 17% a 16.3°C .

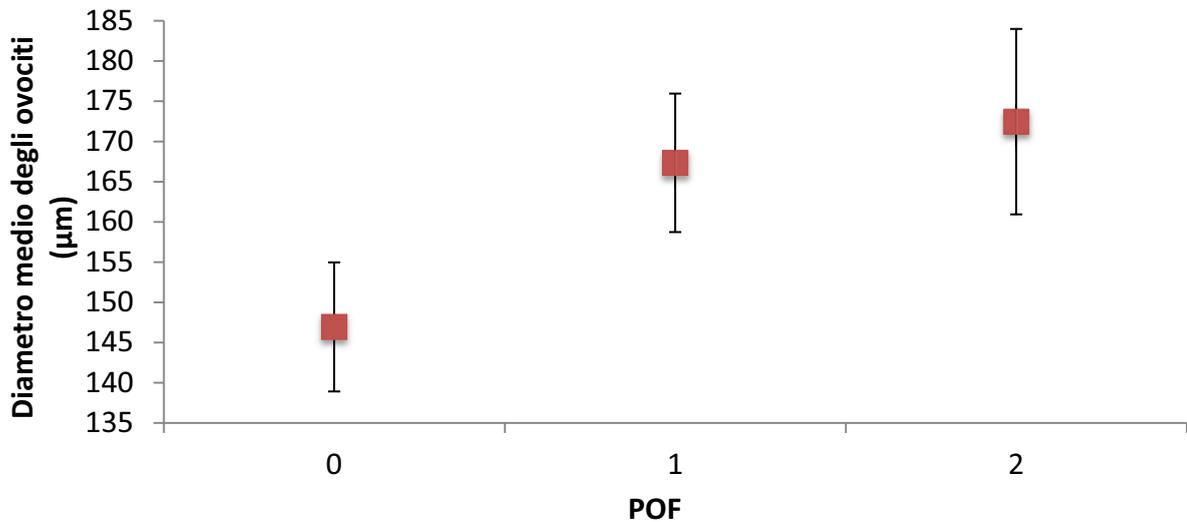


Fig. IV.7. Diametro medio degli ovociti in ovari con POF di differenti classi di età (POF 0, 1 e 2).

Per effettuare un confronto finale fra i due metodi sopra citati, i risultati di entrambi sono stati riportati in tabella IV.1. Si può notare come la durata dei POF 0 nel primo metodo (4-6 h) è coincidente con quella ottenuta con il secondo (5 h). Mentre per i POF 1 è stata registrata una durata di 12-14 h nel primo metodo e 11 h nel secondo (5h per la degradazione sino a POF 1 + circa 6 h per la degradazione sino a POF 2). Purtroppo la scarsa abbondanza dei POF 2 non ha permesso di fare una stima della durata anche di questa classe, futuri ulteriori dati sono necessari per approfondire questi risultati.

Questi risultati, anche se preliminari, sono incoraggianti per l'applicazione di queste tecniche di indagine per la determinazione della velocità di riassorbimento dei POF. Il riassorbimento dei POF, nel campo di temperatura osservato (16-24°C), risulta avere una durata inferiore alle 48 ore, non essendo riscontrata la presenza di POF>2 .

Il confronto tra POF appartenenti a differenti specie mostra che le principali caratteristiche morfologiche in gran parte si sovrappongono (Ganias, 2011). Gli errori maggiori si verificano, dunque, in fase di datazione piuttosto che di stadiazione. La più popolare delle chiavi per la datazione dei follicoli (Hunter e Macewicz, 1985) è stata applicata ad un'ampia varietà di

clupeidi e non solo. Tuttavia il tasso di riassorbimento è caratterizzato da un'elevata variabilità interspecifica: da meno di un giorno nel caso di *Katsuwonus pelamis* (Hunter *et al.*, 1986) fino addirittura ad alcuni mesi nel caso di *Gadus morhua* (Saborido-Rey e Junquera, 1998). La più probabile causa di tale variabilità è la differenza interspecifica del ritmo metabolico.

Tab. IV.1. Confronto tra la durata (hh.mm) di ciascuna classe di POF misurata utilizzando il diametro medio degli oociti (metodo 1, M1) e la regressione tra due cale notturne consecutive con diminuzione della percentuale di POF della stessa classe (metodo 2, M2). Vengono riportati anche il numero di esemplari (#) sui quali è stata effettuata la misura, la temperatura media superficiale (SST) e quella in colonna d'acqua (T in c.a.) al momento della cattura dei campioni.

	ORA	#	Temperatura (°C)		Velocità di riassorbimento dei POF	
			SST media	T media in c. a.	M 1	M 2
POF 0	12.00 PM	1	24,3	16	04.00- 6.00	05.26
	1.00 AM	5				
	3.00 AM	2				
	4.00 AM	5				
POF 1	3.00 AM	3	22,5	18,9	12.00-14.00	5.26+5.88=11.14
	4.00 AM	2				
	7.00 AM	16				
	9.00 AM	3				
	11.00AM	16				
	12.00 PM	5				
	2.00 PM	34				
	5.00 PM	4				
11.00 PM	2					
POF 2	2.00 PM	1	22	18,4	19.00-22.00	-
	5.00 PM	2				
	9.00 PM	1				
	11.00 PM	1				

Per quanto riguarda i fattori esogeni, è stato dimostrato che nel caso di *Brevoortia tyrannus* un aumento della temperatura dell'acqua di 5°C corrisponde ad una riduzione di circa 24h del tempo necessario per il riassorbimento totale dei POF (Fitzhugh e Hettler, 1995). D'altro

canto, nel caso della sardina è stato osservato che una variazione di temperatura della stessa entità si traduce al massimo in 8h di differenza nel processo di degenerazione (Ganias *et al.*, 2007). La durata dei POF all'interno di un ovario risulta quindi fortemente influenzata dalla temperatura, ma le testimonianze presenti in letteratura sulla velocità di riassorbimento dei follicoli sono quasi esclusivamente relative a temperature inferiori a quelle registrate nello Stretto di Sicilia, durante la stagione di deposizione dell'acciuga (Hunter e Macewicz, 1985; Fitzhugh e Hettler, 1995; Alday *et al.*, 2008). Questi risultati rappresentano la prima evidenza che i POF nelle acciughe delle acque siciliane hanno una vita più breve di quella riportata in letteratura ed in passato utilizzata anche per la nostra specie. Inoltre confermano l'importanza di validare il metodo dei follicoli post ovulatori, quando applicato ad una specie o in un ambiente differente da quelli per cui è stato sviluppato (Uriarte *et al.*, 2011; Ganias, 2011).

IV.3.2. Rivalutazione delle stime di frazione deponente e biomassa

Al fine di valutare l'effetto che le differenze nei metodi di datazione dei POF hanno sulla stima della frazione deponente e della biomassa dello stock, si è ritenuto opportuno effettuare un confronto tra le stime di S e di B effettuate negli anni precedenti a questa ricerca, utilizzando i due differenti sistemi di datazione dei follicoli.

Le stime di frazione deponente, effettuate utilizzando il metodo tradizionale e basandosi sul principio della rappresentatività dei POF sono state affiancate da nuove stime, in cui la S è stata calcolata accorpare il numero di POF 0 e 1, ovvero dal totale di follicoli presenti nelle prime 24 h dopo la deposizione.

Le nuove stime di S hanno determinato variazioni anche piuttosto elevate tra i due metodi, come chiaramente visibile dal grafico in fig. IV.8 e dalle tabb. IV.2 e IV.3.

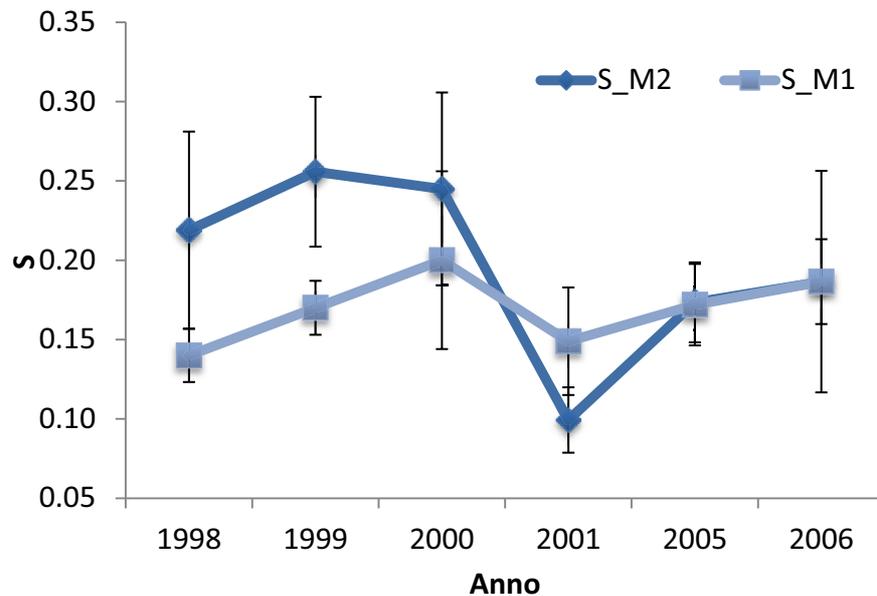


Fig. IV.8. Variazioni nelle stime di frazione deponente (S) calcolate con il vecchio ed il nuovo metodo di stima.

Tab. IV.2. Stime di frazione deponente (S) e biomassa (B, in t) ottenute a partire dai due differenti metodi di datazione dei POF (M1: metodo tradizionale; M2: somma POF0+POF1). I coefficienti di variazione (CV) sono stati ottenuti utilizzando la metodologia in sezione III.2.3.

Anno	S_M1	CV	S_M2	CV	B_M1	CV	B_M2	CV
1998	0.14	0.12	0.21	0.21	13224	0.22	8714	0.48
1999	0.17	0.10	0.22	0.22	3010	0.36	2377	0.44
2000	0.20	0.28	0.23	0.23	2851	0.46	2496	0.36
2001	0.15	0.23	0.10	0.05	12418	0.31	18627	0.51
2005	0.17	0.15	0.17	0.08	14271	0.27	14152	0.48
2006	0.19	0.14	0.19	0.08	4717	0.31	4717	0.49

Per il 2006 non sono state trovate differenze tra la S calcolata con il primo e il secondo metodo (tab. IV.3), dal momento che non è stato campionato alcun esemplare che contenesse POF 0 (tab. III.4). Similmente, per il 2005, le differenze sono solo alla terza cifra decimale (0.172 per il primo metodo e 0.173 con il secondo), perché è stato trovato un solo individuo con POF 0 (tab. III.4). Le variazioni maggiori di S si riscontrano nel 1998 e nel 2001 e si traducono nelle più alte variazioni dei valori di B: 52% nel 1998 e 33% nel 2001 (fig. IV.9;

tab. IV.4). Tale risultato conferma quanto già osservato con le stime della *sensitivity* (si veda paragrafo III.3.3), relativamente alla variabilità di B in relazione alla variabilità di S.

Tab. IV.3. Variazioni assolute e relative (in %) nelle stime di Biomassa deponente (B) in tonnellate e frazione deponente (S) calcolate con il vecchio ed il nuovo metodo di stima della S. Le variazioni sono in valore assoluto.

Anno	variazione assoluta di S	variazione relativa di S	variazione assoluta di B	variazione relativa di B
1998	0.07	34.36	4510	51.75
1999	0.05	21.75	633	26.61
2000	0.03	12.91	355	14.20
2001	0.05	50.00	6209	33.33
2005	0.00	0.83	119	0.84
2006	-	0.00	-	0.00

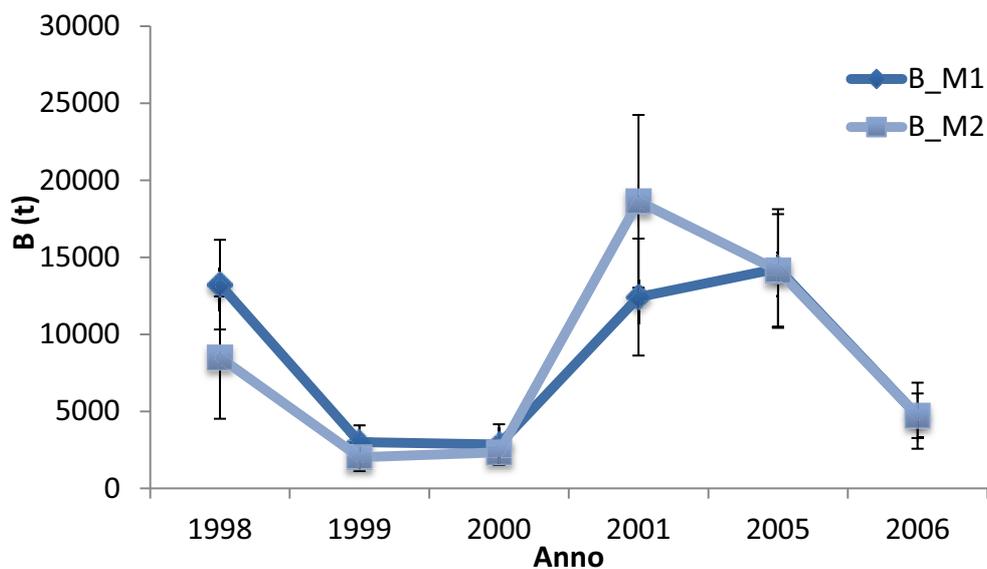


Fig. IV.9. Variazioni nelle stime di Biomassa deponente (B) calcolate con il vecchio (M1) ed il nuovo (M2) metodo di stima della S.

La frazione deponente è la proporzione di femmine mature nella popolazione che depongono le uova in un giorno e fra i parametri relativi agli adulti costituisce il più difficile da stimare per il DEPM (Hunter e Lo, 1997; Stratoudakis *et al.*, 2006; si veda anche par. III.3).

La conoscenza dettagliata della biologia riproduttiva della specie nell'area di studio su una serie temporale ampia può permettere di ottenere stime più accurate di questo parametro. Conoscere le abitudini comportamentali delle alici al momento della riproduzione può garantire un campionamento più appropriato e una riduzione degli errori dovuti al sovra- o sotto-campionamento di uno degli stadi di riassorbimento dei follicoli. Le stime di frazione deponente si basano sul numero di femmine che depongono in un giorno, ovvero quelle che all'esame istologico presentano evidenze di deposizione recente (day-0) al momento della cattura. Generalmente, per evitare di incorrere in errori da sovrastima o sottostima, si ricorre ad altre alternative che tendono a minimizzare la diversa rappresentatività delle classi d'età rispetto alla distribuzione giornaliera delle catture effettuate. Ad esempio, un metodo consiste nell'usare la media di POF 1 e POF 2 ovvero delle classi dei giorni successivi al primo. Questi stadi dovrebbero risultare equivalenti ai POF 0, dal momento che rappresentano una fase evolutiva degli stessi (Hunter e Macewicz, 1985; Somarakis *et al.*, 2004). D'altro canto, l'applicazione del metodo dei POF non può prescindere dal principio di rappresentatività, che propone una valutazione dell'abbondanza dei POF di ciascuna classe, prima che vengano effettuate le stime di frazione deponente (Hunter e Macewicz, 1985).

Alla luce di quanto evidenziato dallo studio sulla durata dei POF, alle nostre temperature sia i POF 0 che i POF 1 rientrano all'interno delle prime 24 ore dopo la deposizione, quindi entrambe queste due classi sono da considerarsi come una sola (POF0 + POF1) quando si stima la *S* nell'area di studio. Ma come già evidenziato nel paragrafo III.3.1. è stato campionato un numero ridotto di POF 0 e di femmine idratate. Questa caratteristica può essere legata a diverse ipotesi fra queste ricordiamo: la segregazione di parte della popolazione legata a comportamenti riproduttivi, ed in particolare vi sono evidenze, basate sulla variazione giornaliera nel rapporto sessi tra catture, che indicano come le femmine si separino dal banco alcune ore prima della riproduzione e vi facciano ritorno poche ore dopo (Ganias *et al.*, 2008); ma è anche legata alla distribuzione delle catture durante l'arco delle 24 h. Infatti, considerando che sia i fenomeni di idratazione che di riassorbimento dei POF 0

avvengono in poche ore, un campionamento non equamente distribuito nelle 24 h si traduce in informazioni non rappresentative della reale composizione della popolazione, soprattutto in relazione alle classi di maturità e alle fasi di degenerazione dei follicoli.

Il metodo tradizionale di datazione dei POF (Hunter e Macewicz, 1985; ICES, 2004), fino ad oggi ritenuto valido anche per il Mediterraneo, risulta in contrasto con l'evidenza che, alle temperature dello Stretto di Sicilia, sia i POF 0 che i POF 1 siano da considerarsi all'interno delle prime 24 h dopo la deposizione. Di contro, l'evidenza che il piano di campionamento utilizzato negli anni di studio non risulti sempre appropriato per il campionamento di femmine con POF 0, suggerisce che le stime effettuate non possano prescindere dalla valutazione aprioristica della distribuzione d'abbondanza dei POF.

La grande variabilità interannuale della biomassa è tipica dei piccoli pesci pelagici, come l'acciuga europea, tuttavia i nostri risultati hanno mostrato una variazione maggiore e, in alcuni anni, una diminuzione dell'abbondanza dello stock quando sono stati applicati i nuovi criteri di degenerazione dei POF. È interessante notare come l'effetto di tali rivalutazioni sulla variazione delle stime di B sia proporzionale all'abbondanza stessa, ovvero: la variazione è tanto più ampia quanto maggiore è l'abbondanza dello *stock* in quel determinato anno. D'altro canto, il 2001, uno degli anni in cui si nota la maggiore variazione nella stima quando si confrontano i due metodi di calcolo, è anche l'anno per il quale le analisi di *sensitivity* hanno mostrato la massima variabilità legata alla S (cfr. par.III.3). Questo potrebbe indicare che, in tale anno, la ridotta accuratezza attribuibile all'errata datazione dei POF si accompagnasse anche ad altri fattori d'errore nella determinazione della frazione deponente.

In ogni caso, le evidenze riscontrate, relativamente alla maggiore variabilità nelle stime di abbondanza, risultano importanti anche allo scopo di una gestione sostenibile della pesca, soprattutto in considerazione dei bassi valori di biomassa delle acciughe nello Stretto di Sicilia. Utilizzando il sistema sviluppato per l'Oceano Pacifico, il tasso di riassorbimento dei follicoli postovulatori è sovrastimato.

Un approfondimento delle conoscenze della biologia riproduttiva della specie target e del comportamento assunto al momento della deposizione può permettere un piano di monitoraggio più appropriato e una gestione dello stock più attenta.

CAPITOLO V

Studio del potenziale riproduttivo dell'acciuga in relazione ai parametri ambientali

V.1. INTRODUZIONE

Gli studi sul reclutamento dei pesci marini sono tradizionalmente focalizzati sulla crescita e la sopravvivenza dei primi stadi di sviluppo. Di contro, la relazione tra fecondità della popolazione adulta e reclutamento ha ricevuto scarsa attenzione. Questo può essere giustificato dalla difficoltà nel trovare una relazione tra biomassa deponente di uno stock ittico e il reclutamento (Rothschild, 1986). Tuttavia, in alcuni studi le stime di fecondità della popolazione si basano sulle conoscenze relative alla composizione dello stock deponente e sulla maniera in cui la fecondità risulta correlata alla taglia degli individui e alle loro condizioni fisiologiche (es. l'indice gonadosomatico, il fattore di condizione). Questo approccio ha permesso di stabilire forti vincoli tra la fecondità delle femmine adulte e il reclutamento (Trippel *et al.*, 1997; Marshall *et al.*, 1998 e 1999; Lambert *et al.*, 2003).

Nel corso degli ultimi anni, l'approfondimento delle conoscenze sulle caratteristiche biologiche degli stock e i fattori ambientali che determinano il reclutamento ha spostato l'attenzione dagli studi sulla Biomassa Deponente dello Stock (*Spawning Stock Biomass, SSB*) agli studi sul concetto di Potenziale Riproduttivo di uno Stock (*Stock Reproductive Potential, SRP*; Trippel, 1999). Esso rappresenta la variabilità annuale nella capacità di una popolazione di produrre, in un dato anno, uova e larve che siano in grado di sopravvivere sino al reclutamento (Thorsen e Kjesbu, 2001). Un siffatto concetto introduce anche l'importanza delle cure parentali per il reclutamento. Il potenziale riproduttivo risulta, infatti, influenzato dalle variazioni nella struttura di popolazione e di taglia degli individui, perché depositori più vecchi o di taglia maggiore hanno una fecondità relativa più elevata e una maggiore qualità delle uova. Inoltre la condizione degli individui permette di giustificare, almeno in parte, le

ampie fluttuazioni interannuali (Marshall *et al.*, 1998; Cardinale e Arrhenius, 2000; Lloret e Rätz, 2000; Yaragina e Marshall, 2000).

Nelle specie che, come l'acciuga, hanno fecondità indeterminata, struttura d'età della popolazione e distribuzione di taglia degli adulti risultano determinanti nel definire il potenziale riproduttivo (Murua e Motos, 2006). La frequenza della deposizione può dipendere dalla struttura d'età della popolazione o dall'abbondanza di cibo (Alheit, 1993; Hunter e Lo, 1997). La fecondità annuale per unità di biomassa parentale può risultare significativamente influenzata dallo stato nutrizionale e dalla distribuzione di taglia dello stock (Hunter e Leong, 1981). La fecondità è fortemente correlata con l'età e con la taglia dei riproduttori, suggerendo che la riduzione in composizione per età e una diminuzione della dimensione media degli adulti di uno stock indurrebbero un decremento di fecondità media per unità di biomassa e una riduzione della durata della stagione riproduttiva. Di conseguenza, la variabilità interannuale delle condizioni somatiche ed energetiche della popolazione o dei fattori ambientali può alterare notevolmente il potenziale riproduttivo dello stock ittico (Parrish *et al.*, 1986).

I fattori abiotici (temperatura, salinità, ecc.) influiscono notevolmente sulla fecondazione e sulla sopravvivenza dei primi stadi di vita (Van Leeuwen *et al.*, 1985). 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). Molto spesso alterazioni a livello di habitat ed ecosistema hanno fatto registrare variazioni nei livelli di produttività di una specie, da qui l'evidente necessità di un approccio ecosistemico per una gestione sostenibile delle risorse ittiche.

L'atresia è un processo di morte cellulare che si può manifestare a qualsiasi stadio di sviluppo degli ovociti. A differenza dei fenomeni apoptotici che interessano gli ovociti ancora immaturi (atresia pre-vitellogenica), i fenomeni di atresia follicolare, e particolarmente quelli che coinvolgono le uova in vitellogenesi avanzata, concorrono nella determinazione del potenziale riproduttivo (Murua *et al.*, 2003).

Nel caso di specie a fecondità determinata, la degenerazione programmata delle cellule uovo rappresenta un fenomeno fondamentale nella determinazione della fecondità reale. D'altra parte nelle specie a fecondità indeterminata e con deposizione multipla, se il campionamento viene effettuato durante l'apice della stagione riproduttiva, i fenomeni apoptotici sono normalmente ridotti rispetto ad altri periodi dell'anno e in generale trascurabili almeno per la determinazione di fecondità (Hunter e Macewicz, 1985). Le manifestazioni massive di questo fenomeno possono indicare la fine del periodo di riproduzione o forti situazioni di stress che hanno indotto un individuo, o un'intera popolazione, ad interrompere il processo generativo, con conseguente riduzione del potenziale riproduttivo dello stock (Kjesbu *et al.*, 1991; Palmer *et al.*, 1995). Per diverse specie e popolazioni ittiche è stato dimostrato come l'insorgere di fenomeni massivi di riassorbimento dell'ovario sono alla base di salti della stagione riproduttiva (*skipped spawning*) e che generalmente sono collegati allo stato di condizione della popolazione (Rideout e Tomkiewicz, 2011).

Follicoli atresici sono stati riscontrati in un'ampia varietà di pesci ossei e il grado di atresia, cioè la percentuale di follicoli atresici, è altamente variabile e dipende da diversi fattori come la fase del ciclo ovarico (Barr, 1963; de Vlaming, 1971; Zanuy, 1977; Saidapur, 1978; Bouain e Siau, 1983; Ganas *et al.*, 2008), le alterazioni nei livelli ormonali (Nagahama, 1983), la disponibilità di cibo (Hunter e Macewicz, 1985; Bromley *et al.*, 2000), la modalità di rilascio dei gameti (Miranda *et al.*, 1999). Durante esperimenti in cattività, è risultato che l'atresia follicolare può essere indotta anche dall'esposizione ad agenti biocidi, dai cambiamenti nei regimi di luce e temperatura (Nagahama, 1983; Hunter e Macewicz, 1985; Guraya, 1986; Miranda *et al.*, 1999), o dal confinamento di pesce selvatico in cattività (Clearwater e Pankhurst, 1997; Mylonas *et al.*, 1997; Coward *et al.*, 1998). Variazioni nelle condizioni nutrizionali possono interferire nella deposizione delle uova, alterando la fecondità (Hunter e Macewicz, 1985; Hay *et al.*, 1988; Witthames *et al.*, 1995; Ma *et al.*, 1998): l'acciuga prolunga la maturazione degli oociti durante tutta la stagione riproduttiva, se la condizione fisica e la disponibilità di cibo sono favorevoli. Se la somministrazione di cibo viene ridotta,

l'aumento dell'atresia è una rapida conseguenza, così come rapida è la tendenza inversa: se la somministrazione di cibo riprende regolarmente, la presenza di follicoli atresici diminuisce nuovamente.

Malgrado la letteratura in questo settore sia abbastanza vasta ancora poco si conosce riguardo gli aspetti della modulazione del potenziale riproduttivo rispetto alle energie disponibili per i processi metabolici e riproduttivi, specialmente per specie a fecondità indeterminata con deposizione multipla. In queste specie infatti il ruolo dell'ecosistema nella regolazione della fecondità e, più in generale, del potenziale riproduttivo non è stato sufficientemente investigato, né in ambienti oceanici né tantomeno mediterranei. Tali studi possono essere di due tipi: in ambiente controllato (*in situ*) o direttamente in mare (*ex situ*). Entrambi sono necessari alla comprensione dei meccanismi che regolano il potenziale riproduttivo di uno stock, tuttavia i primi risentono fortemente delle differenze fra l'ambiente naturale e quello ricreato *in situ*. D'altra parte studi sul campo per ottenere una quantità di dati equivalente agli esperimenti in vasca prevedono campionamenti in mare ripetuti negli anni con grosso dispendio di tempo nave e tempo uomo.

L'applicazione del DEPM nelle acque dello Stretto di Sicilia ha permesso di ricostruire una serie temporale di 9 anni di dati relativi al picco di deposizione dell'acciuga europea. Tali dati costituiscono quindi una risorsa notevole per approfondire le conoscenze sull'ecologia riproduttiva di questa specie e, in particolare, per cominciare ad esplorare i rapporti fra la variabilità ambientale, nell'area di studio particolarmente elevata, e i processi di regolazione del potenziale riproduttivo.

In questo capitolo ci si propone, dunque, di osservare come i parametri riproduttivi che determinano il potenziale dello stock di acciughe dello Stretto di Sicilia siano associati alle condizioni fisiologiche dei riproduttori, alla struttura d'età della popolazione e ai principali fattori ambientali quali temperatura e disponibilità di cibo. Inoltre è stata valutata l'occorrenza di fenomeni atresici in relazione allo stadio di maturità sessuale, ai parametri riproduttivi, agli indici fisiologici della popolazione e ai principali parametri ambientali.

V.2. MATERIALI E METODI

Esemplari adulti di acciuga europea sono stati campionati dal 1998 al 2009 nello Stretto di Sicilia secondo quanto riportato nei paragrafi II.2 e III.2. I parametri misurati per ciascun pesce sono quelli descritti nei suddetti paragrafi.

V.2.1. Determinazione dell'età degli individui

A partire dal 2005, è stata analizzata anche la struttura d'età della popolazione. Dagli stessi individui utilizzati per la determinazione della biomassa deponente sono state prelevate 5 coppie di otoliti (fig. V.1) per classe di taglia (0.5 cm). Letture e interpretazione degli incrementi nella crescita sono stati eseguiti ricorrendo alla microscopia con ingrandimenti a 20-25X (Campana *et al.*, 1987; Nielsen, 1992). La procedura adottata per la determinazione dell'età dell'acciuga europea segue le linee guida stabilite e validate da Uriarte *et al.* (2007 e 2009).



Fig. V.1. Otolite di acciuga utilizzato per la determinazione dell'età.

V.2.2. Stima della frequenza di atresia negli ovari

Le gonadi di acciughe, preparate in sezioni istologiche dal 1998 al 2009 (si veda par. II.2), sono state analizzate registrando le principali caratteristiche degli ovari ed in particolare la presenza di follicoli atresici.

Ad ogni follicolo atresico è stato assegnato lo stadio di appartenenza in base alla fase di riassorbimento: α , β , γ e δ (Hunter e Macewicz., 1985):

- **α -atresia:** il primo stadio di degenerazione, l'unico in cui si può parlare di ovocita atresico (fig. V.2), infatti alla fine di questo stadio l'ovocita sarà stato completamente riassorbito, quindi dal secondo stadio in poi si potrà parlare solamente di follicoli atresici. In questa fase si ha la disintegrazione del nucleo seguito dai globuli di vitello (nel caso di ovociti vitellati), quindi le cellule della granulosa invadono l'ovocita, fagocitando i globuli vitellini e determinando la completa scomparsa della cellula uova.
- **β -atresia:** è rappresentata da una struttura disorganizzata composta da cellule della granulosa, circondate da una teca sottile e da uno strato di vasi sanguigni. Alla fine di questo stadio i follicoli possono essere completamente riassorbiti, passare attraverso i due stadi successivi di degenerazione (γ - e δ -atresia) oppure passare direttamente allo stadio δ -atresico.
- **γ -atresia:** i follicoli appaiono di dimensioni inferiori rispetto allo stadio precedente; se colorati con le comuni tecniche di colorazione con Ematossilina ed Eosina, appaiono di un tenue giallo che evidenzia la presenza di materiale colloidale all'interno delle cellule della granulosa.
- **δ -atresia:** ultimo stadio di degenerazione, composto da 2 a 20 cellule della granulosa di colore giallo-marrone, immerse nel tessuto connettivo dell'ovario.

Per ogni stadio degenerativo è stato valutato se esso si manifestasse in un ovocita vitellato (ATV) o non vitellato (ATPV). I fenomeni atresici su oociti non vitellati

generalmente sono indicatori di stress particolarmente forti che possono portare a saltare l'intera stagione riproduttiva.

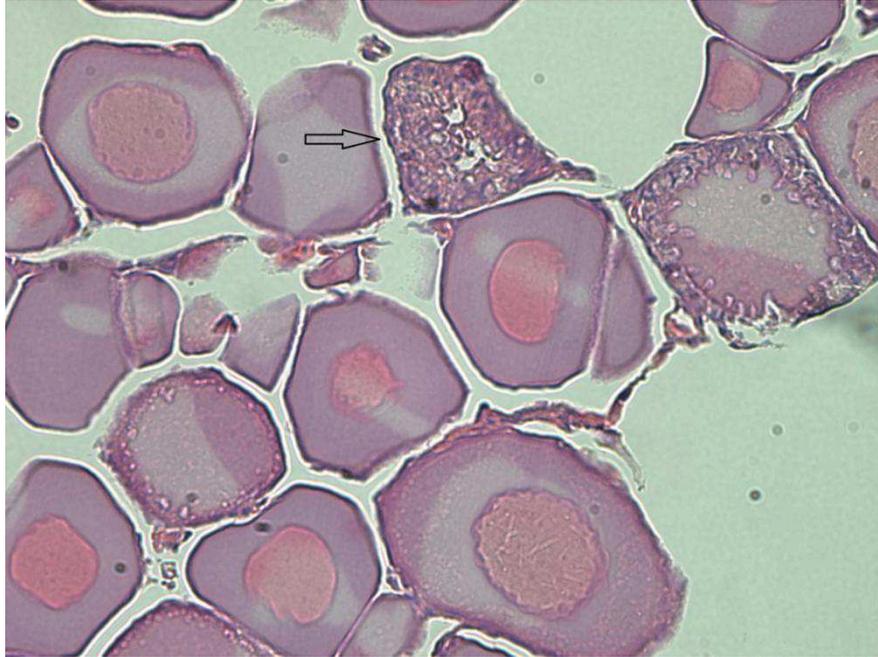


Fig. V.2. Sezione istologica di una gonade di acciuga alla fine della stagione riproduttiva: sono visibili oociti immaturi e α -atresici (indicato dalla freccia).

Sul totale di femmine analizzate microscopicamente sono state calcolate le percentuali di femmine con atresia in oociti immaturi, maturi e totale (somma dei precedenti).

Per ciascuno dei 6 stadi di maturità sessuale (tab. II. 1) è stata calcolata la percentuale di ovari con atresia previtellogena e vitellogena.

V.2.3. Il fattore di condizione e l'indice gonadosomatico

Per tutti i pesci campionati dal 1998 al 2009, sia durante le campagne oceanografiche che provenienti da imbarcazioni commerciali, sono stati determinati gli indici corporei, quali l'indice gonadosomatico e il fattore di condizione.

Per il calcolo del fattore di condizione (CF) si è fatto ricorso all'equazione di Fulton:

$$CF = \frac{SW * 100000}{TL^3}$$

Dove:

SW = peso somatico (g), preferito al peso totale per evitare che il peso delle gonadi (eventualmente aumentato dai fenomeni di idratazione) potesse alterare la stima finale.

TL = lunghezza totale dell'individuo, mm.

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

$$GSI = \frac{GW}{W} * 100$$

Dove:

GW = peso dell'ovario, in g.

W = peso totale dell'individuo, in g.

V.2.4. Fecondità relativa e fecondità specifica giornaliera

Questi parametri sono stati calcolati a partire da quelli relativi alle femmine mature e stimati per il DEPM.

La fecondità relativa rappresenta il numero di uova prodotto per unità di peso delle femmine:

$$Frel = \frac{F}{W}$$

Dove:

F = fecondità del lotto

W = peso medio delle femmine mature, in g.

La fecondità specifica giornaliera (DSF, *Daily Specific Fecundity*) si calcola dalla seguente relazione:

$$DSF = \frac{F * S * R}{W}$$

Dove:

F = fecondità del lotto

S = frazione deponente

R = rapporto sessi, espresso come percentuale in peso di femmine sul totale della popolazione

W = peso medio delle femmine mature (g).

V.2.5. Correlazione con i parametri ambientali e analisi statistica

Le informazioni ottenute sono state messe in relazione con i parametri ambientali, quali temperatura superficiale media e disponibilità di prede, espressa come densità di zooplancton.

Le SST sono state ricavate da immagini da satellite (si veda paragrafo IV.2) per tutti gli anni considerati.

La concentrazione di cibo è stata misurata dalla quantità in peso umido di zooplancton (g/m^3) filtrato per retino di Bongo 40, corretta per il volume d'acqua filtrato dallo strumento durante l'immersione (si veda par. III.2.2). I dati sono disponibili dal 1999.

I dati relativi agli adulti di acciuga e alle stime DEPM sono stati esaminati insieme ai parametri ambientali per valutare l'esistenza di correlazioni significative (tab. V.1).

Al fine di identificare la tecnica statistica più appropriata ai nostri dati si è applicato un test di normalità. Il test di Shapiro Wilk W è il preferito per la normalità poiché è risultato fra i più robusti fra quelli disponibili (es.: Kolmogorov Smirnov e Lilliefors) (Shapiro *et al.*, 1968).

Il test di Shapiro ha mostrato come alcune variabili per alcuni anni presentassero una distribuzione non normale e quindi difficilmente riconducibile ad una distribuzione parametrica.

Un test non parametrico (Kruskall-Wallis H test) è stato applicato per verificare che le differenze fra gli anni osservati fossero significative per ogni variabile. Anche per l'analisi delle correlazioni non si sono potuti applicare metodi parametrici più robusti per l'analisi della varianza (es. ANOVA) e si è dunque fatto ricorso all'uso del test non parametrico di correlazione per ranghi di Spearman (Siegel e Castellan, 1988). Il software utilizzato per le indagini statistiche è stato Statistica 7.

Tab. V.1. I parametri per i quali è stata testata la presenza di una relazione con la concentrazione di zooplancton e la temperatura dell'acqua. Legenda: SST: temperatura superficiale media, °C; AT TOT: % di atresia TOT; ATPV: % atresia in ovociti immaturi; ATV: % atresia in ovociti maturi; F: fecondità del lotto; S: frazione deponente; W: peso medio delle femmine, g; Frel: fecondità relativa; DSF: fecondità specifica giornaliera; P: produzione giornaliera di uova; A: area di campionamento, Km²; TL: lunghezza totale delle femmine mature, mm; GSI: indice gonadosomatico in %; CF: fattore di condizione; B: biomassa deponente, t; zoo: concentrazione di zooplancton, g/m³.

Anno	Atresia				Parametri riproduttivi						Biomassa			Indici di condizione		Parametri ambientali	
	AT	TOT	ATPV	ATV	F	S	W	Frel	DSF	P	A	B	TL	GSI	CF	SST	zoo
1998	7.52	0.27	6.04	4835	0.14	15.18	319	26.31	2.63	13294	13224	129	5.32	0.61	23.20	-	
1999	3.41	0.32	2.86	5871	0.17	14.08	417	38.99	2.01	5878	3010	129	4.64	0.61	22.75	0.03	
2000	4.36	1.65	2.47	8379	0.20	18.90	443	54.98	1.33	11812	2851	139	5.54	0.63	22.70	0.03	
2001	5.22	0.71	4.96	5564	0.15	15.59	357	26.53	2.01	16406	12418	132	6.02	0.63	21.40	0.03	
2005	8.71	2.56	2.56	7305	0.17	17.83	410	35.75	2.69	18984	14395	134	4.61	0.65	24.25	0.05	
2006	5.87	0.48	6.25	6950	0.19	16.66	417	38.62	1.65	11028	4773	134	3.45	0.62	26.38	0.04	
2007	8.51	3.85	5.77	6732	0.22	15.93	423	49.53	1.38	12181	3399	135	5.29	0.62	23.69	0.06	
2008	9.55	2.04	2.72	8606	0.22	22.16	388	44.60	1.38	12935	4006	147	4.17	0.65	25.55	0.08	
2009	7.23	4.03	3.76	7410	0.16	18.18	407	33.27	2.48	16131	12044	140	4.05	0.62	23.32	0.06	

Tab. V.2. Risultati del test di Kruskal-Wallis per i parametri esaminati (* = $p < 0.01$; ** = $p < 0.001$).

A	Zooplankton Kruskal-Wallis test: H (7, N= 1002) =208.5098 p<0.000								
	1999	2000	2001	2005	2006	2007	2008	2009	
1999		0.7	0.0	5.9**	2.4	7.8**	8.4**	6.2**	
2000	-		0.7	6.2**	2.0	8.5**	9.3**	6.6**	
2001	-	-		6.1**	2.5	8.1**	8.7**	6.4**	
2005	-	-	-		3.8*	2.3	3.1	0.4	
2006	-	-	-	-		6.0	6.7	4.2*	
2007	-	-	-	-	-		0.7	1.9	
2008	-	-	-	-	-	-		2.7	
2009	-	-	-	-	-	-	-		

B	SST Kruskal-Wallis test: H (8, N= 156) =57.53629 p =.0000								
	1998	1999	2000	2001	2005	2006	2007	2008	2009
1998		0.7	0.3	2.6	1.4	3.7*	1.0	3.0	0.2
1999	-		0.4	1.7	1.9	4.0*	1.7	3.4*	0.9
2000	-	-		2.4	1.8	4.1*	1.4	3.4*	0.6
2001	-	-	-		4.0*	6.3**	4.0*	5.6**	2.8
2005	-	-	-	-		2.3	0.5	1.6	1.1
2006	-	-	-	-	-		3.1	0.8	3.4*
2007	-	-	-	-	-	-		2.3	0.7
2008	-	-	-	-	-	-	-		2.7
2009	-	-	-	-	-	-	-	-	

Studio dell'ecologia riproduttiva dell'acciuga europea (Engraulis encrasicolus) in relazione ai principali parametri ambientali

C	F Kruskal-Wallis test: H (8, N= 2389) =363.1085 p =0.000									
	1998	1999	2000	2001	2005	2006	2007	2008	2009	
1998		2,6	10,6**	0,7	7,3**	2,3	1,9	12,6**	6,7**	
1999	-		12,9**	2,7	9,6**	4,4*	3,6*	14,3**	9,1**	
2000	-	-		7,1**	2,8	6,3**	4,8**	5,0**	3,5*	
2001	-	-	-		4,8**	1,2	1,1	9,9**	4,4	
2005	-	-	-	-		3,8*	2,9	6,9**	0,6*	
2006	-	-	-	-	-		0,1	9,3**	3,3	
2007	-	-	-	-	-	-		7,7**	2,5**	
2008	-	-	-	-	-	-	-		7,4	
2009	-	-	-	-	-	-	-	-		

D	TL Kruskal-Wallis test: H (8, N= 2586) =403.0989 p =0.000									
	1998	1999	2000	2001	2005	2006	2007	2008	2009	
1998		3,9*	11,3**	0,6	4,2*	1,5	1,0	11,6**	7,2**	
1999	-		15,0**	2,2	8,0**	4,6*	3,4*	14,2**	10,7**	
2000	-	-		8,6**	7,0**	7,4**	5,8**	3,8*	3,4*	
2001	-	-	-		3,6*	1,7	1,3	10,0**	5,9**	
2005	-	-	-	-		1,9	1,6	8,6**	3,2*	
2006	-	-	-	-	-		0,2	8,9**	4,4*	
2007	-	-	-	-	-	-		7,7**	3,6*	
2008	-	-	-	-	-	-	-		6,0**	
2009	-	-	-	-	-	-	-	-		

Studio dell'ecologia riproduttiva dell'acciuga europea (Engraulis encrasicolus) in relazione ai principali parametri ambientali

E	Fulton_PSU Kruskal-Wallis test: H (8, N= 2389) =221.4843 p =0.000									
	1998	1999	2000	2001	2005	2006	2007	2008	2009	
1998		0,4	5,4**	5,4**	11,7**	6,0**	3,8*	9,1**	5,1*	
1999	-		4,8**	5,0**	10,9**	5,5**	3,5*	8,6**	4,5*	
2000	-	-		1,6	6,9**	1,7	0,5	5,3**	0,0	
2001	-	-	-		3,4*	0,0	0,7	3,0	1,6	
2005	-	-	-	-		3,8*	3,8*	0,1	6,6**	
2006	-	-	-	-	-		0,8	3,2*	1,7	
2007	-	-	-	-	-	-		3,4*	0,5	
2008	-	-	-	-	-	-	-		5,2*	
2009	-	-	-	-	-	-	-	-		

F	GSI Kruskal-Wallis test: H (8, N= 2380) =401,6178 p =0,000									
	1998	1999	2000	2001	2005	2006	2007	2008	2009	
1998		1,9	10,9**	0,7	1,3	7,0**	3,4*	2,1	4,0*	
1999	-		12,3**	0,7	0,6	5,3**	4,6*	0,6	2,0	
2000	-	-		8,7**	12,1**	16,1**	3,3*	10,2**	15,1**	
2001	-	-	-		0,3	5,1**	3,5*	1,1	2,3	
2005	-	-	-	-		5,9**	4,2*	1,1	2,7	
2006	-	-	-	-	-		8,2**	3,9*	3,7*	
2007	-	-	-	-	-	-		4,5*	6,0**	
2008	-	-	-	-	-	-	-		1,0	
2009	-	-	-	-	-	-	-	-		

Studio dell'ecologia riproduttiva dell'acciuga europea (Engraulis encrasicolus) in relazione ai principali parametri ambientali

G	W Kruskal-Wallis test: H (5, N= 1272) =134,6684 p =0,000					
	2001	2005	2006	2007	2008	2009
2001		0,0*	1,0	1,0	0,00*	0,0*
2005	-		0,0*	0,0*	0,00*	1,0
2006	-	-		1,0	0,00*	0,0*
2007	-	-	-		0,00*	0,2
2008	-	-	-	-		0,0*
2009	-	-	-	-	-	

H	S Kruskal-Wallis test: H (5, N= 86) =4,850033 p =,4345					
	2001	2005	2006	2007	2008	2009
2001		0,6	0,6	1,6	1,7	0,5
2005	-		0,1	1,2	1,3	0,0
2006	-	-		1,1	1,2	0,1
2007	-	-	-		0,1	1,3
2008	-	-	-	-		1,3
2009	-	-	-	-	-	

V.3. RISULTATI E DISCUSSIONI

V.3.1. Il potenziale riproduttivo e la struttura d'età della popolazione

La struttura d'età della popolazione per gli anni dal 2005 al 2009 (tab. V.3) ha mostrato la presenza di 5 classi d'età. In questi anni l'età massima raggiunta dagli esemplari adulti è di circa 3 anni, con pochi individui di 4 anni che sono stati riscontrati solo nel 2007 (8 su 207 esemplari analizzati) e nel 2008 (1 su 94).

Tab. V.3. Percentuale di esemplari per classe di età dal 2005 al 2009. In parentesi il numero di individui analizzati.

Anno	ETA'				
	0	1	2	3	4
2005	14 (48)	60 (208)	25 (86)	1 (3)	-
2006	3 (8)	30 (82)	43 (115)	24 (65)	-
2007	-	4 (8)	42 (86)	51 (105)	4 (8)
2008	5 (5)	30 (28)	37 (35)	27 (25)	1 (1)
2009	19 (65)	65 (219)	15 (51)	1 (2)	-

Le informazioni relative alla struttura d'età della popolazione mostrano un'associazione fra l'andamento dell'abbondanza relativa della classe d'età 1 e i valori di produzione giornaliera di uova (P) (fig. V.3). Indicando come questa classe d'età dia l'apporto maggiore alla produzione di uova in quanto essa costituisce la classe del reclutamento, che a sua volta condiziona l'abbondanza dell'intera popolazione. Tale risultato soltanto apparentemente contrasta con la relazione diretta nota in letteratura fra taglia/età e fecondità degli individui, infatti se andiamo a confrontare la distribuzione d'età con la fecondità specifica giornaliera (DSF) vediamo come essa sia maggiore negli individui più grandi d'età (fig. V.3). Al fine di verificare la significatività di queste relazioni e cercando di evidenziare le differenze d'età in specie a vita breve come questa, abbiamo dapprima accorpato gli individui più giovani (età 0 e 1) e più vecchi (età 2 e 3) e successivamente, mediante il test di Spearman, è stata valutata la correlazione tra i due gruppi con P e DSF per gli anni dal 2005 al 2009. I risultati mostrano

come la relazione fra l'età e P non sia statisticamente significativa ($n=5$, $r=0.6$; $p=0.05$), mentre la relazione con DSF risulta essere significativa: positiva ($n=5$, $r=0.9$; $p<0.05$) verso gli individui più vecchi e negativa ($n=5$, $r=-0.9$; $p<0.05$) per gli esemplari più giovani.

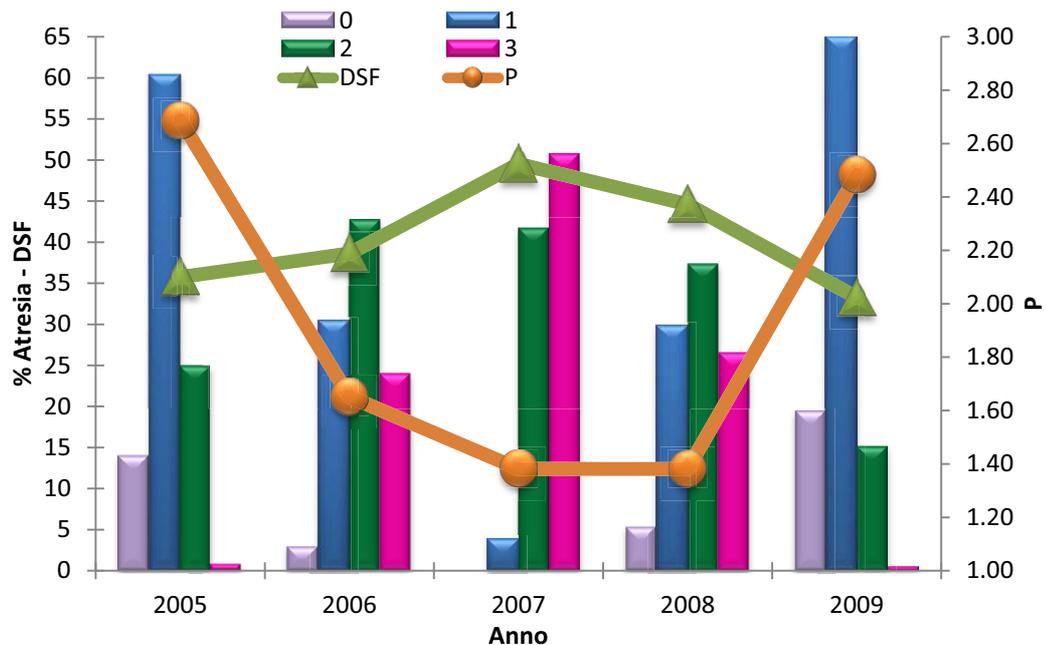


Fig. V.3. Istogramma delle classi d'età e andamento della produzione giornaliera di uova (P) e della fecondità specifica giornaliera (DSF), dal 2005 al 2009.

Osservando inoltre la fecondità media delle femmine raggruppate per diverse classi di età (fig. V.4) è evidente che essa aumenta nelle classi d'età più avanzate e che non vi è sovrapposizione tra gli intervalli di confidenza fra i vari anni d'età.

In queste analisi non sono stati inseriti gli individui di 4 anni di età, perché poco numerosi negli anni di studio (tab. V.3).

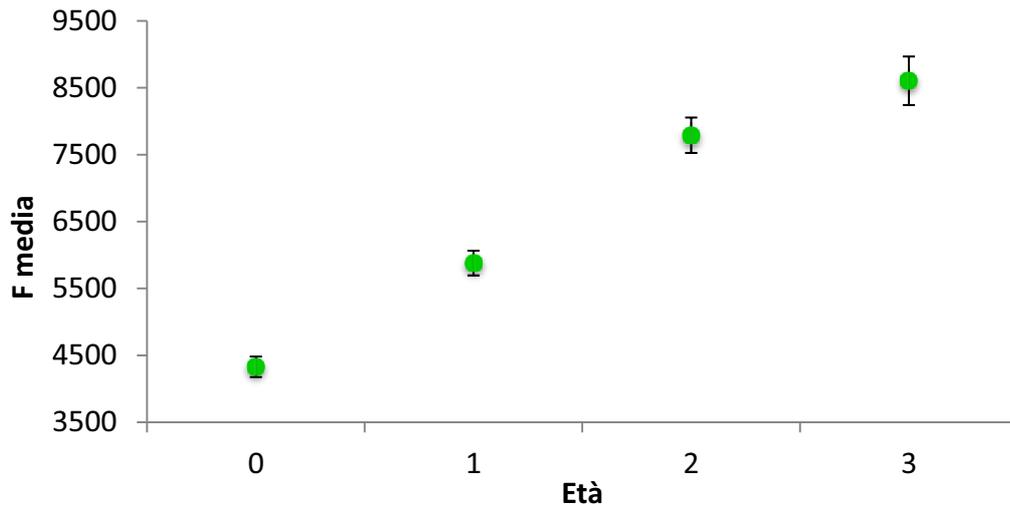


Fig. V.4. Fecondità medie (con relativi limiti di confidenza) ottenuta applicando la relazione fra peso medio e fecondità al peso delle acciughe di cui si conosceva l'età.

Il concetto di potenziale riproduttivo di uno stock fu proposto a partire anche dalle crescenti conoscenze sull'importanza delle cure parentali e della struttura d'età di una popolazione nella determinazione del reclutamento (Trippel, 1999).

Anche nelle specie che, come l'acciuga, hanno fecondità indeterminata, il potenziale riproduttivo risulta influenzato dalle variazioni nella struttura d'età della popolazione e di taglia degli individui (Murua e Motos, 2006), perché i depositori più vecchi o di taglia maggiore hanno una fecondità relativa più elevata e una maggiore qualità delle uova. Dal momento che l'età dei riproduttori, maschi e femmine, determina sia la fecondità finale dello stock che la qualità delle uova prodotte (Parrish *et. al*, 1986; Hislop, 1988; Trippel e Morgan, 1994a e b; Trippel, 1999; Shatunovskii, 2006), la variabilità interannuale della struttura d'età della popolazione può alterare notevolmente il potenziale riproduttivo dello stock ittico.

V.3.2. L'incidenza dell'atresia

La percentuale di gonadi con ovociti atresici, calcolata sul totale di femmine analizzate istologicamente dal 1998 al 2009, mostra che lo stadio più rappresentato è quello di α -atresia sia su oociti vitellati che non. Degli stadi degenerativi più avanzati non c'è invece

alcun riscontro, salvo una ridottissima presenza di β -atresia nel 2005 e nel 2008 (2 su 352 esemplari e 3 su 147 esemplari, rispettivamente; tab. V.4; fig. V.5).

Osservando l'istogramma in figura V.5 si può notare come le gonadi con atresia che interessa ovociti già maturi sia più elevata di quella in cui gli oociti coinvolti in fenomeni apoptotici sono ancora in fase previtellogonica (ATPV). In entrambi i casi, le percentuali si mantengono comunque al di sotto del 7%, con un valore massimo riscontrato del 6.25% di ATV nel 2006.

Se consideriamo congiuntamente tutte le manifestazioni di atresia (AT TOT), l'anno in cui si registra l'incidenza maggiore è il 2008 (9.55%; fig. V.6).

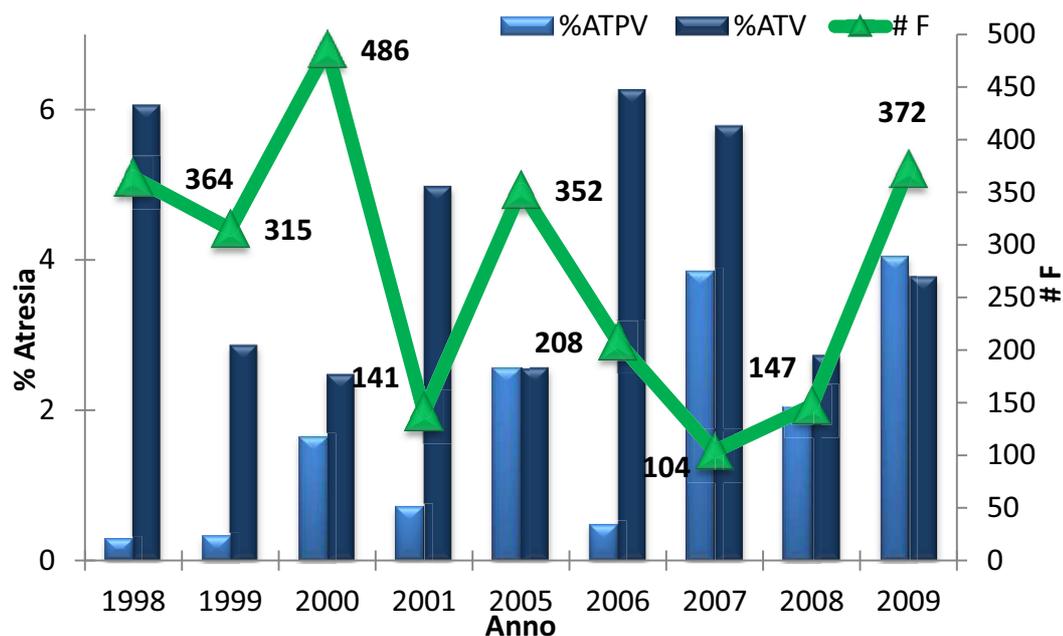


Fig. V.5. Percentuale di femmine che presentavano atresia in ovociti immaturi (ATPV) e maturi (ATV) e numero di femmine analizzate (# F) per anno.

Tab. V.4. Percentuale di femmine con ovociti nei diversi stadi di atresia. In parentesi il numero di individui. ATPV: α -atresia previtellogena; ATV: α -atresia vitellogena; β AT: β -atresia; γ AT: γ -atresia; δ AT: δ -atresia.

Anno	ATPV	ATV	β AT	γ AT	δ AT
1998	0.27 (1)	6.04 (22)	-	-	-
1999	0.32 (1)	2.86 (9)	-	-	-
2000	1.65 (8)	2.47 (12)	-	-	-
2001	0.71 (1)	4.96 (7)	-	-	-
2005	2.56 (9)	2.56 (9)	0.57 (2)	-	-
2006	0.48 (1)	6.25 (13)	-	-	-
2007	3.85 (4)	5.77 (6)	-	-	-
2008	2.04 (3)	2.72 (4)	2.04 (2)	-	-
2009	4.03 (15)	3.76 (14)	-	-	-

La figura V.6. mostra come sia distribuita la presenza di atresia in ovociti con vitello e senza rispetto allo stadio di maturità sessuale degli individui. I fenomeni α - e β -atresici sono stati considerati congiuntamente, vista la scarsissima abbondanza dei secondi. Dal grafico risulta evidente come l'atresia sia più frequente negli individui al termine della loro stagione riproduttiva, ovvero che hanno già deposto tutte le uova (stadio di maturità gonadica 6). Quest'ultimo risultato è riportato chiaramente in letteratura per *Engraulis mordax* nelle acque Californiane (Hunter e Macewicz, 1985; Hunter e Lo, 1997) e nel Mediterraneo per una specie affine, la *Sardina pilchardus* (Ganias *et al.*, 2003) . Al contrario fenomeni atresici sono praticamente assenti durante la fase di deposizione vera e propria (ovari in idratazione): sul totale degli anni esaminati, essi compaiono solo in 2 dei 230 ovarii allo stadio 4. In generale, durante la fase di maturazione (stadi 3 e 5), i fenomeni apoptotici hanno una frequenza piuttosto bassa (meno del 6% degli ovarii esaminati), sia nel caso si consideri la ATPV che la ATV (fig. V.7).

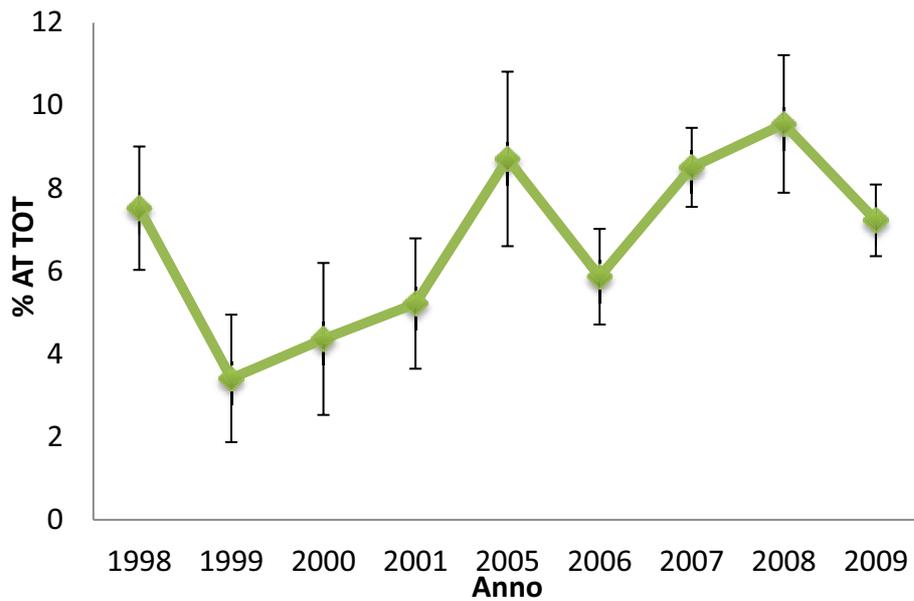


Fig. V.6. Percentuali di atresia totale (AT TOT) per anno con i relativi coefficienti di variazione.

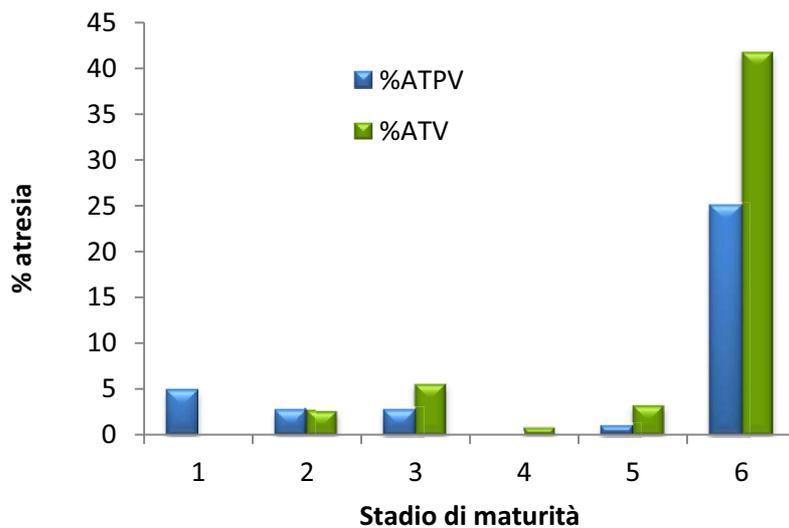


Fig. V.7. Istogramma delle percentuali di atresia previtellogenica (ATPV) e vitellogenica (ATV) rispetto alle sei classi di maturità sessuale delle gonadi.

La totale assenza di follicoli con γ e δ atresia può essere dovuta sia alla difficoltà di riconoscerli per via delle piccole dimensioni e della similarità con le classi più vecchie di POF (si veda par. 1.2) che ad una rapido tasso di degenerazione, legato alle alte temperature tipiche dell'area di studio rispetto alle acque oceaniche. Evidenze in questo senso sono state

trovate in Mediterraneo anche per *Sardina pilchardus* (Ganias *et al.*, 2003). In ogni caso, dal momento che gli ultimi stadi atresici sono normalmente difficili da incontrare e da riconoscere, gli studi sull'argomento hanno ristretto la quantificazione dell'atresia al solo stadio α (es., Whitthames *et al.*, 1995; Murua *et al.*, 2003; Kjesbu *et al.*, 2010; Corriero *et al.*, 2011). Sebbene alcuni studi (Hunter e Macewicz, 1985; Ganias *et al.*, 2003) suggeriscano di considerare anche la β -atresia come indicatore della chiusura della stagione di deposizione.

La presenza di atresia in uova in vitellogenesi avanzata concorre alla determinazione del potenziale riproduttivo di quel pesce o dell'intero stock (Murua *et al.*, 2003). L'eventuale presenza di fenomeni atresici congiuntamente all'assenza di oociti maturi all'interno di un ovario è stata utilizzata per confermare, con la massima sicurezza, se l'esemplare osservato avesse già terminato la propria stagione riproduttiva (Hunter e Macewicz, 1985; Hunter e Lo, 1997; tab. II.1.b). Essa rappresenta un fenomeno fondamentale da considerare per ottenere la fecondità reale, specialmente nel caso di specie a fecondità determinata ed in misura minore per le specie a fecondità indeterminata, perché in queste ultime tende ad avere un'incidenza piuttosto bassa quando la stagione riproduttiva è alla massima intensità (Hunter e Macewicz, 1985). Se è vero che una bassa presenza di follicoli atresici durante il picco riproduttivo è comune nei piccoli pelagici (Zwolinski *et al.*, 2001; Ganias *et al.*, 2003), è vero anche che in misura maggiore essa può essere indice di forti condizioni stress che inducono l'acciuga a saltare un evento deposizionale o, per lo meno, a ridurre fortemente il numero di uova deposte durante un determinato evento.

Nel caso delle femmine di piccoli pelagici, l'attività di riproduzione è di solito definita dalla presenza di ovociti con globuli di vitello e dall'intensità di atresia (Pérez *et al.*, 1992). Per esempio, Hunter e Macewicz (1985) definiscono un'acciuga del nord come attiva quando almeno il 50% degli ovociti vitellati all'interno della gonade non è atresico. D'altro canto, Ganias (2003) e Ganias *et al.* (2003) hanno mostrato che in Mediterraneo solo le femmine di sardina con 100% di ovociti maturi atresici può essere considerata inattiva. E lo stesso è stato confermato per i piccoli pelagici in genere durante un workshop mirato alla definizione e allo studio della maturità sessuale dei piccoli pelagici (ICES, 2008).

La ridotta presenza di femmine attive che presentano ovari con apoptosi congiuntamente alle percentuali elevate di atresia riscontrate nelle gonadi esauste confermano che, anche per l'acciuga del Mediterraneo centrale, i valori di atresia che si registrano durante il picco di deposizione siano piuttosto bassi e, dunque, trascurabili quando si stima la fecondità della popolazione. Descrivere adeguatamente la deposizione delle uova e individuare i fattori biologici che possono influenzare gli andamenti della riproduzione di una popolazione è un'area di ricerca che merita attenzione, perché può fornire indicazioni basilari per la comprensione meccanismi che regolano della dinamica della popolazione.

Tab. V.5. I coefficienti di correlazione per ranghi di Spearman calcolati per i parametri in tabella V.2.

	SST	AT TOT	ATPV	ATV	F	S	W	Frel	DSF	P	A	TL	GSI	CF	B	zoo
SST	1.00	0.67*	0.27	0.22	0.40	-0.03	0.38	0.12	0.15	0.00	-0.07	0.37	-0.83**	0.28	0.02	0.62
Atr TOT		1.00	0.47	0.00	0.30	-0.20	0.42	-0.30	-0.05	0.13	0.50	0.50	-0.33	0.49	0.32	0.90**
ATPV			1.00	-0.33	0.60	-0.28	0.62	0.25	0.28	-0.10	0.40	0.78*	-0.28	0.41	0.18	0.76*
ATV				1.00	-0.63	-0.33	-0.53	-0.23	-0.45	0.17	-0.13	-0.42	-0.15	-0.54	0.20	0.05
F					1.00	0.20	0.95**	0.37	0.58	-0.47	-0.03	0.88**	-0.45	0.64	-0.2	0.60
S						1.00	0.00	0.47	0.72*	-0.48	-0.77*	-0.02	0.08	-0.10	-0.95**	-0.12
W							1.00	0.22	0.43	-0.45	0.17	0.93**	-0.35	0.74*	0.02	0.62
Frel								1.00	0.82**	-0.52	-0.60	0.20	-0.10	0.08	-0.63	-0.10
DSF									1.00	-0.78*	-0.60	0.45	-0.03	0.34	-0.78*	0.21
P										1.00	0.53	-0.47	-0.13	-0.39	0.57	-0.19
A											1.00	0.18	0.15	0.37	0.88**	0.33
TL												1.00	-0.33	0.62	-0.02	0.81*
GSI													1.00	0.01	0.00	-0.43
CF														1.00	0.22	0.40
B															1.00	0.14
zoo																1.00

*p<0.05 **p<0.01

V.3.3. Variabilità dei parametri del potenziale riproduttivo e loro correlazione con i parametri ambientali

Per ciascuno dei parametri analizzati le differenze tra i vari anni, verificate grazie al Kruskal-Wallis H test (tab. V.2), sono risultate significative ($p < 0.001$). Si è proceduto quindi a valutare le possibili correlazioni fra i parametri riproduttivi, gli indici relativi alle condizioni fisiologiche e i principali parametri ambientali quali temperatura superficiale e concentrazione di zooplancton mediante gli indici di correlazione di Spearman (tab. V.5).

Relazioni fra i parametri biologici

La fecondità del lotto mostra una correlazione lineare con la frazione deponente ($n=9$; $r=0.70$; $p < 0.05$) e in misura maggiore con la lunghezza totale ($n=9$; $r=0.88$; $p < 0.01$), ma quest'ultima deriva dal fatto che la F è una variabile dipendente calcolata a partire da W (si veda cap. III), che a sua volta è in stretta relazione col peso ($n=9$; $r=0.93$; $p < 0.01$).

Generalmente, nelle specie ittiche individui di maggiori dimensioni denotano anche una maggiore fecondità (Militelli e Macchi, 2004; Hoyle *et al.*, 2009). Anche nel caso dell'acciuga europea si può notare come la taglia degli individui sia influente sulla fecondità (fig. V.8), correlazione confermata anche dal coefficiente di Spearman ($n=9$; $r=0.88$; $p < 0.01$). Sebbene la relazione diretta tra F e TL è stata riscontrata in diverse specie ittiche (Barbin e McCleave, 1997; Ahmed e Ozawa, 2002; Begum *et al.*, 2010), la correlazione significativa tra lunghezza e fecondità risulta facilmente spiegabile dal momento che F è una variabile derivata da W che a sua volta ha una forte correlazione con la taglia negli esemplari adulti (fig. V.9). D'altro canto, l'evidenza che individui di maggiori dimensioni producano più uova per grammo di peso corporeo di quelli più piccoli è importante nello studio delle dinamiche di popolazione, perché uno stock in cui predominano individui di taglia più piccola produrrà meno uova di un banco equivalente in biomassa ma composto da pesci più grandi (Marshall *et al.*, 1998).

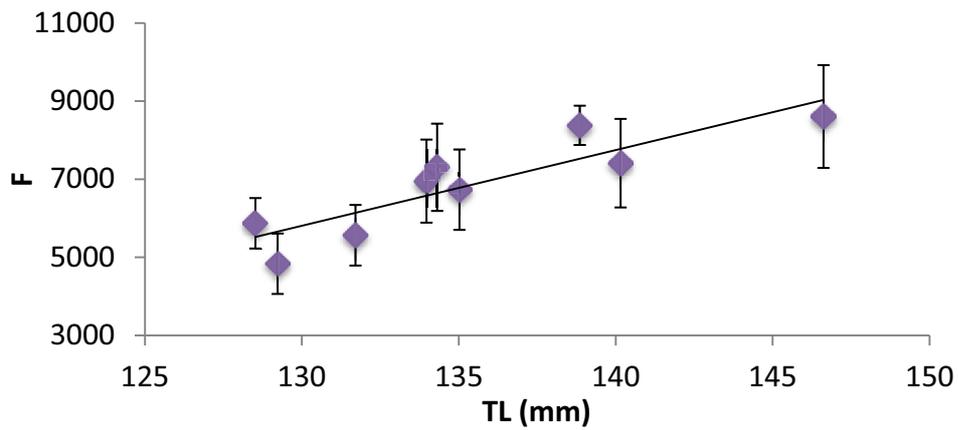


Fig. V.8. Relazione tra lunghezza totale (TL) degli individui maturi e fecondità del lotto (F).

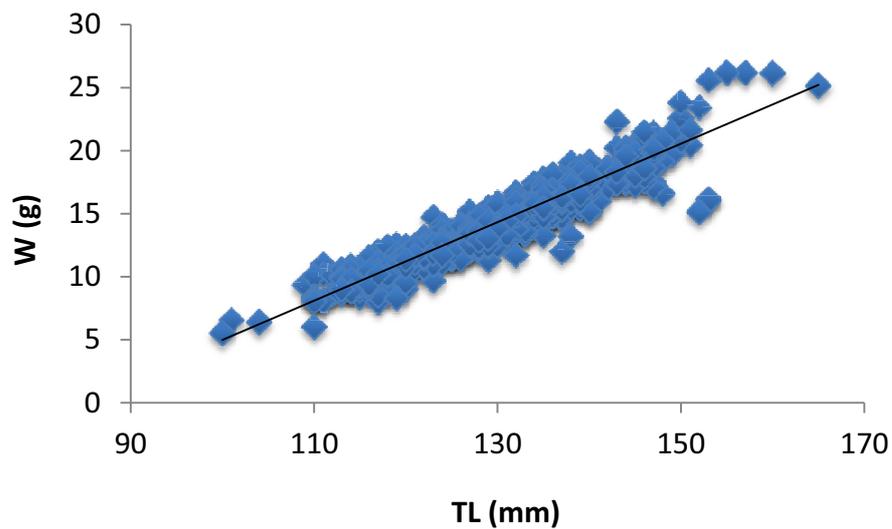


Fig. V.9. Relazione tra lunghezza totale (TL) e peso totale degli individui maturi per gli esemplari del 2009.

La S risulta anche associata in maniera indiretta alla produzione giornaliera di uova ($n=9$; $r=0.73$; $p<0.05$), indicando come una maggiore frequenza di deposizione si accompagna ad una maggiore produzione di uova in mare.

Quest'ultima (P) appare inversamente correlata alla DSF ($n=9$; $r=-0,78$; $p<0.05$). Questo risultato è in qualche maniera suggerito anche dai grafici nelle figure V.1 e V.2, in cui gli andamenti di P e DSF mostrano trend opposti. Sebbene nella letteratura la relazione fra DSF e P è stata già riscontrata nelle acque mediterranee orientali (Somarakis *et al.*, 2004), essa era di segno opposto ovvero si aveva una relazione diretta. Nello Stretto di Sicilia questo risultato apparentemente in contraddizione con la letteratura, può essere spiegato in funzione della struttura d'età della popolazione. Infatti se consideriamo che normalmente, a parità di abbondanza relativa delle classi d'età di una popolazione, la produzione maggiore di uova è attesa dalle femmine con maggiore età/taglia, in una popolazione in cui le oscillazioni della classe di reclutamento (età 1) determinano la variabilità della biomassa complessiva dello stock, ci si aspetta che proporzionalmente la maggiore produzione di uova sia dovuta a quella classe d'età. Si ipotizzi ad esempio come una femmina di 2 anni possa produrre una quantità di uova mature e di qualità equivalente a n°2 femmine d'età 1, e che in quel determinato anno la proporzione di femmine 1 sia il triplo delle femmine 2, in questo caso la P risultante deriva per il 75% da esemplari di 1 anno d'età e solo il 25% da femmine d'età 2. Per la stessa specie ma in acque atlantiche è stato riscontrato che negli anni in cui gli individui di età 1 e 2 sono in egual numero, la produzione di uova è inferiore a quella degli anni in cui gli individui di 1 anno sono in quantità maggiore di quelli più grandi (Motos, 1994).

L'atresia totale (AT TOT) non ha mostrato relazioni significative con nessun parametro biologico sebbene si noti un trend simile con il CF (fig. V.10). Analizzando separatamente atresia previtellogonica e vitellogonica si vede come solo la ATPV sia correlata alla TL in maniera significativa ($n=9$; $r=0.78$; $p<0.05$); mentre, sebbene tali relazioni non siano statisticamente significative, è interessante notare come la ATV sia associata in maniera inversa al CF ($r=-0.54$; fig. V.11) e la ATPV in maniera diretta ($r=0.47$; fig. V.12).

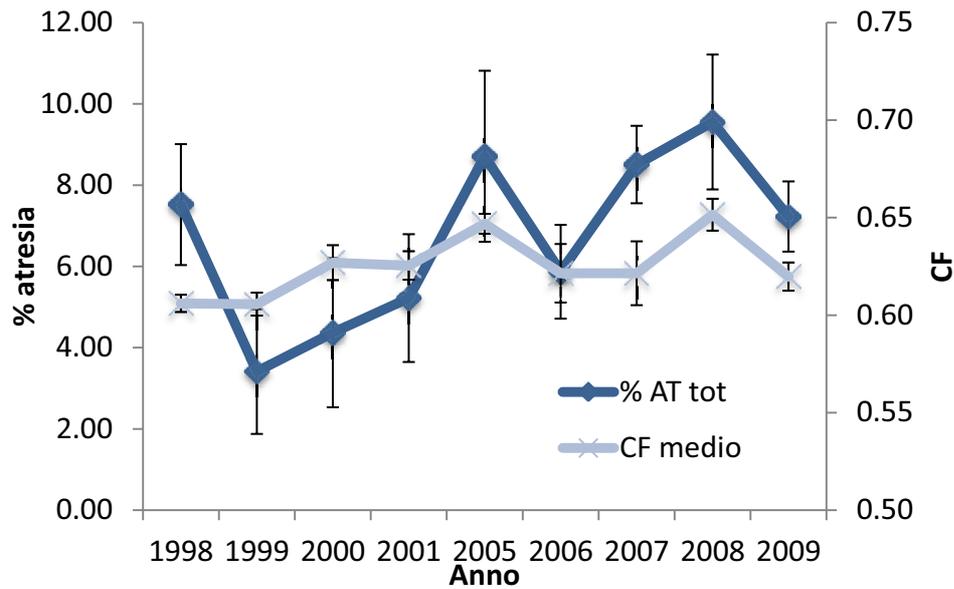


Fig. V.10. Andamento del fattore di condizione (CF) degli esemplari adulti di acciuga e della percentuale totale di atresia dal 1998 al 2009.

L'ATPV indica la fine della stagione riproduttiva per cui appare chiaro come, cessata la necessità di investire riserve energetiche nella riproduzione, esse siano disponibili per il soma migliorandone lo stato. Viceversa durante la stagione riproduttiva la presenza dell'atresia è correlata allo stato di salute dell'individuo in maniera inversa, ovvero migliore condizione minore incidenza dell'atresia.

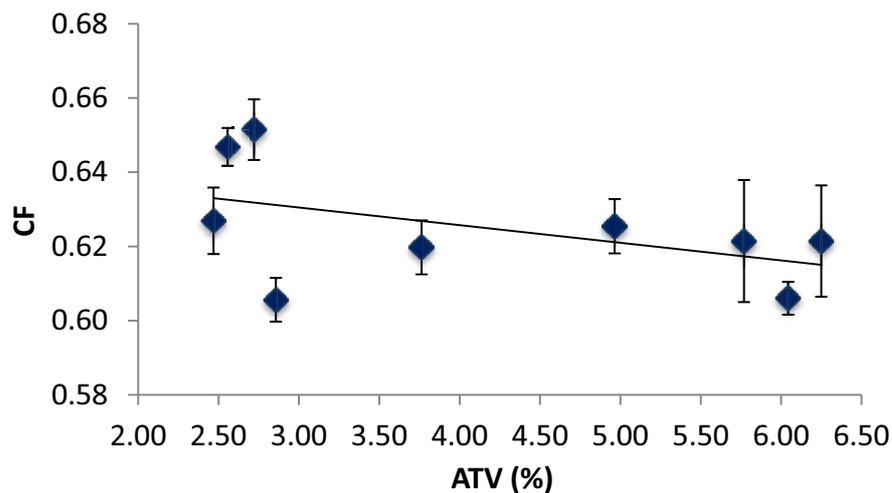


Fig. V.11. Relazione decrescente tra il fattore di condizione (CF) e la percentuale di atresia vitellogena (ATV).

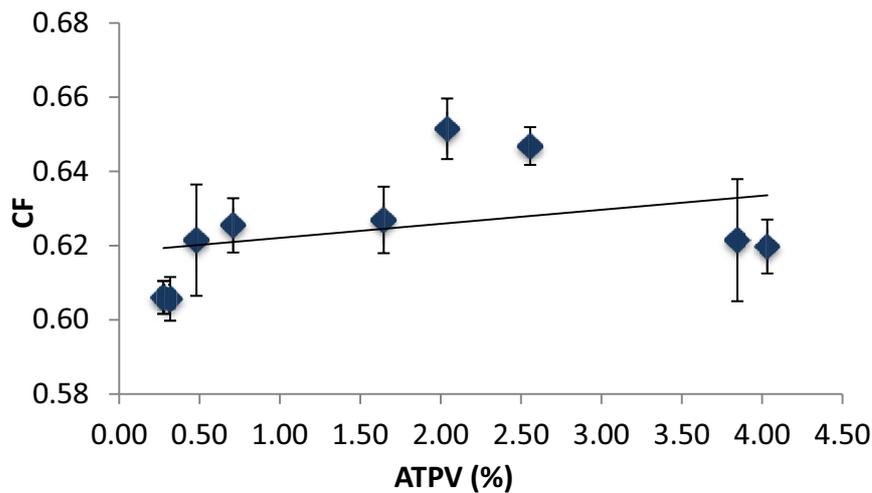


Fig. V.12. Relazione crescente tra il fattore di condizione (CF) e la percentuale di atresia previtellogena (ATPV).

La biomassa deponente risulta correlata positivamente e in maniera robusta all'area di deposizione ($n=9$; $r=0.88$; $p<0.01$). Tale relazione conferma quanto già trovato in letteratura sull'abitudine della specie in acque mediterranee a mantenere elevata la densità dello stock deponente (Somarakis *et al.*, 2004). La correlazione tra biomassa ed area rappresenta, però, un elevato fattore di rischio per lo sfruttamento della risorsa, dal momento che una riduzione dell'areale di distribuzione al diminuire dell'abbondanza non coincide con una diminuzione della densità dei banchi a livello locale. Di conseguenza, le flotte pescherecce, sebbene possano avere maggiori difficoltà a localizzare i pesci, possono ottenere comunque rendimenti di pesca simili a quelli registrati in presenza di alti livelli di abbondanza, cosa che può provocare una repentina riduzione di biomassa deponente (Bindman, 1986).

Relazioni fra i parametri biologici e la temperatura superficiale (SST)

La temperatura superficiale mostra una correlazione significativa inversa ($n=9$; $r=-0.83$; $p<0.01$) con l'indice gonadosomatico indicando che la condizione riproduttiva durante il picco di deposizione risente negativamente di alte temperature ambientali. L'andamento di questi due parametri lungo il periodo di studio è mostrato in figura V.13.

L'effetto negativo di alte temperature sullo stato riproduttivo è indicato anche dalla relazione fra SST e la percentuale totale di atresia ($n=9$; $r=0.67$; $p<0.05$) che, seppur con minore probabilità rispetto alla prima ($p<0.01$), continua ad essere significativa.

Nessun altro parametro ha mostrato relazioni significative con la temperatura.

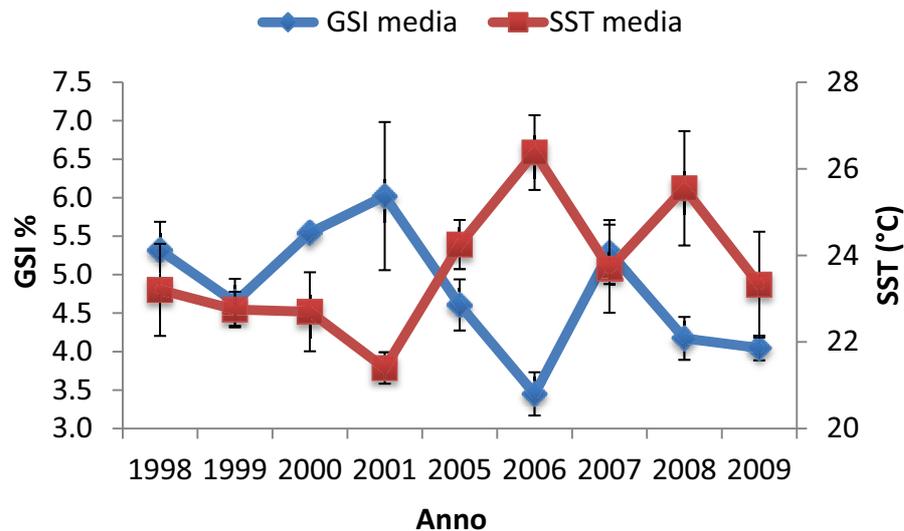


Fig. V.13. Trend dell'andamento dell'indice gonadosomatico (GSI) delle femmine mature di acciuga e della temperatura superficiale (SST) nell'area di indagine, dal 1998 al 2009.

Sebbene in generale dalla letteratura si evince come la temperatura sia correlata positivamente con l'indice gonadosomatico, tale correlazione si riferisce all'andamento durante la stagione riproduttiva indicando che il periodo riproduttivo sia in qualche modo legato al regime termico stagionale (Giráldez e Abad, 1995; Millán, 1999; Basilone *et al.*, 2006). Tuttavia, se si prende in considerazione in maniera puntuale un preciso momento del periodo riproduttivo, quale ad esempio il picco di deposizione, si può notare invece come una maggiore temperatura, a parità di evoluzione stagionale delle gonadi, determini un peggioramento delle condizioni riproduttive degli esemplari causando una riduzione del GSI ed un aumento dei processi apoptotici. La diminuzione dell'indice gonadosomatico può essere dovuta o alla diminuzione del peso gonadico o all'aumento del peso somatico (o

entrambe). Tuttavia la prima ipotesi, che indicherebbe un maggior investimento dell'energia disponibile nelle gonadi, non è supportata dai nostri risultati, infatti una riduzione del peso gonadico è in genere correlata ad una ridotta disponibilità di cibo, contrariamente a quanto si evince dalla relazione SST vs. zooplancton che, sebbene non risulti statisticamente significativa ($p > 0.05$), è positiva. La seconda ipotesi, che prevede un investimento maggiore nel soma e quindi nell'accrescimento e nella respirazione piuttosto che nel potenziale riproduttivo, è meglio supportata dai nostri dati che mostrano come esista una relazione significativa fra disponibilità di cibo e taglia media degli esemplari, che a sua volta è altamente correlata al peso dell'animale. Considerando inoltre che le relazioni fra SST e la taglia o il peso sono positive (anche se non statisticamente significative), si può dedurre come una maggiore temperatura, a parità di stagione riproduttiva, determini un accrescimento somatico piuttosto che gonadico. D'altronde una relazione significativa fra SST e fattore di condizione era stata messa in evidenza in letteratura per la stessa specie e nella stessa area (Basilone *et al.*, 2006). Certamente tali risultati dovrebbero essere confermati mediante ampliamento del data set o con appositi esperimenti da condurre in ambiente controllato, ciononostante essi evidenziano interessanti aspetti non ancora investigati approfonditamente in letteratura.

Relazioni fra i parametri biologici e la disponibilità di cibo (zooplancton)

L'atresia totale risulta correlata positivamente, oltre che con la SST, anche con la disponibilità di cibo ($n=8$; $r=0.90$; $p < 0.01$). Disaccoppiando l'atresia previtellogena e quella vitellogena, soltanto la prima appare significativamente associata alla concentrazione di zooplancton ($n=8$; $r=0.76$; $p < 0.05$) al contrario i fenomeni apoptotici nelle uova mature non presentano alcun tipo di correlazione lineare significativa. Questa relazione fra ATPV e zooplancton si giustifica in funzione di ciò che è stato detto in relazione alla condizione degli esemplari, ovvero una migliore condizione degli esemplari in presenza di maggior disponibilità di cibo coincide con l'aumento dell'atresia previtellogena che generalmente

indica la fine della stagione riproduttiva, ovvero che le energie ottenute dalla disponibilità di cibo vengono investite per l'accrescimento.

D'altronde anche i trend del fattore di condizione e della disponibilità di cibo mostrano una certa similarità (fig. V.14), sebbene tra i due parametri non sia stata trovata una relazione lineare significativa ($p > 0.05$; tab. V.4). Nonostante le fluttuazioni del CF da un anno all'altro non siano particolarmente ampie, si notano comunque delle oscillazioni con andamento analogo a quello della concentrazione di prede nell'area di studio. Le similitudini mostrate tra le condizioni fisiologiche e la disponibilità di cibo probabilmente sono da attribuirsi maggiormente alla lunghezza degli esemplari piuttosto che al peso. Il CF infatti viene calcolato dalla dimensione e dal peso somatico delle femmine adulte (W) col quale mostra una associazione significativa ($n = 9$; $r = 0.74$; $p < 0.05$), ma solo la TL mostra una relazione significativa con la concentrazione di zooplancton ($n = 8$; $r = 0.88$; $p < 0.05$; tab. V.4).

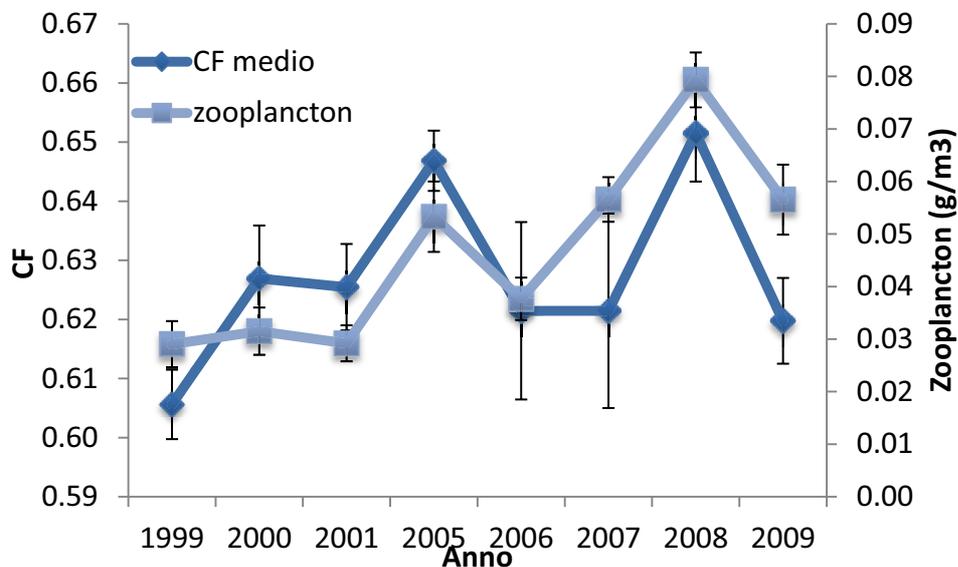


Fig. V.14. Andamento del fattore di condizione (CF) degli esemplari adulti di acciuga e della concentrazione di zooplancton nell'area di indagine dal 1999 al 2009.

Alcuni studi hanno mostrato che le acciughe sia del Mar Nero (Lisovenko e Andrianov, 1996) che del Mar Egeo (Somarakis, dati non pubblicati) subiscono un aumento di peso e mostrano condizioni migliori durante la stagione riproduttiva. Queste evidenze suggeriscono che

l'assunzione di cibo durante la stagione riproduttiva supporti non solo l'attività riproduttiva, ma anche la crescita somatica.

Sebbene i dati disponibili per questa ricerca siano puntuali e relativi al solo periodo del picco di deposizione, l'informazione suggerita dalla relazione tra atresia e concentrazione di zooplancton rappresenta uno spunto per studi futuri, che avranno il compito di confermare se, come la maggior parte delle specie simili (Hunter e Macewicz, 1985; Hay *et al.*, 1988; Witthames *et al.*, 1995; Ma *et al.*, 1998; Bromley *et al.*, 2000), anche l'acciuga europea dello Stretto di Sicilia reagisce alle riduzioni nella disponibilità di prede con un sensibile aumento di uova mature in apoptosi, al fine di recuperare l'energia necessaria al mantenimento delle attività metaboliche. Infatti, nel caso la densità delle prede non sia sufficientemente alta, l'individuo deve usare l'energia precedentemente accumulata nelle gonadi per compensare la perdita energetica dovuta al metabolismo (Milton *et al.*, 1995; Kjesbu *et al.*, 1998). È stato constatato che *Engraulis mordax* ha necessità di ottenere un terzo del cibo necessario alla riproduzione durante la stagione di deposizione (Hunter e Leong, 1981); nel caso dell'acciuga europea è stato osservato che qualora la disponibilità di alimento fosse scarsa, la stagione riproduttiva potrebbe essere più corta e sia la fecondità che la frequenza di deposizione potrebbero risulterne influenzate (Millán, 1999).

L'indice gonadosomatico e il fattore di condizione sono strumenti usati di frequente per descrivere le condizioni nutrizionali e riproduttive del pesce. Essi infatti possono essere modificati dall'individuo, a differenza della relazione taglia/peso che però è, chiaramente, determinata dalla disponibilità di cibo anche prima dell'inizio della riproduzione. Relativamente agli indici somatici, le femmine di acciuga sono risultate sensibili non solo alla concentrazione di cibo, ma mostrano condizioni migliori in acque più fredde e a minore salinità (Somarakis *et al.*, 2000; Somarakis, 2005). Inoltre, nei depositori multipli a vita breve gli adulti possono essere indotti alla deposizione in risposta alla temperatura o al fotoperiodo (Blaxter e Hunter, 1982).

È stata osservata una chiara relazione tra intensità della deposizione, CF e relazione taglia/peso con la quantità di alimento disponibile prima della riproduzione (Basilone *et al.*,

2006). La correlazione tra riproduzione e abbondanza di fito- e zooplancton è comune nei Clupeidi (Hay *et al.*, 1988; Kawaguchi *et al.*, 1990; Luo e Musick, 1991; Regner, 1996; Millán, 1999; Lapolla, 2001; Peebles, 2002;) e non solo (Lambert e Dutil, 1997; Coward e Bromage, 1999). Variazioni nelle condizioni nutrizionali, stimate mediante il CF o l'indice epatico delle femmine, possono influenzare significativamente la fecondità più della taglia degli esemplari adulti (Kjesbu *et al.*, 1998; Lambert *et al.*, 2003; Kamler, 2005; Lambert, 2008), poiché, come già accennato, nel caso la densità delle prede non sia sufficientemente alta, l'individuo deve usare l'energia precedentemente accumulata nelle gonadi per compensare la perdita energetica dovuta al metabolismo (Milton *et al.*, 1995; Kjesbu *et al.*, 1998). In molte specie di piccoli pelagici l'energia destinata alla deposizione deriva principalmente dall'alimentazione piuttosto che da riserve di energia (Wright, 1990; Wang e Houde, 1994). In altri casi, la deposizione è legata sia alla dieta che allo stato nutrizionale del pesce (Milton *et al.*, 1994). Un legame tra alimentazione degli adulti e *spawning* è ragionevole a causa dell'alto dispendio energetico di una deposizione frequente e per il fatto che le aree sfruttabili dagli adulti planctivori sono le stesse disponibili per le larve planctivore (Blaxter e Hunter, 1982).

La sincronizzazione tra temperatura e ciclo riproduttivo è probabilmente una strategia riproduttiva sviluppata per deporre nel periodo dell'anno in cui la stabilità della colonna d'acqua è maggiore, favorendo la concentrazione di alimento e di conseguenza la sopravvivenza larvale. Lo scarso rimescolamento da parte del vento può favorire la permanenza di uova e larve all'interno delle aree di *spawning*, non avendo forti correnti mosse dal vento. Il trasporto fino al mare aperto durante il periodo di deposizione ha un effetto negativo sulla sopravvivenza di larve di specie pelagiche, che vengono trasportate fino a zone dove non c'è sufficiente cibo per sopravvivere (Bailey, 1981; Parrish *et al.*, 1986; Guisande *et al.*, 2001 e 2004).

Ben nota è la relazione che lega l'accrescimento di una popolazione, anche rappresentato dalla variazione nella taglia media, alla produttività dell'area in cui la specie si accresce e riproduce (Basilone *et al.*, 2004). Inoltre, il potenziale riproduttivo per la specie in esame in passato è già stato dimostrato essere correlato alla produzione primaria del periodo precedente l'inizio della stagione riproduttiva (Basilone *et al.*, 2006), mentre nel presente

studio la relazione col potenziale riproduttivo, indicato da AT e TL ma anche da F, S e W, sembra essere confermata anche in relazione alla produzione secondaria durante il periodo di deposizione. Certo la correlazione fra zooplankton e F, S e W risulta non significativa in base al presente data set (poco esteso), tuttavia se si confrontano i trend si riscontra una sincronizzazione interessante che sembra confermare quanto osservato per la specie nel Mar Egeo (Somarakis, 2005; Somarakis et al., 2011) e suggerisce sia di approfondire questo tipo di studi che di ampliare la serie temporale di dati, al fine di poter meglio confermare tali associazioni ed esplorare ulteriormente l'ecologia riproduttiva di specie a deposizione multipla e fecondità indeterminata come l'acciuga. Essa, al di là dell'indubbia importanza economica, costituisce un importante caso di studio per chiarire aspetti legati al potenziale riproduttivo e al suo utilizzo all'interno di modelli di *stock assessment* o per nuovi approcci allo studio ecosistemico della gestione della pesca.

Per quanto questi risultati rappresentino solo delle informazioni puntuali relative al periodo del picco riproduttivo dell'acciuga delle acque della Sicilia meridionale, alla luce di quanto osservato non si può trascurare che anche nel caso della nostra specie target sia necessario un approccio ecosistemico alla gestione dello stock, che non trascuri le dinamiche di popolazione e le caratteristiche dell'ambiente in cui vive, per garantire uno sfruttamento sostenibile e prolungato nel tempo di una risorsa così importante per le marinerie commerciali.

CAPITOLO VI

Conclusioni

L'ecologia riproduttiva dei pesci ha recentemente ricevuto una rinnovata attenzione da parte della comunità scientifica internazionale in seguito alla crescente evidenza di come essa, ed in particolare il potenziale riproduttivo, sia un elemento determinante per comprendere la dinamica delle popolazioni ittiche e per lo *stock assessment*.

Le specie ittiche pelagiche a vita breve, come l'acciuga europea, vivono in un ambiente che per definizione è aperto e quindi altamente esposto ai forzanti ambientali. Come incida la variabilità ambientale sulla fisiologia riproduttiva di questi pesci è stato oggetto di numerosi studi in passato e tutt'ora rappresenta una linea d'investigazione molto aperta (Hunter e Leong, 1981; Nagahama, 1983; Hunter e Macewicz, 1985; Funamoto e Aoki, 2002; Ganas, 2009). In questo lavoro di tesi si è focalizzata l'attenzione su quelli che sono risultati i principali parametri che, dalla letteratura, sembrano influire sul potenziale riproduttivo dei pesci marini: la temperatura e la disponibilità di cibo. Grazie ad un set di dati raccolti nello Stretto di Sicilia, in parte anche durante il presente lavoro di tesi, e che riguardano nove anni di campagne per l'applicazione del metodo ittioplanctonico di *stock assessment* basato sulla produzione giornaliera di uova (DEPM), sono stati calcolati diversi parametri che descrivono la biologia riproduttiva dell'acciuga europea. Inoltre l'applicazione del DEPM ha permesso di ricostruire la dinamica della popolazione d'acciughe nello Stretto di Sicilia, nonché di valutare la variabilità nell'abbondanza di questa risorsa in relazione ai vari parametri riproduttivi e di condizione proprio durante il picco riproduttivo.

Obiettivo di questa ricerca è quello di investigare l'ecologia riproduttiva di una specie chiave dell'ecosistema pelagico e le relazioni tra il potenziale riproduttivo e la variabilità ambientale, al fine di migliorare l'accuratezza e la definizioni dei piani di gestione dello *stock*. Possedere le conoscenze utili ad identificare le cause e le conseguenze delle variazioni del potenziale riproduttivo di una popolazione significa migliorare gli strumenti per un approccio

ecosistemico alla gestione di una risorsa fondamentale per le marinerie commerciali, non solo dell'area di studio.

Una corretta identificazione e classificazione della maturità sessuale degli esemplari adulti è fondamentale negli studi sull'ecologia riproduttiva. La comparazione tra l'utilizzo dell'analisi istologica e la determinazione macroscopica della maturità sessuale ha mostrato come la classificazione macroscopica vada corretta principalmente per differenziare gli stadi di maturità 1 e 2 dal 5 e lo stadio 6 dall'1 e dal 2. La tabella di confronto microscopica-macroscopica può essere utilizzata per ottenere dei coefficienti di correzione per la determinazione macroscopica in generale ed in particolare per gli stadi prima menzionati.

In relazione alle valutazioni sul potenziale riproduttivo l'errore derivante dalla classificazione macroscopica è molto esteso e determina ampie variazioni nella stima della fecondità del lotto (F) e nella stima della frazione deponente (S). Quando questi parametri vengono utilizzati durante l'applicazione di metodi diretti di *stock assessment*, come il DEPM, l'errore nella determinazione macroscopica si traduce in una grossa incertezza sulla stima finale di biomassa. I dati del presente studio, come anche dati in letteratura per questa e per altre specie (Hunter, 1985; ICES, 2004; Ferreri *et al.*, 2009), mostrano come nei pesci a deposizione multipla l'analisi istologica è fortemente suggerita quando si applica il metodo DEPM. Mentre, quando è necessario fare uno studio per la determinazione della taglia di prima maturità sessuale a livello di popolazione, l'utilizzo dell'analisi microscopica sarebbe certamente utile ma difficilmente applicabile su un gran numero di esemplari; in questo caso uno studio istologico per la validazione della scala di maturità macroscopica utilizzata e delle capacità dell'operatore è indispensabile.

I dati ottenuti dall'applicazione del DEPM e la determinazione dell'indice gonadosomatico permettono di caratterizzare il ciclo riproduttivo giornaliero e determinare l'orario del picco di deposizione. I dati mostrano come questo apice venga raggiunto dalle acciughe nelle prime ore della notte: strategia abbastanza comune tra le specie ittiche perché permette di ridurre la predazione sia degli adulti che delle uova (Johannes, 1978; Ferraro, 1980; Robertson, 1991; Wootton, 1998). Poiché la maggior parte degli esemplari è stata catturata

durante le ore diurne e considerando che sia i fenomeni di idratazione che di riassorbimento dei POF 0 avvengono in poche ore, le femmine idratate e il primo degli stadi di riassorbimento dei follicoli postovulatori risultano sottorappresentati. Un campionamento non equamente distribuito nelle 24h si traduce in informazioni non rappresentative della reale composizione della popolazione, soprattutto in relazione alle classi di maturità e alle fasi di degenerazione dei POF.

Le stime di biomassa deponente ottenute tramite applicazione del DEPM hanno dato risultati confrontabili con le stime di altri sistemi diretti di monitoraggio dell'abbondanza quali il metodo acustico. I parametri ottenuti erano simili a quelli già determinati per la specie da precedenti applicazioni del metodo, nelle acque dell'area di studio e del Mediterraneo in generale.

Quando la determinazione di alcuni parametri riproduttivi risulta incerta o meno precisa, non si può essere sicuri di ottenere una stima di biomassa ragionevolmente accurata. In particolare, la valutazione degli indici di importanza e di sensibilità ha mostrato che un'incertezza nel calcolo della frazione deponente e della produzione di uova si traduce in una maggiore variabilità della stima finale, ma anche che questi due parametri forniscono un contributo fondamentale per la determinazione della biomassa riproduttiva.

Il metodo dei follicoli postovulatori rappresenta il metodo più popolare per la stima della frazione deponente nelle popolazioni dei pesci a deposizione multipla. La permanenza dei POF all'interno di un ovario è fortemente influenzata dalla temperatura, ma le testimonianze presenti in letteratura sulla velocità di riassorbimento dei follicoli sono quasi esclusivamente relative a temperature inferiori a quelle registrate nello Stretto di Sicilia, durante la stagione di deposizione dell'acciuga (Hunter e Macewicz, 1985; Funamoto e Aoki, 2002; Alday *et al.*, 2008, solo per citarne alcuni). I risultati ottenuti durante questa ricerca sulla valutazione della durata dei POF rappresentano la prima evidenza che i POF nelle acciughe delle acque siciliane hanno una vita più breve di quella riportata in letteratura ed in passato considerata valida anche per la nostra specie. Inoltre confermano l'importanza di validare il metodo dei follicoli post ovulatori, quando applicato ad una specie o in un ambiente differente da quelli

per cui è stato sviluppato. Di contro, è risultato altrettanto evidente che per ottenere stime accurate di S non si può prescindere dal principio di rappresentatività dei POF e dall'evidenza che un campionamento non omogeneamente distribuito nell'arco delle 24 h comporta una perdita di informazione relativa alla reale abbondanza di ciascuna classe di follicoli.

La grande variabilità interannuale della biomassa è tipica dei piccoli pesci pelagici, come l'acciuga europea, tuttavia, quando sono stati applicati i nuovi criteri di degenerazione dei POF per la determinazione della frazione deponente, i nostri risultati hanno mostrato una variazione maggiore dell'abbondanza dello stock, che è risultata proporzionale alla dimensione della popolazione stessa: variazioni maggiori sono state osservate per gli anni in cui lo stock era più abbondante. Questa evidenza risulta importante allo scopo di una gestione sostenibile della pesca delle acciughe nello Stretto di Sicilia.

Sebbene i dati disponibili siano puntuali e relativi al solo periodo del picco di deposizione, sono risultate significative sia le variazioni interannuali dei parametri considerati che la correlazione tra alcuni di essi e le principali variabili ambientali.

I risultati all'interno del presente lavoro hanno dimostrato che il potenziale riproduttivo risulta influenzato dalle variazioni nella struttura d'età della popolazione anche in specie a vita breve. È stata osservata un'associazione fra l'andamento dell'abbondanza relativa della classe d'età 1 e i valori di produzione giornaliera di uova, indicando come questa classe d'età dia l'apporto maggiore alla produzione di uova, in quanto costituisce la classe del reclutamento, che a sua volta condiziona l'abbondanza dell'intera popolazione. Di contro, se andiamo a confrontare la distribuzione d'età con la fecondità specifica giornaliera (DSF) vediamo come essa sia maggiore negli individui più grandi d'età. Questa tendenza appare confermata dalla correlazione inversa che lega DSF e P . Dal momento che l'età dei riproduttori, maschi e femmine, determina sia la fecondità finale dello stock che l'abbondanza delle uova prodotte, la variabilità interannuale della struttura d'età della popolazione può alterare notevolmente il potenziale riproduttivo dello stock ittico.

L'atresia è risultata più frequente negli individui al termine della loro stagione riproduttiva, ovvero che hanno già deposto tutte le uova. Al contrario i fenomeni atresici sono

praticamente assenti durante la fase di deposizione vera e propria (ovari in idratazione). La ridotta presenza di femmine attive che presentano ovari con apoptosi congiuntamente alle percentuali elevate di atresia riscontrate nelle gonadi esauste confermano che, anche per l'acciuga del Mediterraneo centrale, i valori di atresia che si registrano durante il picco di deposizione siano piuttosto bassi e, dunque, trascurabili quando si stima la fecondità della popolazione.

L'atresia totale non ha mostrato relazioni significative con nessun parametro biologico sebbene si noti un trend simile con il CF. Significativa è, invece, la relazione fra la temperatura superficiale del mare e la percentuale totale di atresia, indicando come la temperatura sia ben correlata in maniera diretta all'insorgenza di processi apoptotici. Inoltre, l'evidenza di una correlazione robusta tra atresia e concentrazione di zooplancton rappresenta uno spunto per studi futuri. Essi avranno il compito di confermare se anche specie *income breeders* come l'acciuga europea reagiscono alle riduzioni nella disponibilità di prede con un sensibile aumento di uova in apoptosi. Ovvero che abbiano la capacità di modulare l'investimento energetico in relazione a stress ambientali come la mancanza di cibo.

L'indice gonadosomatico e il fattore di condizione sono indici usati di frequente per descrivere le condizioni nutrizionali e riproduttive dei pesci. I risultati mostrano un trend simile tra abbondanza di zooplancton e CF, probabilmente attribuibile alla relazione tra taglia media delle femmine e abbondanza delle prede. Robusta è risultata anche l'associazione tra GSI e temperatura, indicando che una maggiore temperatura determini un accrescimento somatico.

Lo stato di salute dello stock di acciughe può essere descritto dall'andamento annuale della biomassa, informazione che nell'area di studio è stata resa disponibile grazie alla serie storica creata dall'IAMC-CNR dal 1998 ad oggi, tramite applicazione del DEPM e determinazione dell'abbondanza mediante *echosurvey*. Le stime DEPM confermano il trend della valutazione acustica della biomassa e mostrano una tendenza alla ripresa dopo i bassi livelli di abbondanza registrati tra il 2006 e il 2008. Tali stime permettono di registrare un

potenziale riproduttivo ancora sufficiente a mantenere il buono stato di salute dello stock, che riesce, anche partendo da livelli molto bassi di biomassa, a riprodursi efficacemente per il mantenimento dello stock nell'area di studio. Tenendo in considerazione che lo sforzo di pesca si è mantenuto relativamente stabile nello stesso periodo, mentre il trend delle catture per unità di sforzo è anche aumentato (Patti et al., 2009b), i risultati suggeriscono l'importanza della variabilità dei fattori ambientali sul successo del reclutamento annuale e/o un possibile aumento della vulnerabilità della risorsa.

L'aumento del livello di sfruttamento unito all'alta variabilità ambientale, osservati negli ultimi dieci anni, pongono un allarme sulla sostenibilità dei livelli attuali di prelievo della risorsa. Infatti, l'alto livello di sfruttamento annuale, stimato dal rapporto fra la quantità totale sbarcata e la biomassa stessa, indica alti livelli di mortalità da pesca dati i livelli bassi della biomassa. Sebbene la stima del 2009 sembra indicare una leggera ripresa e dunque la capacità della popolazione di recuperare perlomeno livelli intermedi di abbondanza, nell'ambito di un approccio conservativo (Reg. CE. N°2371/02) i tassi di sfruttamento dello stock devono ancora essere contenuti e non aumentati.

In sintesi, le principali conclusioni cui ha condotto questa ricerca possono essere sintetizzate come segue:

- Nelle specie a fecondità indeterminata come l'acciuga l'analisi istologica è di fondamentale importanza per un'accurata classificazione della maturità sessuale degli individui, nonché per discriminare individui immaturi e maturi.
- I valori dei parametri riproduttivi hanno dato risultati confrontabili con le stime di altri metodi diretti di *stock assessment* (*echosurvey*) e con quelli già determinati da precedenti applicazioni del metodo.
- La variabilità della frazione deponente e della produzione giornaliera di uova sono risultate quelle maggiormente determinanti nella variabilità delle stime di biomassa.
- I follicoli post-ovulatori nelle acciughe dello Stretto di Sicilia hanno un riassorbimento più rapido di quello riportato in letteratura ed in passato considerato valido anche per la nostra specie.

- Applicando i nuovi ritmi di degenerazione dei POF le stime di frazione deponente sono cambiate significativamente, tuttavia l'effetto della variazione sulle stime di biomassa è risultato essere proporzionale al livello di abbondanza della stessa.
- E' stato dimostrato che l'incidenza dei fenomeni apoptotici viene influenzata dalla temperatura dell'acqua e dall'abbondanza di cibo, tuttavia la presenza di atresia durante il periodo del picco riproduttivo è risultata essere molto ridotta rispetto alla popolazione campionata e di conseguenza con effetti trascurabili sul potenziale riproduttivo.
- Anche in specie a vita breve come l'acciuga, il potenziale riproduttivo, appare correlato alle variazioni nella struttura d'età della popolazione, indicando come popolazioni con più classi d'età abbiano potenziali riproduttivi maggiori.
- Le condizioni fisiologiche e più in particolare la taglia degli individui maturi hanno mostrato di essere correlate in maniera diretta alla disponibilità di cibo, mentre l'indice gonadosomatico risulta inversamente proporzionale alla temperatura dell'acqua.

Bibliografia

- Ahmed Z.F e Ozawa T., 2002. Annual egg production of seasonal population of Japanese anchovy (*Engraulis japonicus*) in Kagoshima Bay, Southern Japan. Pakistan Journal of Biological Science, 5 (6): 728-732.
- Alday A., Uriarte A., Santos M., Martin I., de Murguia A.M. e Motos L., 2008. Degeneration of postovulatory follicles of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.). Sci. Mar., 72: 565–575.
- Alday A., Santos M., Uriarte A., Martin I., Martinez U., Motos L., 2010. Revision of criteria for the classification of Postovulatory Follicles degeneration, for the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus*L.). Rev. Invest. Mar. 17: 165–171.
- Alheit J., 1985. Spawning frequency of Peruvian anchovies. 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: 59-62.
- Alheit J., 1993. Use of the Daily Egg Production Method for estimating biomass of clupeoid fishes: a review and evaluation. Bull. Mar. Sci. 53, 750–767.
- Alheit J., Alarcon V.H. e B.J. Macewicz, 1984. Spawning frequency and sex ratio in the Peruvian anchovy, *Engraulis ringens*. Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep., 25: 43-52.
- Armstrong M., Shelton P., Hampton I., Jolly G. e Melo Y., 1988. Egg production estimates of anchovy biomass in the Southern Benguela system. CalCOFI Reports, XXIX: 137–157.
- Armstrong M.J., Connolly P., Nash R.D.M., Pawson M.G., Alesworth E., Coulahan P.J., Dickey-Collas M., Milligan S.P., O'Neill M.F., Witthames P.R. e Woolner, L., 2001. An application of the annual egg production method to estimate the spawning biomass of cod (*Gadus morhua* L.), plaice (*Pleuronectes platessa* L.) and sole (*Solea solea* L.) in the Irish Sea. ICES J. Mar. Sci., 58 (1): 183–203.
- Armsworth P.R., 2001. Directed motion in the sea: efficient swimming by reef fish larvae. J. Theor. Biol. 210: 81–91.
- Bailey K.M., 1981. Larval transport and recruitment of Pacific hake, *Merluccius productus*. Mar. Ecol. Prog. Ser., 6: 1–9.

- Barbin G.P. e McCleave J.D., 1997. Fecundity of the American eel *Anguilla rostrata* at 45° N in Maine, U.S.A. *Journal of Fish Biology*, 51: 840–847
- Barr W.A., 1963. The endocrine control of the sexual cycle in the plaice, *Pleuronectes platessa* (L.) I. Cyclical changes in the normal ovary. *General and Comparative Endocrinology* 3: 197–204.
- Basilone G., Guisande C., Patti B. et al., 2004. Linking habitat conditions and growth in the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*). *Fish. Res.* 68: 9–19.
- Basilone G., Guisande C., Patti B., Mazzola S., Cuttitta A., Bonanno A., Vergara A.R. e Maneiro I., 2006. Effect of habitat conditions on reproduction of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily. *Fish. Oceanogr.* 15:4, 271–280.
- Begenal T.B., 1973. Fish fecundity and its relations with stock and recruitment. *Rapports and Proces-Verbeaux des Reunions, Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, 164: 186–198.
- Begum M., Islam M.A, Pal H.K. e Alam M.J., 2010. Reproductive characteristics of *Liza parsia* (Ham.) inhabiting South-West coast of Bangladesh. *J. Bangladesh Agril. Univ.*, 8 (1): 173-178.
- Belvéze H. e Erzini K., 1983. The influence of hydro-climatic factors on the availability of the sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum) in the Moroccan Atlantic fishery. In: *FAO Fish. Report*, 291(2): 285-328.
- 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): 157-163.
- Bindman A.G., 1986. The 1985 spawning biomass of the Northern anchovy. *CalCOFI Rep.*, 27: 16-24.
- Blaxter J. e Hunter J.R., 1982. The biology of the clupeoid fishes. *Adv. Mar. Biol.*, 20: 1–123.
- Bonanno A., Patti B., Basilone G., Cuttitta A., Buscaino G., 2001. Variazioni ponderali nell'Acciuga Europea (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) dopo fissazione in formalina durante il picco riproduttivo nello Stretto di Sicilia. *Technical Report N.ED/TN/AB-BP-GB-AC-GB/2/0101/REL*. 5pp.

- Bouain A. e Siau Y., 1983. Observation of the female reproductive cycle and fecundity of three species of groupers (*Epinephelus*) from the southeast Tunisian seashores. *Marine Biology*, 73: 211–220.
- Bromley P.J., Ravier C. e Witthames P.R., 2000. The influence of feeding regime on sexual maturation, fecundity and atresia in first-time spawning turbot. *Journal of Fish Biology*, 56: 264–278.
- Brooks S., Tyler C.R. e Sumpter J.P., 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Rev. Fish Biol. Fish.* 7: 387–416.
- Campana S.E., Gagné J.A. e Munro J., 1987. Otolith microstructure of Larval Herring (*Clupea harengus*): Image or Reality? *Canadian Journal Fishery and Aquatic Science*, 44: 1922–1929.
- Cardinale M. e Arrhenius F., 2000. The influence of stock structure and environmental conditions on the recruitment process of Baltic cod estimated using a generalized additive model. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57: 2402–9.
- Cermeño P., Uriarte A., Morales-Nin B., Cotano U. e Álvarez P., 2003. Setting up interpretation criteria for ageing juvenile european anchovy otoliths. *Scientia Marina*, 72(4): 733-742.
- Clearwater S.J. e Pankhurst N.W., 1997. The response to capture and confinement stress of plasma cortisol, plasma sex steroids and vitellogenic oocytes in the marine teleost, red gurnard. *Journal of Fish Biology*, 50: 429–441.
- Corriero A., Zupa R., Bello G., Mylonas C. C., Santamaria N., Deflorio M., Genovese S., Basilone G., Buscaino G., Buffa G., Pousis C. e De Metrio G., 2011. Evidence that severe acute stress and starvation induce rapid atresia of ovarian vitellogenic follicles in Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus* (L.) (Osteichthyes: Scombridae). *Journal of Fish Diseases*. doi:10.1111/j.1365-2761.2011.01303.x.
- Cotero-Altamirano C.E. e Green-Ruiz Y., 1997. Anchovy spawning biomass in Gulf of California, CalCOFI Rep., Vol. 38: 171 – 179.
- Coward K., Bromage N.R. e Little D.C., 1998. Inhibition of spawning and associated suppression of sex steroid levels during confinement in the substrate-spawning *Tilapia zillii*. *Journal of Fish Biology*, 52: 152–165.

- Coward K. e Bromage N., 1999. Spawning frequency, egg size and ovarian histology in groups of *Tilapia zillii* maintained upon two distinct food ration sizes from first-feeding to sexual maturity. *Aquat. Living Resour.*, 12 (1): 11–22.
- Crick M.J., Hill M.D. e Charles D., 1987. The Role of Sensitivity Analysis in Assessing Uncertainty. In: *Proceedings of an NEA Workshop on Uncertainty Analysis for Performance Assessments of Radioactive Waste Disposal Systems*, Paris, OECD, pp. 1-258.
- Cubillos L.A., Ruiz P., Claramunt G., Gacitúa S., Núñez S., Castro L.R., Riquelme K., Alarcón C., Oyarzun C., Sepúlveda A., 2007. Spawning, daily egg production, and spawning stock biomass estimation for common sardine (*Strangomera bentincki*) and anchovy (*Engraulis ringens*) off central southern Chile in 2002. *Fish. Res.* 86: 228 – 240.
- 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: 117 – 120.
- Dickerson T.L., Macewicz B.J. e Hunter J.R., 1992. Spawning frequency and batch fecundity of chubmackerel *Scomber japonicus*, during 1985. *Calif.Coop.Oceanic Fish. Invest. Rep.*, 33: 130–140.
- Dixon W.J. e Brown M.B., (eds), 1979. *Biomedical computer programs. P-series*. University of California Press, Berkeley.
- Domínguez-Petit R., 2007. *Study of Reproductive Potential of Merluccius Merluccius in the Galician Shelf*. Doctoral Thesis. University of Vigo, Vigo, Spain: 253 pp.
- Downing D.J., Gardner R.H. e Hoffman E.O., 1985. An Examination of Response-Surface Methodologies for Uncertainty Analysis in Assessment Models. *Technometrics*, 27: 151-163.
- Draper N.R. e Smith H., 1966. *Applied regression analysis*. Ed. John Wiley and Sons, N.Y., pp. 407.
- Ettahiri O., Berraho A., Vidy G., Ramdani M., Dochi T., 2003. Observation on the spawning of Sardina and Sardinella off the south Moroccan Atlantic coast (21–26°N). *Fisheries Research* 60: 207–222.
- Ferraro S. P., 1980. Embryonic development of Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus*, and a fish embryo age estimation method. *Fish. Bull.*, 77:943-949.

- Ferreri R., Basilone G., D'Elia M., Traina A., Saborido-Rey F. e Mazzola S., 2009. Validation of macroscopic maturity stages according to microscopic histological examination for European anchovy. *Marine Ecology*, 30 (Suppl. 1): 181–187
- Fiorentino F., S. Mazzola, G. Garofalo, B. Patti, M. Gristina, A. Bonanno, D. Massi, G. Basilone, A. Cuttitta, G.B. Giusto, S. Gancitano, G. Sinacori, P. Rizzo, D. Levi, S. Ragonese, 2005. Lo stato delle risorse demersali e dei piccoli pelagici e le prospettive di pesca "sostenibile" nello Stretto di Sicilia. Convenzione con Assessorato Regione Siciliana Cooperazione, Commercio, Artigianato e Pesca, Mazara del Vallo, Italia. ID/TN/FF-SM-GG-BP-MG-AB-DM-GB-AC-GBG-SG-GS-PR-DL-SR/8/0305/REL.1: 136 pp.
- Fitzhugh R.G. e Hettler F.W., 1995. Temperature influence on postovulatory follicle degeneration in Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus*. *Fishery Bulletin*, 93:568–572.
- Frimodt C., 1995. Multilingual illustrated guide to the world's commercial warmwater fish. Fishing News Books, Osney Mead, Oxford, England. 215 p.
- Fulton T. W., 1898. On the growth and maturation of the ovarian eggs of the teleostean fishes. *Ann. Rep. Fish. Board Scot.*, 16: 88-124.
- Fuiman L. A., 1993. Development of predator evasion in Atlantic herring, *Clupea harengus* L. *Anim. Behav.*, 45: 191-299.
- Funamoto T. e I. Aoki, 2002. Reproductive ecology of Japanese anchovy off the Pacific coast of eastern Honshu. *Japan. J. Fish. Biol.*, 60 (1), 154-169.
- Furnestin J. e Furnestin M.L., 1959. La reproduction de la sardine et de l'anchois des cotes atlantiques du Maroc. *Rev. Trav. Inst. Peches Marit.*, 23:79–102.
- Ganias K., 2003. Oceanographic and biological study of sardine *Sardina pilchardus* (Walb, 1792) ichthyoplankton production in coastal waters of central Greece. Ph. D. Thesis, University of Thessaly, Volos, Greece.
- Ganias K., Somarakis S., Machias A. e Theodorou A., 2003. Evaluation of spawning frequency in a Mediterranean sardine population (*Sardina pilchardus*). *Mar. Biol.* 142: 1169–1179.
- Ganias K., 2008. Ephemeral spawning aggregations in the Mediterranean sardine, *Sardina pilchardus*: a comparison with other multiple-spawning Clupeoids. *Mar Biol*, 155:293–301.

- Ganias K., Nunes C. e Stratoudakis Y., 2008. Use of late ovarian atresia in describing spawning history of sardine, *Sardina pilchardus*. *Journal of Sea Research*, 60: 297–302.
- Ganias, K., Nunes C., e Stratoudakis Y., 2007. Degeneration of sardine (*Sardina pilchardus*) postovulatory follicles: structural changes and factors affecting resorption. *U.S. National Marine Fisheries Service Fishery Bulletin*, 105: 131–139.
- Ganias K., 2009. Linking sardine spawning dynamics to environmental variability. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 84: 402–408.
- Ganias K., 2011. Thirty years of using the postovulatory follicles method: Overview, problems and alternatives. *Fish. Res.*, doi:10.1016/j.fishres.2011.01.009.
- García Lafuente J., García A., Mazzola S., Quintanilla L., Delgado J., Cuttitta A., Patti B., 2002. Hydrographic phenomena influencing early life stages of the Sicilian. Channel anchovy. *Fish. Oceanogr.*, 11(1): 31-44.
- Giráldez A. e Abad R., 1995. Aspects on the reproductive biology of the Western Mediterranean anchovy from the coasts of Malaga (Alboran Sea). *Sci. Mar.* 59:15–23.
- Goldberg S.R., Alarcon V., Alheit J., 1984. Postovulatory follicle histology of the pacific sardine, *Sardinops sagax*, from Peru. *Fish. Bull.*, 82: 443–445.
- Grancini G.F. e 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): 75-88.
- Guisande C., Cabanas J.M., Vergara A.R. e Riveiro I., 2001. Effect of climate on recruitment success of Atlantic Iberian sardine (*Sardina pilchardus*). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 223: 243–250.
- Guisande C., Vergara A.R., Riveiro I. e Cabanas J.M., 2004. Climate change and abundance of the Atlantic Iberian sardine (*Sardina pilchardus*). *Fish. Oceanogr.*, 13: 91–101.
- Guraya S.S., 1986. The cell and molecular biology of fish oogenesis. *Monor. Develop. Biol.* (Karger, Basel) 18: 223 pp.
- Hay D. E., Brett J. R., Bilinski E., Smith D. T., Donaldson E. M., Hunter G. A. e Solmie A. V., 1988. Experimental impoundments of prespawning Pacific herring (*Clupea harengus pallasii*): effects of feeding and density on maturation, growth, and proximate analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 45: 388–398.

- Hislop J. R. G., 1988. The influence of maternal length and age on the size and weight of the eggs and the relative fecundity of haddock, *Melanogrammus aeglefinus*, in British waters. *J. Fish Biol.*, 32: 923–930.
- Hjort J., 1914. Fluctuations in the year classes of important food fishes. *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, 1: 5-38.
- Hoffman E.O. e Gardner R.H., 1983. Evaluation of Uncertainties in Environmental Radiological Assessment Models. in: Till, J.E.; Meyer, H.R. (eds) *Radiological Assessments: a Textbook on Environmental Dose Assessment*. Washington, DC: U.S. Nuclear Regulatory Commission; Report No. NUREG/CR-3332.
- Holden M.J. e Raitt D.F.S., 1974. *Manual of fisheries science. 2. Methods of resource investigation and their application*. FAO Fisheries Technical Paper, 115, Rev. 1: 211 pp.
- Holt G. J. e Riley M.C., 2000. Laboratory spawning of Coral Reef Fish: effects of temperature and photoperiod. UJNR Technical Report No. 28: 33-38.
- Hoyle S., Nicol S. e Itano D., 2009. Revised Biological Parameter Estimates For Application In Yellowfin Stock Assessment. WCPFC-SC5-2009/BI- WP -3 rev 2. 10-21 August 2009 Port Vila, Vanuatu.
- Hunt von Herbing I., Gallager S.M., Halteman W., 2001. Metabolic costs of pursuit and attack in early larval Atlantic cod. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 216: 201– 212.
- Hunter J.R., 1985. Preservation of Northern anchovy in formaldehyde solution. In: Lasker, R. (Ed.), *An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic Fish: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax**. NOAA Technical Report No. NMFS, 36: 63-64.
- Hunter J.R. e Goldberg S.R., 1980. Spawning incidence and batch fecundity in northern anchovy (*Engraulis mordax*). *Fish. Bull. U. S.* 78: 811-816.
- Hunter J.R. e Leong R., 1981. The spawning energetics of female northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull. U.S.*, 79: 215-230.
- Hunter J.R. e Lo N.C.H., 1997. The daily egg production method of biomass estimation: some problems and potential improvements. *Ozeanografika*, 2:41–69.
- Hunter J.R., Lo N.C.H. e Leong R.H.J., 1985. Batch fecundity in multiple spawning fishes. In: Lasker, R. (Ed.), *An Egg Production Method for Estimating Spawning Biomass of Pelagic*

Fish: Application to the Northern Anchovy, *Engraulis mordax*. NOAA Technical Report No. NMFS, 36: 67–77.

Hunter J.R. e Macewicz B. J., 1980. Sexual maturity, batch fecundity, spawning frequency and temporal pattern in the northern anchovy, *Engraulis mordax*, during the 1979 spawning season. Calif. Coop Oceanic Fish Invest. Rep. 21:139-149.

Hunter J.R. e 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, 36:41–69.

Hunter J.R., Macewicz B. J. e Sibert J.R., 1986. The spawning frequency of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the South Pacific. Fishery Bulletin: VOL. 84, NO.4: 895 – 903.

ICES, 2004. The DEPM estimation of spawning-stock biomass for sardine and anchovy. Rapport des Recherches Collectives, Vol. 268, ICES, Pasara: 95 pp.

ICES, 2008. Report of the Workshop on Small Pelagics (*Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus*) maturity stages (WKSPMAT). ICES REPORT, 10–14 November 2008, Mazara del Vallo, Italy. pp.82.

IREPA, 2010. Osservatorio economico sulle strutture produttive della pesca marittima in Italia 2008. Napoli: Edizioni Scientifiche Italiane, pp. 184.

Jakobsen T., Fogarty M.J., Megrey B.A. e Moksness E., 2009. Fish Reproductive Biology: implications for assessment and management. West Sussex, U.K.: John Wiley and Sons, Ltd., pp. 429.

Jackson G. e Cheng Y.W., 2001. Parameter estimation with egg production surveys to estimate snapper, *Pagrus auratus*, biomass in Shark Bay, Western Australia. J. Agric. Biol. Environ. Stat., 6: 243–257.

Jennings S., Kaiser M.J. e Reynolds J.D., 2001. Marine fisheries ecology. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, pp. 417.

Jessen R. J., 1978. Statistical Survey Techniques. John Wiley & Sons, Inc., New York., pp. 520.

Johannes R.E., 1978. Reproductive strategies of coastal marine fishes in the tropics. Environ. Biol. Fish., 3: 65-84.

- Kamler E., 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 15: 399-421.
- Kawaguchi K., Yamashita Y. e Hayashi, A., 1990. Some aspects of spawning of the reared Japanese anchovy (*Engraulis japonicas* H.) in relation to the photoperiod, water temperature and starvation. *Bull. Jpn. Soc. Fish. Oceanogr.*, 54 (4): 364–372.
- Kjesbu O.S., Klungsøyr J., Kryvi H., Witthames P.R., Greer Walker M., 1991. Fecundity, atresia, and egg size of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to proximate body composition. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 2333–2343.
- Kjesbu O.S., Witthames P.R., Solemdal P. e Greer Walker M., 1998. Temporal variations in the fecundity of Arcto-Norwegian cod (*Gadus morhua*) in response to natural changes in food and temperature. *Journal of Sea Research* 40 (3–4): 303–321.
- Kjesbu O.S., Fonn M., Dunia Gonzáles B. e Nilsen T., 2010. Stereological calibration of the profile method to quickly estimate atresia levels in fish. *Fisheries Research*, 104: 8–18.
- Krieger T.J., Durston C. e Albright D.C., 1977. Statistical Determination of Effective Variables in Sensitivity Analysis. *Trans. Am. Nuc. Soc.* 28, 515-516.
- Lambert Y. e Dutil J.D., 1997. Can simple condition indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*)? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54 (Suppl. 1): 104–112.
- Lambert Y., Yaragina N.A., Kraus G., Marteinsdottir G. e Wright P.J., 2003. Using environmental and biological indices as proxies of egg and larval production of marine fish. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 33: 115-159.
- Lambert Y., 2008. Why should we closely monitor fecundity in marine fish populations? *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 41: 93-106.
- Lapolla A.E., 2001. Bay anchovy *Anchoa mitchilli* in Narragansett Bay, Rhode Island. II. Spawning season, hatch-date distribution and young-of-the-year growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 217: 103–109.
- Lasker R., 1978. The relation between oceanographic conditions and larval anchovy food in the California current: identification of factors contributing to recruitment failure. In: Report P.-V. Reun. Cons. Int. Explor. Mer., 173: 212-230.
- Lisovenko L.A. e Andrianov D.P., 1996. Reproductive biology of anchovy (*Engraulis encrasicolus ponticus* Alexandrov 1927) in the Black Sea. *Scientia Marina*, 60: 209-218.

- Lleonart J. e Maynou F., 2003. Fish stock assessments in the Mediterranean: state of the art. *Scientia Marina*, 67: 37–49.
- Lloret J. e Rätz H. J., 2000. Condition of cod (*Gadus morhua*) off Greenland during 1982–1998. *Fish Res* 48: 79–86.
- Lo N.C.H., Geen Ruiz Y.A., Jaacob Cervantes M., Moser H.G. e Lynn R. J., 1996. Egg production and spawning biomass of Pacific sardine (*Sardinops sagax*) in 1994, determined by the daily egg production method. *Calif. Coop. Oceanic. Fish. Investig. Rep.* 37:160–174.
- Lo N.C.H., Macewicz B.J. e Griffith D.A., 2011. Spawning biomass of Pacific Sardine (*Sardinops sagax*) off U.S. in 2011. Agenda Item F.2.b Attachment 2 (Electronic Only) November 2011. 42 pp.
- Lowerre-Barbieri S.K., Chittenden Jr. M.E. e Barbieri L.R., 1996. Variable spawning activity and annual fecundity of weakfish in Chesapeake Bay. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 125: 532–545.
- Luna L. G., 1968. Manual of histological staining methods of the Armed Forces, Institute of Pathology. Third edition. McGraw-Hill, New York, 81pp.
- Luo J. e Musick J., 1991. Reproductive biology of the Bay Anchovy, *Anchoa mitchilli*, in Chesapeake Bay. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 120: 801–710.
- Ma Y., Kjesbu O. S. e Jørgensen T., 1998. Effects of ration on the maturation and fecundity in captive Atlantic herring (*Clupea harengus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 55, 900–908.
- Macewicz B.J., Castro-Gonzalez J.J., Coterio-Altamirano C.E. e Hunter J.R., 1996. Adult reproductive parameters of Pacific sardine (*Sardinops sagax*) during 1994. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.*, 37: 140–151.
- 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): 1021-1035.
- Margulies T., Lancaster L. e Kornasiewicz R.A., 1991. Uncertainty and Sensitivity Analysis of Environmental Transport Models for Risk Assessment. In: *Engineering Applications of Risk Analysis*, Atlanta, GA: ASME, 11-19.

- 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 cod? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 55 (7), 1766–1783.
- Marshall C.T. e Frank K. T., 1999. The effect of interannual variation in growth and condition of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) on recruitment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 56: 347–355.
- 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., García A., Quintanilla L.F., Cortes D., Baro J., Carpena A., Serna J.M., García Lafuente J., Vargas J. M., Criado F., Sarhan T. e 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., Stengard F.J. e Mahmoudi B., 2002. Maturation and diel reproductive periodicity of round scad (*Carangidae: Decapterus punctatus*). *Mar. Biol.*, 140: 713–722.
- Militelli M.I. e Macchi G.J., 2004. Spawning and fecundity of king weakfish, *Macrodon ancylodon*, in the Río de la Plata estuary, Argentina-Uruguay. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 84: 443-447.
- Millán M., 1999. Reproductive characteristics and condition status of anchovy *Engraulis encrasicolus* L. from the Bay of Cadiz (SW Spain). *Fish. Res.* 41:73–86.
- Milton D.A., Blaber S.J.M. e Rawlinson N.J.F., 1994. Reproductive biology and egg production of three species of Clupeidae from Kiribati, tropical central Pacific. *Fish. Bull.*, 92: 102-121.
- Milton D.A., Blaber S.J.M. e Rawlinson J.F., 1995. Fecundity and egg production of four species of short-lived clupeoid from Solomon Islands, Tropical South Pacific. *ICES J. Mar. Sci.*, 52: 111-125.
- Miranda A.C.L., Bazzoli N., Rizzo E. & Sato Y., 1999. Ovarian follicular atresia in two teleost species: a histological and ultrastructural study. *Tissue and Cell*, 31: 480–488.
- Moretti M., Sansone E., Spezie G. e De Maio A., 1993. Results of investigations in the Sicily Channel (1986-1990). *Deep-Sea Research II* 40 (6): 1181-1192.

- Morgan M.J. e Bratney 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: 65–74.
- Moser H. G. e Ahlstrom H. E., 1985. Staging Anchovy Eggs. 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: 37-41.
- Motos L., 1994. Estimación de la biomasa desovante de la población de anchoa del Golfo de Vizcaya, *Engraulis encrasicolus*, a partir de su producción de huevos. Bases metodológicas y aplicación. Doctoral Thesis. Universidad del País Vasco. 240 pp.
- Motos L., Uriarte A. e Valencia V., 1996. The spawning environment of the Bay of Biscay anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.). *Sci. Mar.* 60:117–140.
- Murua H., Kraus G., Saborido-Rey F., Witthames P. R., Thorsen A. e Junquera S., 2003. Procedures to estimate fecundity of marine fish species in relation to their reproductive strategy. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 33: 33-54.
- Murua H. e Motos L., 2006. Reproductive strategy and spawning activity of the European hake *Merluccius merluccius* (L.) in the Bay of Biscay. *J. Fish Biol.* 69: 1288–1303.
- Murua H., Ibaibarriaga L., Álvarez P., Santos M., Korta M., Santurtun M. E Motos, L., 2010. The daily egg production method: a valid tool for application to European hake in the Bay of Biscay? *Fish. Res.*, 104: 100–110.
- Mylonas C.C., Woods L.C. III e Zohar Y., 1997. Cyto-histological examination of post-vitellogenesis and final oocyte maturation in captive-reared striped bass. *Journal of Fish Biology*, 50: 34–49.
- Nagahama Y., 1983. The functional morphology of teleost gonads. *Fish physiol.* IXA. W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson eds: 223-276.
- Nielsen J.D., 1992. Sources of error in otolith microstructure examination. *Canadian Special Publication Fishery and Aquatic Science*, 117: 115–125.
- Onken R. e Sellschopp J., 1998. Seasonal Variability of Flow Instabilities in the Strait of Sicily. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 103, C11: 24799-24820.

- Palmer E.E., Sorensen P.W. e Adelman I.R., 1995. A histological study of seasonal ovarian development in freshwater drum in the Red Lakes, Minnesota. *J. Fish Biol.*, 47: 199–210.
- Palomera I., 1992. Spawning of anchovy, *Engraulis encrasicolus* L., in the Northwestern Mediterranean relative to hydrographic features in the region. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 79:215–223.
- Palomera I. e Pertierra J.P., 1993. Anchovy spawning biomass estimate by the Daily Egg Production Method in 1990 in the western Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 57: 243-251
- Parker K., 1980. A direct method for estimating northern anchovy, *Engraulis mordax*, spawning biomass. *Fish. Bull. U.S.* 78: 541-544.
- Parrish R.H., Mallicoate D.L. e Klingbeil R.A., 1986. Age dependent fecundity, number of spawnings per year, sex ratio, and maturation stages in northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish. Bull. U.S.*, 84: 503-517.
- Patti B., Bonanno A., Basilone G., Goncharov S., Mazzola S., Buscaino G., Cuttitta A., Garcia La Fuente J., Garcia A., Palumbo V. e Cosimi G., 2004. Interannual fluctuations in acoustic biomass estimates and in landings of small pelagic fish populations in relation to hydrology in the Strait of Sicily. *Chemistry and Ecology*, 20 (5): 365–375.
- Patti B., Bonanno A., Basilone G., Quinci E.M., Mazzola S., 2009a. Sardine, *Sardina pilchardus*- GSA16 (South of Sicily) presented at General Fisheries Commission for the Mediterranean, 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.
- Patti B., Bonanno A., Basilone G., Quinci E.M., Mazzola S., 2009b. 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.
- Peebles E.R., 2002. Temporal resolution of biological and physical influences on bay anchovy *Anchoa mitchilli* egg abundance near a river-plume frontal zone. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 237: 257–269.

- Pérez N., García A., Lo N.C.H. e Franco C., 1989. The egg production method applied to the spawning biomass estimation of sardine (*Sardina pilchardus* W) in the North-Atlantic Spanish coast. ICES CM Documents, H23: 1–20.
- Pérez N., Figueiredo I. e Macewicz B.J., 1992. The spawning frequency of sardine, *Sardina pilchardus* (Walb.), off the Atlantic Iberian coast. Bol. Inst. Esp. Oceanogr., 8: 175–189.
- Picquelle S.J. e Hewitt R.P., 1983. The Northern Anchovy spawning biomass for the 1982 and 1983 California fishing season. CalCOFI Report, 24: 16–28.
- Picquelle S.J. e 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: 7-16.
- Priede I.G. e Watson J.J., 1993. An evaluation of the daily egg-production method for estimating biomass of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*). Bull. Mar. Sci., 53: 891–911.
- Quintanilla L. F. e Garcia A. , 2001a. Daily egg production method for estimating Sicilian channel anchovy spawning biomass in 1998 and 1999. Rapport de la Commission International pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranéé, 36: 312.
- Quintanilla L. F. e Garcia A. , 2001b. 1999 Sicilian channel anchovy daily egg production spawning biomass. Document Presented to the GFCM e SAC Subcommittee on Stock Assessment Working Group on Small Pelagic Species, Kavala, Greece, March 2001. 14 pp.
- Rapporto Annuale sulla Pesca e sull'Acquacoltura in Sicilia 2009. Distretto Produttivo della Pesca, Osservatorio della Pesca del Mediterraneo, 260pp.
- Regner S., 1996. Effects of environmental changes on early stages and reproduction of anchovy in the Adriatic Sea. Sci. Mar. 60: 167–177.
- Reid L. A., 1966. An Ivatan syntax. Ph.D. thesis. University of Hawaii. 160 pp.
- Rice J.A., Crowder L.B., 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: 467–472.

- Rideout e Tomkiewicz, 2011. Skipped spawning in fishes: more common than you might think. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science* 3: 176–189.
- Rinelli P., Giordano D., Perdichizzi F., Busalacchi B., Profeta A. e Greco S., 2005. Lo Stato delle risorse demersali e dei piccoli pelagici nel Basso Tirreno siciliano. Istituto per l'Ambiente Marino Costiero IAMC-CNR, Messina. 51 pp.
- Robertson D.R., 1991. The role of adult biology in the timing of spawning of tropical reef fishes. In: Sale PF (ed) *The ecology of fishes on coral reefs*. Academic Press, San Diego, pp: 356-386.
- Robinson A.R., Warn-Varnas A., Sellschopp J., Leslie W. G., Haley P. J., Lozano C. J., Sloan N.Q., e 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, 177– 223.
- Rothschild B.J., 1986. *Dynamics of Marine Fish Populations*. Harvard University Press, Cambridge, 277 pp.
- Roumillat W.A. e Brouwer M.C., 2004. Reproductive dynamics of female spotted sea trout (*Cynoscion nebulosus*) in South Carolina. *Fish. Bull.*, 102: 473–487.
- Saborido-Rey F. e Junquera S., 1998. Histological assessment of variations in sexual maturity of cod (*Gadus morhua* L.) at the Flemish Cap (north-west Atlantic). *ICES Journal of Marine Science*, 55: 515–521.
- Saidapur S.K., 1978. Follicular atresia in the ovaries of non-mammalian vertebrates. *International Review of Cytology* 54: 225–244.
- Saidapur K.S., 1982. Structure and function of postovulatory follicles (*corpora lutea*) in the ovaries of nonmammalian vertebrates. *Int. Rev. Cytol.* 75: 243–285.
- Sanz A. e Uriarte A., 1989. Reproductive cycle and batch fecundity of the Biscay anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in 1987. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 30: 127-135.
- Seber G .A. F., 1973. *The estimation of animal abundance and related parameters*. Hafner Press, N.Y., 506 pp.

- Shapiro S.S., Wilk M. B. e Chen H. J., 1968. A comparative study of various tests of normality. *Journal of the American Statistical Association*, 63: 1343-1372.
- Shatunovskii M.I., 2006. Some Patterns of Age and Geographical Variation in Fish Fecundity. *Biology Bulletin*, 33(2): 195–198.
- Siegel S. e Castellan N. J., 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. McGraw-Hill Book Co., New York, 399 pp.
- Sinovčić G., 1996. The population dynamics of the juvenile anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L.), under the Estuarine conditions (Novigrad Sea - Central Eastern Adriatic) . In Leonart J. (ed.) . *Dynamique des populations marines = Marine populations dynamics* . Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, 1998. p. 273-282 : 1 ill. 7 graphs. 2 tables. 15 ref. (Cahiers Options Méditerranéennes ; v. 35), Deuxième Réunion du Groupe de Travail DYNPOP, 1996/10/02-05, Genova (Italy).
- Smith P.E. e Hewitt R.P., 1985. Sea survey design and analysis for an egg production method of anchovy biomass assessment. In: R. Lasker (Ed.), *An egg production method for estimating spawning biomass of pelagic fish: Application to the northern anchovy, Engraulis mordax*. NOAA Tech. Rep. NMFS 36, 17-26.
- Somarakis S., 2005. Marked interannual differences in reproductive parameters and daily egg production of anchovy in the northern Aegean Sea. *Belg. J. Zool.*, 135 (2): 247-252.
- Somarakis S., Maraveya E. e Tsimenides N., 2000. Multispecies ichthyoplankton associations in epipelagic species : Is there any intrinsic adaptive function? *Belg. J. Zool.*, 130 (Suppl. 1): 125-129.
- Somarakis S., Gantias K., Tserpes G. e Koutsikopoulos C., 2004. Ovarian allometry and the use of the gonadosomatic index: a case study in the Mediterranean sardine, *Sardina pilchardus*. *Marine Biology*, 146: 181-189.
- 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., Gantias K., Siapatis A., Koutsikopoulos C., Machias A. e Papaconstantinou C., 2006. Spawning habitat and daily egg production of sardine in the eastern Mediterranean. *Fish. Oceanogr.*, 15: 281-292

- Stratoudakis Y., Bernal M., Ganias K., Uriarte A., 2006. The daily egg production method (DEPM): recent advances, current applications and future challenges. *Fish Fish.* 7: 35–57.
- Somarakis S., Schismenou E., Siapatis A., Giannoulaki M., Kallianiotis A. e Machias A., 2011. 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* (Amsterdam).
- Tanaka S., 1984. Variation of pelagic fish stocks in waters around Japan. In *Proceeding of the Expert Consultation to Examine Changes in Abundance and Species Composition of Neritic Fish Resources*. Eds. G. D. Sharp and J. Csirke. In: *FAO Fish. Report*, 291(2): 17–36.
- Taylor R.G., Grier H.J., Whittington J.A., 1998. Spawning rhythms of common snook in Florida. *J. Fish Biol.* 53: 502–520.
- Thorsen A. e Kjesbu O. S., 2001. A rapid method for estimation of oocyte size and potential fecundity in Atlantic cod using a computer-aided particle system. *J. Sea Res.* 46: 295 – 308.
- Trippel E.A. e Morgan M.J., 1994a. Age specific paternal influences on reproductive success in Atlantic cod (*Gadus morhua*) of the Grand Banks, Newfoundland. *ICES Mar. Sci. Symp.*, 198: 414–422.
- Trippel E.A. e Morgan M.J., 1994b. Sperm longevity in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Copeia*, 1994: 1025–1029.
- Trippel E. A., Kjesbu O. S. e Solemdal P., 1997. Effects of adult age and size structure on reproductive output in marine fishes. In: *Early life history and recruitment in fish populations*. R. C. Chambers and E. A. Trippel (eds.). Chapman and Hall, New York, pp. 31–62.
- Trippel E.A. e Morgan M.J., 1997. Skewed sex ratios in spawning shoals of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Oceanographic Literature Review*, 44: 511 pp.
- 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.

- Uriarte A., Sagarminaga Y., Scalabrin C., Valencia V., Cermeño P., de Miguel E., Gomez Sanchez J.A. e Jiménez M., 2001. Ecology of anchovy juveniles in the Bay of Biscay 4 months after peak spawning: Do they form part of the plankton? ICES CM 2001/W:20.
- Uriarte A., Dueñas C., Duhamel E., Grellier P., Rico I. e Villamor B., 2007. 2006 Anchovy Otolith Workshop. Working Document to the 2007 ICES Planning Group on Commercial Catch, Discards and Biological Sampling (PGCCDBS).
- Uriarte A., Rico I., Villamor B., Duhamel E., Bourdeix J.H., Hernandez C. e Dueñas C., 2009. Anchovy age determination (for the Bay of Biscay and gulf of Lion anchovy). Presentation to the ICES Workshop on Age reading of European anchovy (WKARA). Mazara del Vallo, Italy, 9–13 November 2009.
- Uriarte A., Alday A., Santos M. e Motos L., 2011. A re-evaluation of the spawning fraction estimation procedures for Bay of Biscay anchovy, a species with short interspawning intervals. Fish. Res., doi:10.1016/j.fishres.2011.03.002.
- Van Leeuwen C.J., P.S. Griffioen, W.H.A. Vergouw e J.L. Maas-Diepeveen, 1985. Differences in susceptibility of early life stages of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to environmental pollutants. Aquatic Toxicology, 7: 59-78.
- de Vlaming V.L., 1971. The effects of food deprivation and salinity changes on reproductive function in the estuarine gobiid fish, *Gillichthys mirabilis*. The Biological Bulletin 141: 458–471.
- Wallace A. R. e Selman K., 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am Zool, 21: 325–343.
- Wang S.B. e Houde E.D., 1994. Energy storage and dynamics in bay anchovy *Anchoa mitchilli*. Mar. Biol., 121: 219-227.
- West G., 1990. Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. Aust. J. Mar. Freshw. Res., 41: 199 – 222.
- Witthames P. R., Greer Walker M., Dinis M. T. e Whiting C. L., 1995. The geographical variation in the potential annual fecundity of dover sole, *Solea solea*, from European shelf waters during 1991. Neth. J. Sea Res., 34: 45–58.
- Wood A.W. e Van Der Kraak G.J., 2001. Apoptosis and ovarian function: novel perspectives from the teleosts. Biology of Reproduction, 64: 264–271.

- Wootton R.J., 1998. Ecology of Teleost Fishes. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 389.
- Wright S.P., 1990. The reproductive strategy of *Stolephorus heterolobus* in the south Java Sea. In : BLABER, S.J.M. & J.W. Copland (eds), Tuna baitfish in the Indo-Pacific region, Aust. Coun. Int. Agr. Res. Proc., 30: 83-88.
- Yamada T., Aoki I. e Mitani I., 1998. Spawning time, spawning frequency and fecundity of Japanese chub mackerel, *Scomber japonicus*, in the waters around the Izu Islands, Japan. Fish. Res., 38: 83–89.
- Yanamoto K. e Yoshoka H., 1964. Rhythm of development in the oocytes of medaka, *Oryzias latipes*. Bulletin of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, 15: 5–19.
- Yaragina N.A. e Marshall C. T., 2000. Trophic influences on interannual and seasonal variation in the liver condition index of Northeast Arctic cod (*Gadus morhua*). ICES J Mar Sci, 57: 42–55.
- Yoneda M., Futagawa K., Tokimura M., Horikawa H., Matsuura S. e Matsuyama M., 2002. Reproductive cycle, spawning frequency and batch fecundity of the female whitefin jack, *Kaiwarinus equula*, in the East China Sea. Fish. Res., 57: 297–309.
- Zanuy S., 1977. Inducción a la puesta y estudio de la ovogénesis en un teleosteo marino: *Paracentropistis cabrilla* L. Investigación Pesquera, 41: 337–384.
- Zarrad R., Missaoui H., Alemany F., Hamza A., Romdhane M. S., García A., Jarboui O. e 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): 299-309. Barcelona (Spain). ISSN: 0214-8358.
- Zeldis J. R. e Francis R. I. C. C., 1998. A daily egg production method estimate of snapper biomass in Hauraki Gulf, New Zealand. ICES Journal of Marine Science, 55: 522–534.
- Zwolinski J., Stratoudakis Y. e Soares E., 2001. Intra-annual variation in the batch fecundity of sardine off Portugal. J. Fish Biol., 58: 1633–1645.

Appendice

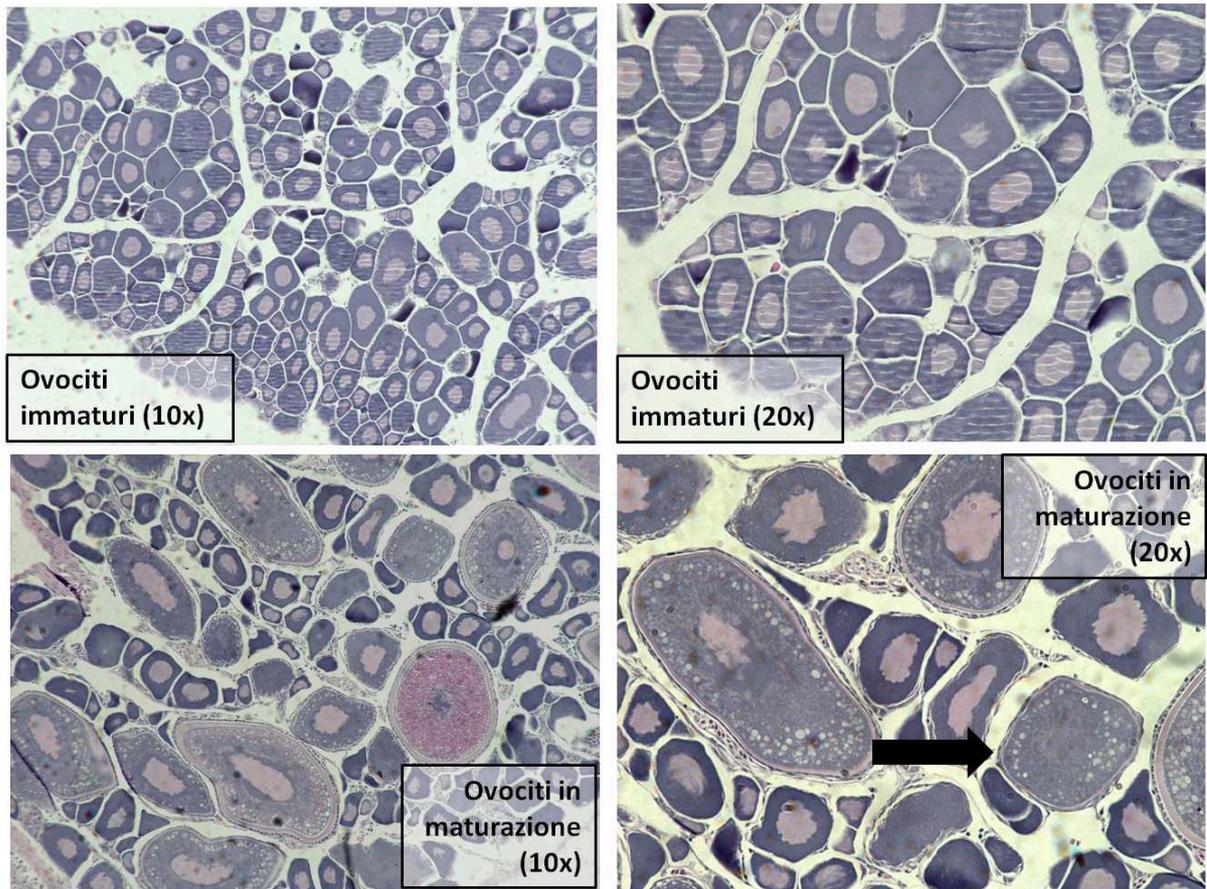


Fig. A. Parte superiore: ovociti immaturi. Parte inferiore: ovario all'inizio della maturazione, con alveoli corticali (indicati dalla freccia) e principio di vitellogenesi.

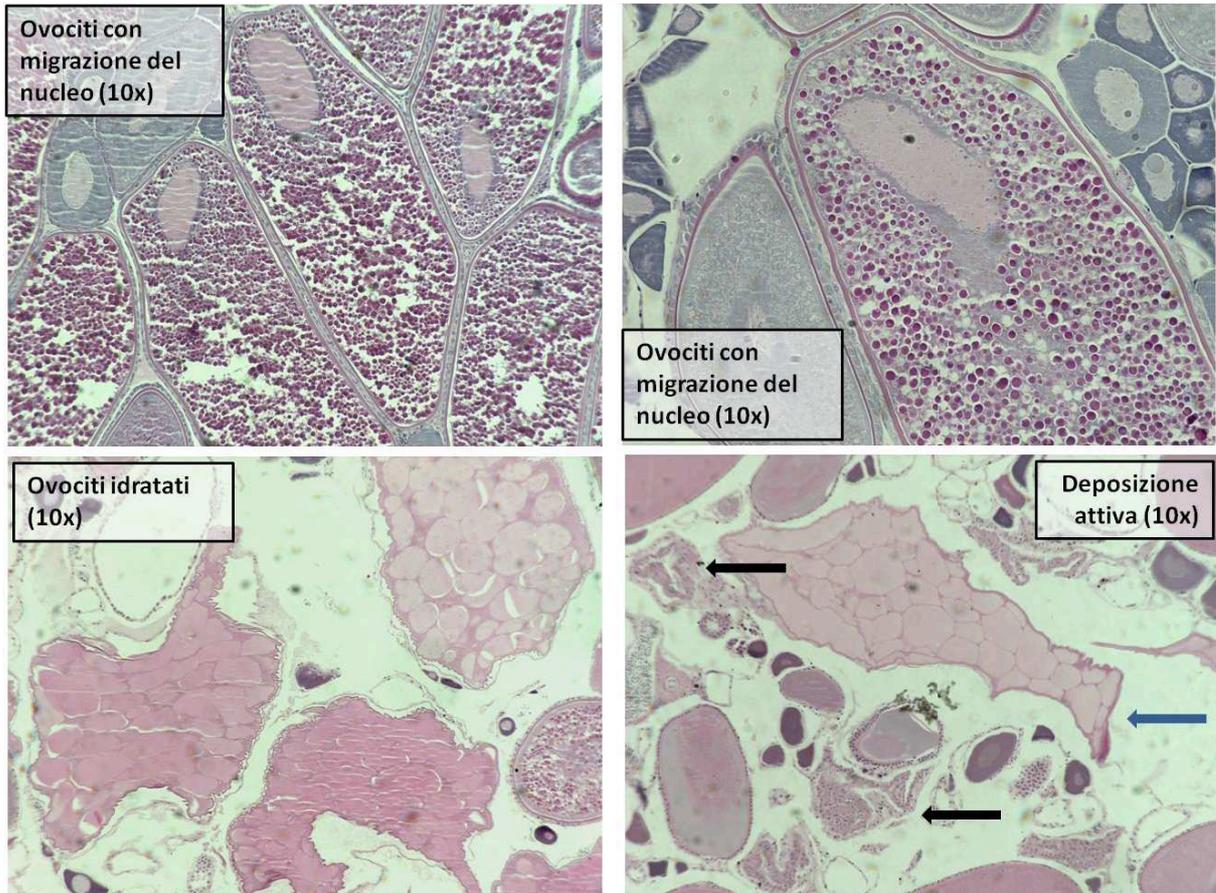


Fig. B. Parte superiore: ovociti maturi prossimi alla deposizione, è visibile la migrazione del nucleo. Parte inferiore. Ovari idratati, durante una fase di deposizione attiva: nella foto a destra sono presenti follicoli post-ovulatori (indicati dalla freccia), segno evidente di deposizione già cominciata.

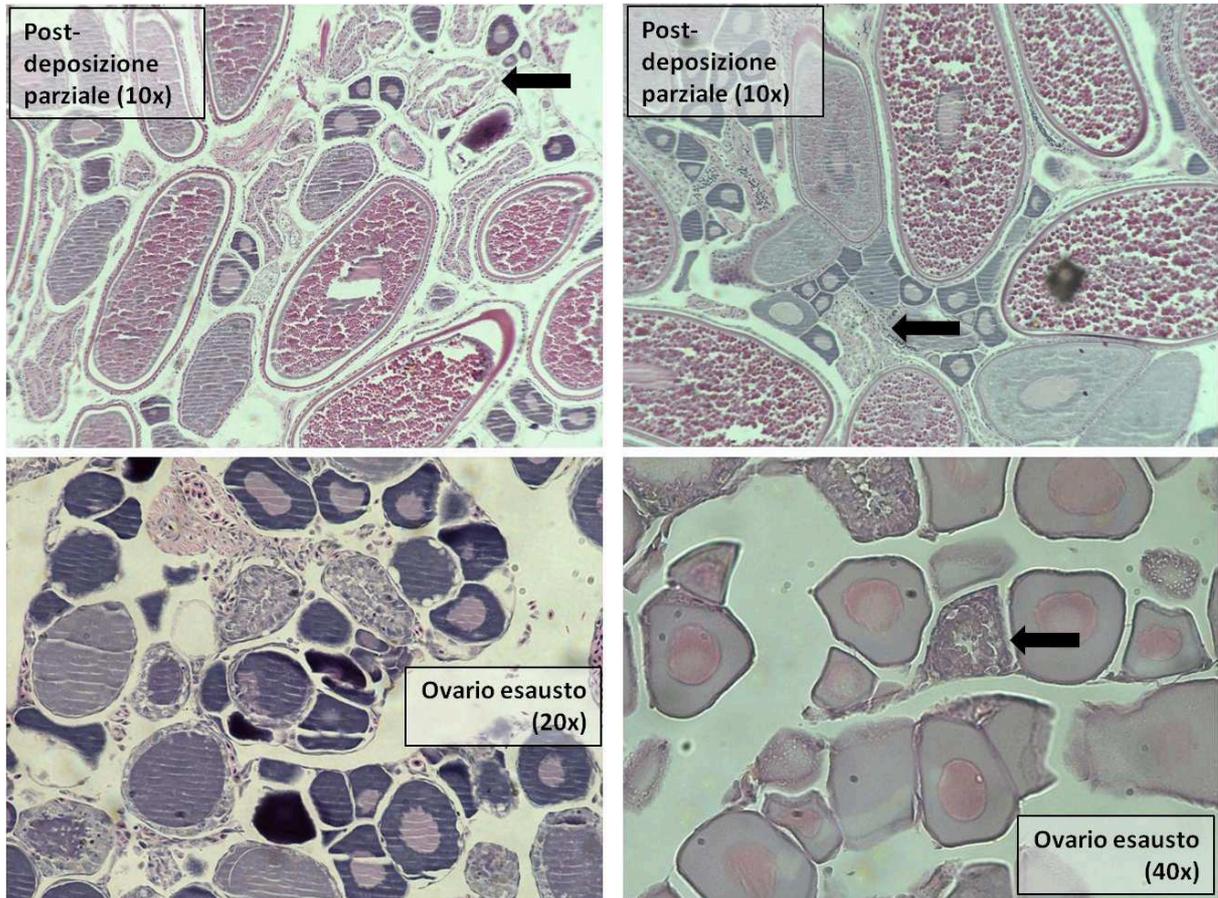


Fig. C. Parte superiore: Ovari con segni recenti di deposizione, ma ancora in attiva fase riproduttiva. Parte inferiore: Ovario esausto che ha concluso la stagione riproduttiva, con POF e ovociti atresici (indicato dalla freccia) evidenti.

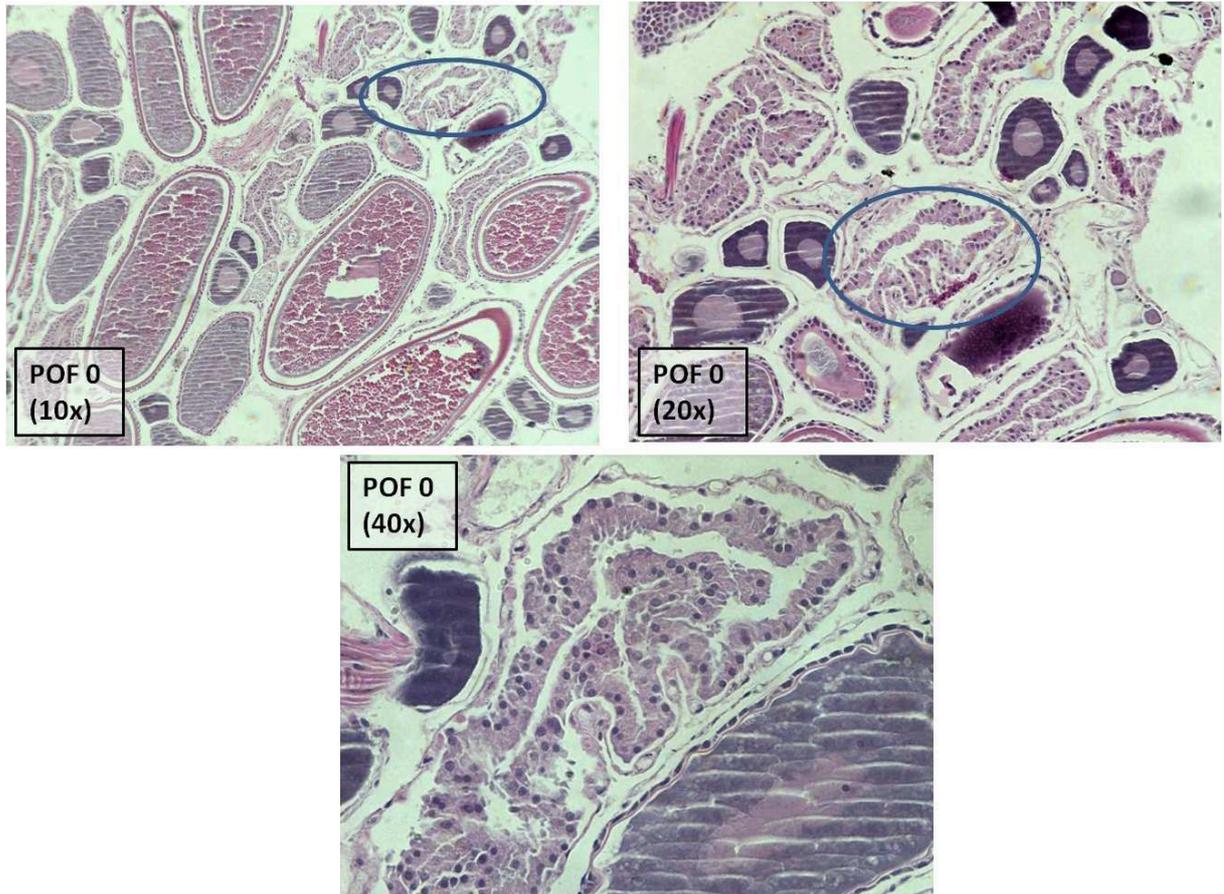


Fig. D. Follicoli post-ovulatori recenti (POF 0).

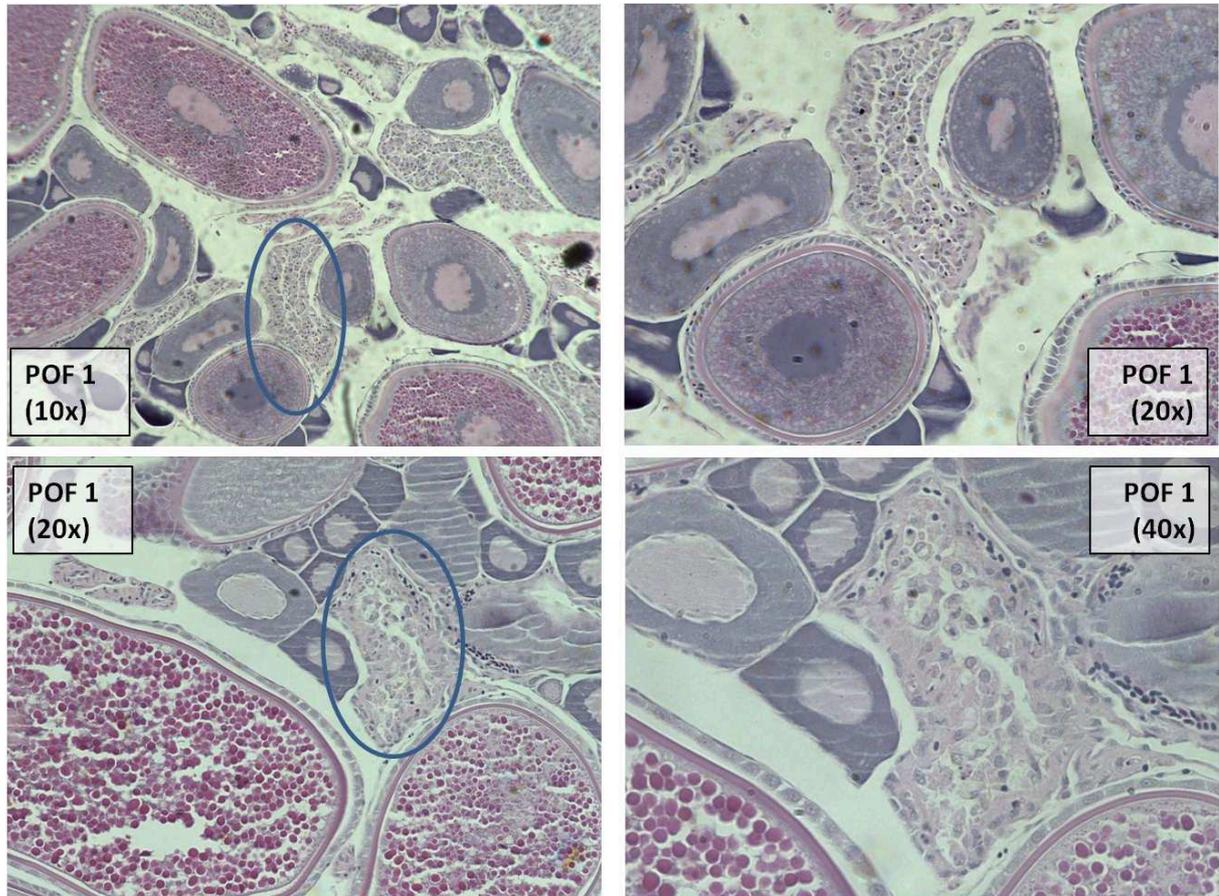


Fig. E. Follicoli post-ovulatori in una fase intermedia di riassorbimento (POF 1).

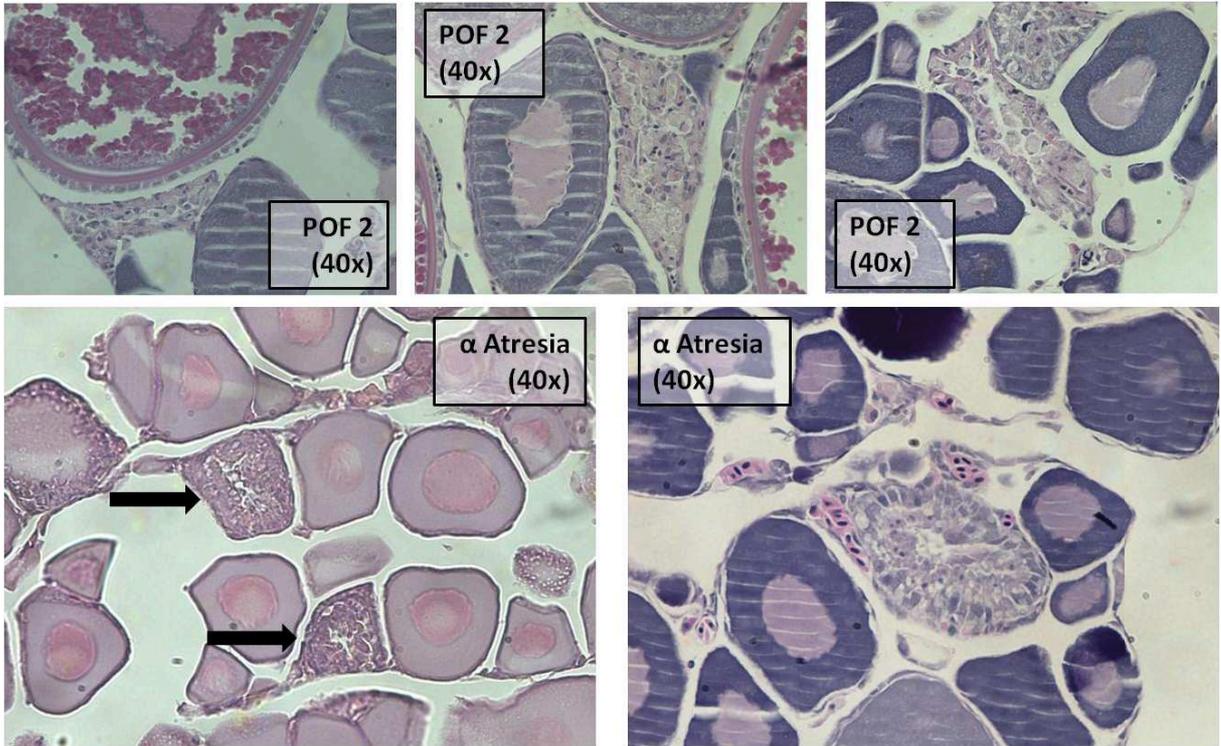


Fig. F. Parte superiore: Follicoli post-ovulatori vecchi (POF 2). Parte inferiore: oociti α -atresici.

Ringraziamenti

Al mio tutor, Dott. Gualtiero Basilone, per avermi accompagnato in questo percorso e avermi fatto da guida nel complesso mondo della biologia della pesca (e non solo) prima che da relatore.

Grazie al mio tutor interno, Dott. Fabio Pranovi, per la disponibilità dimostratami in questi tre anni.

Grazie al Dott. Salvatore Mazzola, attento supervisore di tutti noi “dottorandi di Granitola”, per avermi dato la possibilità di “avventurarmi” nel mondo della ricerca.

Grazie al Dott. Mario Sprovieri, per la sua voglia di procurarci sempre le migliori opportunità e per la sua acuta capacità nel coniare “termini scientifici”.

Grazie anche al Dott. Fran Saborido-Rey, che mi ha ospitato e guidato durante la mia esperienza presso l'*Instituto de Investigaciones Marinas (IIM)* del *Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)* di Vigo.

Grazie al Programma FRESH – COST (*supported by the EU RTD Framework Programme*), per avermi consentito di svolgere questo periodo di *training* all'estero.

E grazie a tutti i ragazzi del *Grupo de Pesquerías* per avermi accolta come una di loro.

Infine, grazie a tutti i ragazzi dell'IAMC di Capo Granitola... “contaminazioni” mazzaresi e napoletane comprese. Chi più chi meno, in questa tesi ci siete tutti!

Estratto per riassunto della tesi di dottorato

Studente: Rosalia Ferreri matricola: 955677

Dottorato: Scienze ambientali

Ciclo: XXIV

Titolo della tesi: Studio dell'ecologia riproduttiva dell'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*) in relazione ai principali parametri ambientali.

Sommario:

L'ecologia riproduttiva dei pesci, in particolare il potenziale riproduttivo, è determinante per capire la dinamica di popolazione e per lo *stock assessment*. Lo scopo della tesi è valutare l'influenza dei principali parametri ambientali, temperatura e disponibilità di cibo, sul potenziale riproduttivo dell'acciuga. L'applicazione del metodo di produzione giornaliera delle uova ha fornito alcuni parametri riproduttivi, rivelativi al potenziale riproduttivo, che sono stati analizzati insieme ai principali fattori ambientali. Sebbene il dataset sia costituito da informazioni puntuali relative al picco di deposizione, esso mostra evidenti correlazioni tra parametri riproduttivi e densità di zooplancton e temperatura dell'acqua. I risultati sono utili per definire piani di gestione degli *stock*, poiché la variabilità ambientale va inclusa nei modelli di valutazione degli *stock*, come previsto dall'approccio ecosistemico per la gestione sostenibile della pesca promulgato dall'Unione Europea.

Abstract:

Fish reproductive ecology, especially reproductive potential, is an essential aspect to understand the population dynamic and for stock assessment purposes. The aim of the PhD thesis deals with the effects of environmental variability on the anchovy reproductive potential. By means of Daily Egg Production Method, were obtained some parameters relative to the reproductive potential. They were analyzed together with environmental

parameters (temperature, food availability) during the peak spawning period. Although the data gather information about a thin temporal window, so it was not reasonable to find a wide environmental variability, it shows significant correlations among reproductive parameters, zooplankton density and sea surface temperature. Results could be useful for stock assessment plans, since ecosystem variability has to be included into stock assessment models, according to Ecosystem based approach for sustainable fishery management of the European Common Fishery Policy.

Firma dello studente