

IAMC-CNR UO di Capo Granitola



***Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) e *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847):  
rapporto tecnico sulla metodologia di acquisizione di dati morfometrici dei primi  
stadi di sviluppo del ciclo vitale**

*M. Torri, A. Cuttitta, G. M. Armeri, F. Calì, C. Patti, B. De Luca, A. Di Maria, F. Mangiaracina, E. Quinci, F. Falco, M. Musco, I. Maneiro, C. Bennici, B. Patti, S. Mazzola*

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IAMC-CNR), UOS di Capo Granitola, via del Mare 3 - 91021 Torretta Granitola (Campobello di Mazara, Tp), Italia

## Sommario

1.Introduzione .....	3
1.1. Biologia della specie oggetto di studio .....	4
<a href="#">1.1.1.</a> <i>Engraulis encrasicolus</i> .....	4
<a href="#">1.1.2.</a> <i>Sardinella aurita</i> .....	5
2.Materiali e metodi.....	6
2.1 - Acquisizione delle immagini .....	6
2.2 - Calibrazione del software .....	8
2.3 - Analisi d'immagine .....	10
3.BIBLIOGRAFIA .....	14

## 1. Introduzione

Le acciughe (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus, 1758) e le alacce (*Sardinella aurita*, Valenciennes, 1847) sono piccoli pesci pelagici appartenenti rispettivamente alle famiglie degli Engraulidae e dei Clupeidae.

Esse sono tra le più importanti risorse alieutiche in molte regioni del Mar Mediterraneo. Dai dati IREPA del 2009, è emerso che in Italia, la pesca di *Engraulis encrasicolus* ha rappresentato in media il 26% circa del pescato totale. La *Sardinella aurita* risulta essere un'importante risorsa ittica commerciale soprattutto per i Paesi nordafricani che si affacciano sul Mediterraneo. Inoltre a partire dagli anni 90, il suo sfruttamento è in continuo aumento (National Statistical Service of Hellas, 1990-2002) per via del suo coinvolgimento nelle metodologie di conservazione degli alimenti e come esca per le redditizie attività di pesca del tonno e del pesce spada (Tsikliras, 2006). I programmi di monitoraggio di queste specie hanno evidenziato fluttuazioni inter-annuali di biomassa molto pronunciate (Cergole et al., 2002; Cingolani, 2004). Le cause di queste oscillazioni possono essere molteplici e legate a fattori di natura antropica, ad esempio l'elevato sforzo di pesca, e a fattori naturali (Borjia et al., 1996). In particolare, le dinamiche biologiche ed ambientali che influenzano la sopravvivenza dei primi stadi di vita di queste specie e il successivo reclutamento, possono essere di fondamentale importanza nel determinare le contrazioni e gli incrementi annuali dello stock adulto (Thikonova et al., 2000; James et al., 2003; Cuttitta et al., 2003, 2006). Inoltre la conoscenza della biologia riproduttiva di tali specie non può esimersi dal comprendere se esistono diversi gruppi parentali nell'area dove incide lo sforzo di pesca e di come essi siano distribuiti spazialmente, per far sì che lo sforzo di pesca sia quanto più possibile distribuito equamente. Lo studio delle fasi ittioplanctoniche e delle sue relazioni con l'ambiente e gli altri organismi, risulta quindi di primaria importanza nell'ambito delle conoscenze necessarie per il corretto sfruttamento delle risorse alieutiche.

In questo contesto l'acquisizione e l'analisi dei dati morfometrici rappresenta una delle metodologie fondamentali per la caratterizzazione dimensionale e per la valutazione eventuali differenze morfologiche presenti in larve provenienti da diverse zone dell'area di studio. Questa tecnica (Blackith e Reyment, 1971; Marcus, 1990) consiste in un primo step di acquisizione di variabili quantitative misurate a partire dalla morfologia dell'oggetto di studio, come distanze lineari ma anche conte, angoli e rapporti. A questo segue l'applicazione di metodi statistici multivariati e mira a quantificare le variazioni delle misure morfologiche tra e all'interno di gruppi. In particolare questo elaborato si pone l'obiettivo di fornire un'adeguata metodologia di acquisizione di parametri morfometrici di *Engraulis encrasicolus* e *Sardinella aurita* allo stadio larvale. Queste due specie sono oggetto di studio delle campagne oceanografiche Ansic e Binsic organizzate ogni anno (dal 1997 ad oggi) dall'IAMC-CNR di Capo Granitola nel periodo estivo e condotte a bordo della N/O Urania e finalizzate allo studio delle relazioni tra le strutture oceanografiche a mesoscala (vortici verticali ed orizzontali, upwelling, ecc.) e le strutture spaziali dei fenomeni biologici relativi ai primi anelli della catena trofica (fitoplancton, zooplancton, distribuzione e abbondanza dei piccoli pelagici). Queste due specie, oltre al valore economico, risultano interessanti dal punto di vista biologico ed ecologico in quanto, condividendo periodo e zona di riproduzione, possono instaurare fenomeni di competizione larvale tra loro (Palomera et

al., 1990; Morote et al., 2008). In quest'ottica, l'analisi morfologica e dimensionale risulta un'analisi necessaria per la determinazione della distribuzione e abbondanza degli stock ittici e delle *performance* di crescita e delle sue relazione con altre variabili quantitative e qualitative.

## 1.1. Biologia della specie oggetto di studio

### 1.1.1. *Engraulis encrasicolus*

L'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*), appartiene all'Ordine dei Clupeiformi ed è il solo rappresentante della Famiglia degli Engraulidae in Mediterraneo (Tudela, 1999).

Presenta un'ampia area di distribuzione, diffusa dall'Atlantico Nord Orientale e Centrale, al Mar Mediterraneo, fino alle coste meridionali dell'Africa Occidentale (Fig. 3).

Essa è una specie migratrice e gregaria, si riunisce in grandi banchi vicino alla costa per la riproduzione sin dall'inizio della primavera, poi alla fine dell'estate ed in autunno si allontana in acque più profonde (Patti et al., 2011). Valutando l'indice gonadosomatico e la corrispondente evoluzione degli stadi di maturità, è stato determinato che nel Canale di Sicilia il periodo riproduttivo si estende, approssimativamente, da marzo-aprile fino ad agosto-settembre, anche se lo sforzo riproduttivo maggiore si ha nei mesi di luglio-agosto (Basilone et al., 2004, 2006). Tale periodo è sincronizzato con il picco di biomassa zooplanctonica (Garcia La fuente et al., 2002); i copepodi, infatti, sono il cibo delle acciughe adulte prima della deposizione, ma anche delle loro larve e degli stadi giovanili. Le femmine producono circa 4.000 uova alla volta, che vengono, generalmente, rilasciate negli strati superficiali, a piccoli lotti (Varagnolo, 1965; Ghirardelli, 1967) e, per lo più, in corrispondenza del tramonto (Regner, 1985). Le uova emesse sono galleggianti, di forma ellissoidale, poco più lunghe di 1 millimetro (Varagnolo, 1967; Regner, 1972; Ragusa 2000), vengono affidate alle correnti marine.

Le larve alla schiusa sono lunghe circa 2 mm e molte di esse sono destinate ad essere predate. Queste si nutrono principalmente di fito e zooplancton, in particolare di copepodi, cirripedi, larve di molluschi, uova e larve di pesci (Banarescu, 1964; Demir, 1963). Dal punto di vista morfologico sono allungate, presentano occhio subsferico e terminano tipicamente il loro intestino in corrispondenza della pinna dorsale e comunque all'incirca a  $\frac{3}{4}$  della loro lunghezza totale (Fig. 1).



Fig. 1 – Morfologia di larva di acciuga allo stadio pre-flessione.

### 1.1.2. *Sardinella aurita*

La *Sardinella aurita* è un pesce osseo appartenente all'Ordine dei Clupeiformes e alla Famiglia dei Clupeidae. È una specie pelagica di media taglia con ampia distribuzione tropicale e sub-tropicale spesso associata a grandi upwelling costieri (Froese and Pauly, 2003). Il suo areale di distribuzione comprende la parte orientale e occidentale dell'oceano Atlantico, l'oceano Pacifico, l'intero Mediterraneo ed occasionalmente è presente nel Mar Nero (Bauchot, 1987) (Fig. 3). È una specie stenotermica e stenoalina e fino a vent'anni fa era per lo più confinata nella parte meridionale del Mediterraneo, in acque calde e maggiormente salate (Ananniades, 1952). Negli ultimi anni ha mostrato un notevole aumento in termini di abbondanza nella parte centro-settentrionale del Mar Mediterraneo. Tale tendenza è stata messa già in evidenza per il Mar Egeo (Tsikliras et al., 2006), il Mar Adriatico (Sinovčić et al., 2004) per la parte nord-occidentale del bacino Mediterraneo (Sabates et al, 2006) e per il Canale di Sicilia (Cuttitta et al., 2003). In quanto specie opportunistica (Cury and Fontana, 1988), le cause sono probabilmente legate a fattori climatici (Bethoux e Gentili, 1999), sebbene Cury e Fontana (1988) non escludono un adattamento a condizioni ambientali locali.

Dal punto di vista riproduttivo, nel Mediterraneo, gli adulti di *Sardinella aurita* concentrano il periodo di deposizione nei mesi estivi, tra Giugno e Ottobre, con picchi tra Luglio ed Agosto in corrispondenza dei massimi di temperatura dell'acqua. (Ben-Tuvia, 1960; Palomera e Sebates, 1990). Nella colonna d'acqua le uova e le larve si distribuiscono soprattutto nei primi 100 metri di profondità, mentre orizzontalmente è possibile ritrovarle maggiormente entro l'isobata dei 200 metri, sulla piattaforma continentale. La dieta delle larve è rappresentata soprattutto da fitoplancton e da differenti stadi larvali di copepodi, cladoceri, policheti e gasteropodi (Morote et al., 2008).

Allo stadio larvale, dal punto di vista morfologico si presenta con forma allungata, occhio di forma rotondeggiante e intestino terminante nella oltre il punto individuato dalla pinna dorsale e comunque oltre i  $\frac{3}{4}$  della lunghezza del corpo (Fig. 2).



Figura 2 - Morfologia di larva di *Sardinella aurita* ad uno stadio post-flessione.

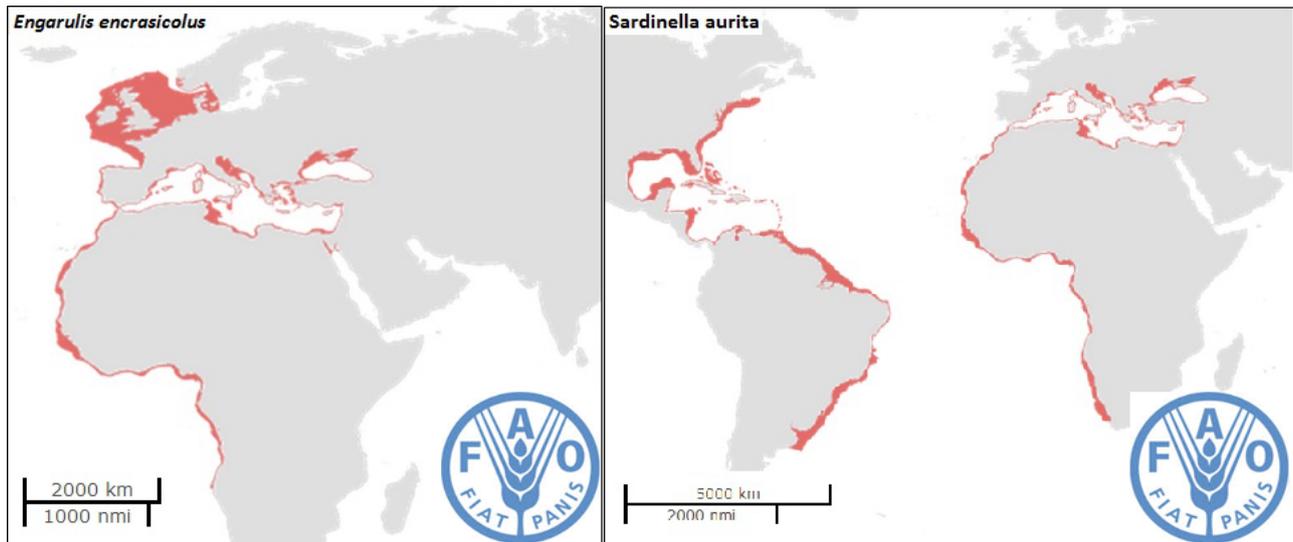


Figura 3 – Area di distribuzione di *Engraulis encrasicolus* e *Sardinella aurita*

## 2. Materiali e metodi

### 2.1 – Acquisizione delle immagini

Dal punto di vista metodologico, il primo step per ottenere dati morfometrici da soggetti di ridotte dimensioni come le larve, prevede l'acquisizione di immagini attraverso l'uso di stereo-microscopi con fotocamera integrata. Questi strumenti permettono di acquisire foto con ingrandimento del soggetto in esame, sul quale è successivamente possibile, dopo opportune calibrazioni del software, assicurare misure precise anche di elementi relativamente piccoli (ad es. il diametro dell'occhio larvale).

Per questo elaborato è stato utilizzato stereo-microscopio Zeiss modello Discovery.V20 con fotocamera integrata (Fig. 4).



Figura. 4 – Stereo-microscopio Zeiss

Le foto delle larve vengono acquisite mediante il software di elaborazione digitale delle immagini *AxioVision SE64 Rel.4.8* (Fig. 5), che permette di memorizzare e gestire i file in modo strutturato.

Per facilitare l'acquisizione dell'immagine, le larve vengono prelevate dalle provette e disposte singolarmente in una capsula Petri di vetro dal diametro di 5 cm, con l'aiuto di una pipetta Pasteur, costituita da una tettarella in gomma e un tubicino sottile in vetro.



Figura 5 – Schermata di apertura di AxioVision con immagine di *Sardinella aurita* allo stadio larvale post-flessione

Con l'ausilio di aghetti appositi, si sistema la larva sul fianco in modo da farle assumere una posizione distesa, avendo cura di rimuovere l'eventuale liquido in eccesso utilizzato per la conservazione (alcol o acqua), che potrebbe disturbare l'immagine e impedire l'aderenza della larva sul fondo della Petri.

Prima di scattare la foto è necessario regolare la luminosità e/o i parametri di esposizione, tramite la funzione *adjust* del software. L'ingrandimento da utilizzare è quello tale da fare rientrare la larva nella foto nella sua interezza.

Dopo aver fatto ciò, dal menu "Acquisition" si seleziona "Snap" per scattare la foto (Fig. 6).

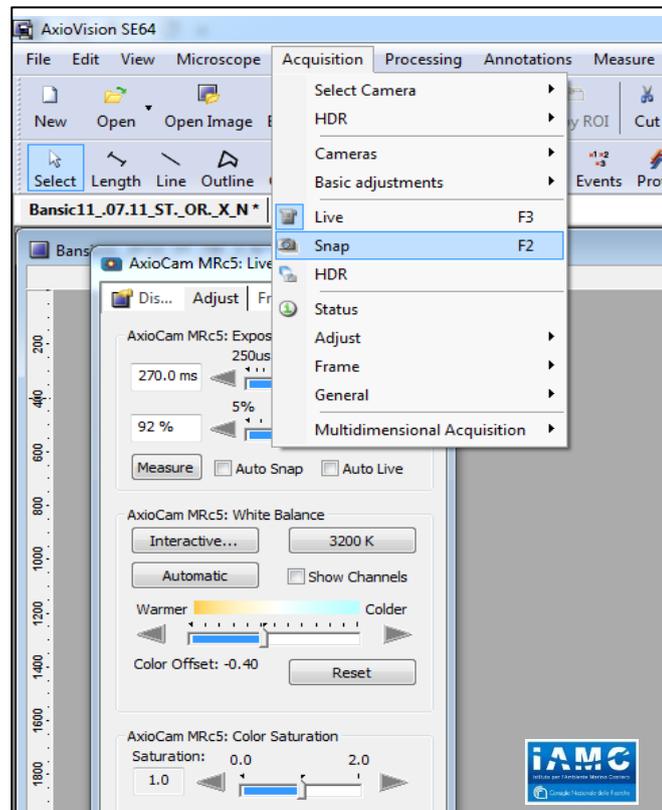


Figura 6 – Schermata di AxioVision per lo scatto della foto

Successivamente, dal menu "File" si seleziona "Save as" per salvare la foto di ogni larva in una cartella; nella finestra successiva si assegna, quindi, il nome alla foto specificando le informazioni della larva (data, punto di prelevamento, specie ecc...) riportate sulla provetta, unite all'informazione relativa all'ingrandimento utilizzato in fase di acquisizione. Questa informazione è degna di nota in quanto sarà fondamentale in fase di acquisizione della misura.

Dopo lo scatto fotografico, le larve vengono conservate singolarmente con il liquido di conservazione previsto (generalmente alcool) in una provetta, su cui vengono annotate i parametri usati nel salvare la foto della larva corrispondente.

Inoltre, tutte le provette vengono sistemate in un porta-provette e di ciascuna si appunta la posizione occupata, facilitandone così il recupero in caso di eventuali future utilizzazioni. Questa metodologia infatti prevede una manipolazione limitata della larva e permette di essere utilizzata per ulteriori analisi, quali determinazione quantitative e qualitative di molecole complesse o estrazione di DNA.

## 2.2 - Calibrazione del software

Prima di procedere con l'analisi d'immagine, è necessario effettuare una serie di calibrazioni del software in relazione ai diversi poteri d'ingrandimento possibili del microscopio con cui sono state effettuate le foto. L'obiettivo è quello di fornire al software il valore del fattore di conversione che gli

permetta di convertire in modo adeguato il numero di pixel in una misura di lunghezza di unità nota (cm, mm,  $\mu\text{m}$  ecc.). Il fattore di conversione è diverso a seconda dell'ingrandimento utilizzato.

La prima fase prevede quindi una serie di scatti con poteri d'ingrandimento differenti ad un oggetto di lunghezza nota. Per poter calibrare il software in termini di corrispondenza pixel-millimetro è stato utilizzato un vetrino micrometrico sul quale è disegnata una scala in grado di apprezzare il decimo di millimetro (Fig. 7).

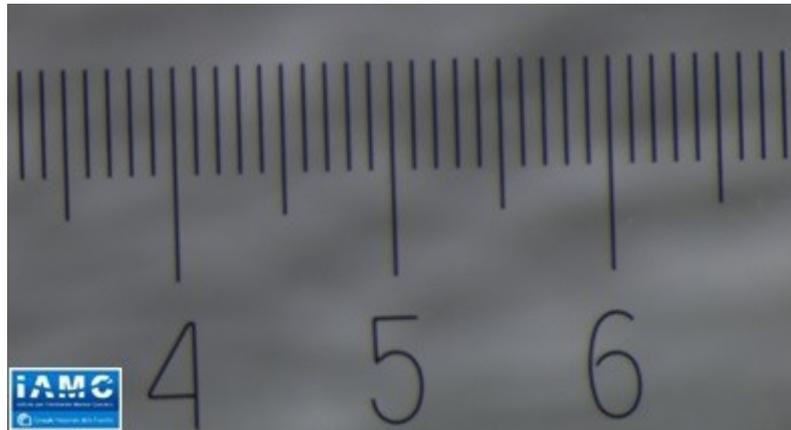


Figura 7 – Foto del vetrino micrometrico scattata con potere d'ingrandimento di 3.2 X

Successivamente si importano le immagini nel software di gestione ed elaborazione immagini. Qui proponiamo la procedura di calibrazione nell'ambito del programma Image Pro Plus© (IPP). Una volta importate le immagini si procede, si clicca su "Measure" > "Calibration" > "Spatial calibration wizard". Con "Calibrate the active image" è possibile memorizzare un riferimento spaziale a partire dall'immagine aperta. Cliccare "next". Si definisce poi nome e unità di misura da utilizzare per la conversione. Spuntare la casella "Create reference calibration" per memorizzare e rendere la calibrazione dell'immagine disponibile per le foto successive. Cliccare "next". Con "Draw reference line" si posiziona una linea di riferimento sulla foto del vetrino e si specificano i millimetri a cui tale linea corrisponde, nella finestra *Scaling*. È inoltre possibile aprire una finestra (*Local zoom*) che permette di posizionare in vertici della linea nel modo più preciso possibile (Fig. 8).

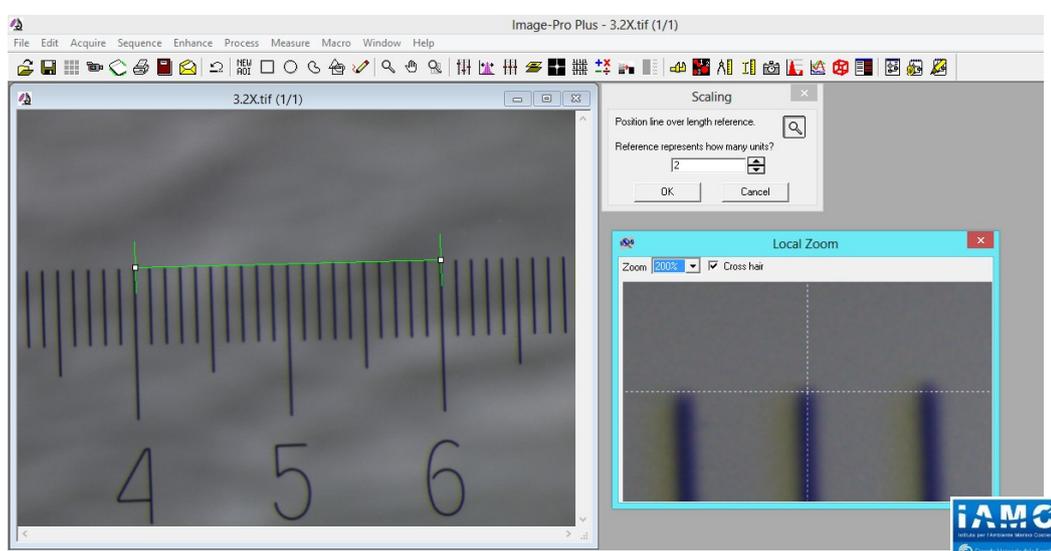


Figura 8 – Calibrazione del software Image Pro Plus© tramite foto di un vetrino micrometrico

Infine cliccare “next” e “Finish” per completare l’operazione. Ripetere tale operazione per tutte le foto scattate al vetrino micrometrico in corrispondenza dei diversi poteri d’ingrandimento del microscopio.

## 2.3 - Analisi d’immagine

Per acquisire i parametri morfometrici delle larve dalle foto si utilizza il software dedicato di gestione ed elaborazione immagini Image Pro Plus© (IPP).

All’apertura del programma, cliccando sul menu “File” > “Open”, si apre l’immagine predisposta per la morfometria.

Dopo aver aperto la foto, da cui acquisire i parametri morfometrici, dal menu “Measure” > “Calibration” si seleziona “Select Spatial”, come in figura 9 e nella finestra che appare si imposta il valore dell’ingrandimento, opportunamente calibrato in precedenza, con cui è stata effettuata la foto.

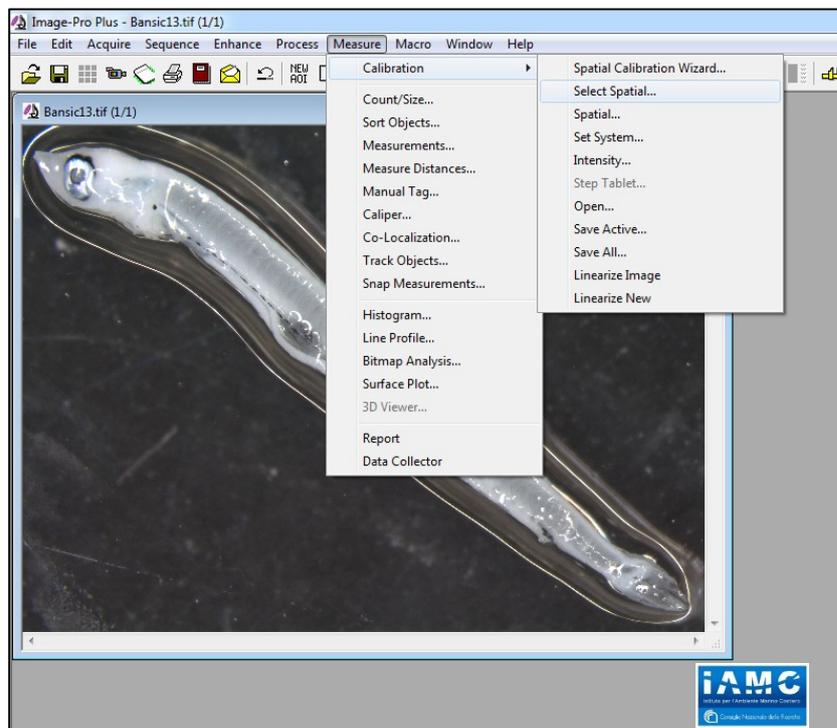


Figura 9 – Schermata di Image Pro Plus per la selezione dell’ingrandimento

È necessario, inoltre, impostare i parametri che permettano l’esportazione dei dati morfometrici su un foglio di calcolo; per fare ciò dal pannello (Fig. 10) si seleziona “Options” e nella finestra che appare si imposta il set di dati di posizione quali fila, colonna e l’incremento di posizione per il set di dati relativo alla foto della larva successiva.

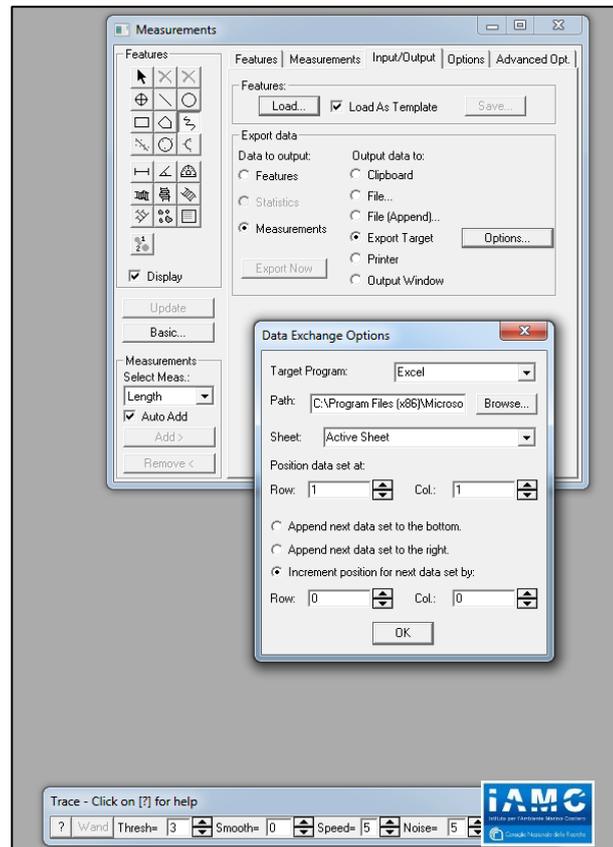


Figura 10 - Schermata di Image Pro Plus per l'impostazione dei dati di posizione

A questo punto si procede con la misurazione dei parametri morfometrici. Di seguito sono riportati i parametri utilizzati da Diaz et al. (2009) per l'analisi morfometrica di *Engraulis anchoita* (Fig. 11):

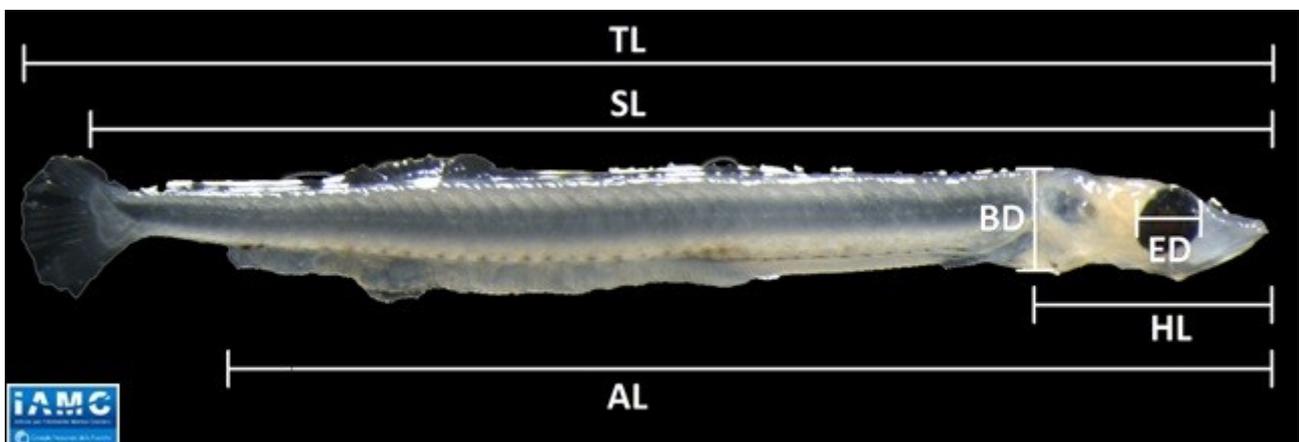


Fig. 11 – Parametri morfometrici utilizzati per lo studio di morfometria. Foto di *Sardinella aurita*

- Lunghezza Totale (TL): dall'estremo anteriore della mandibola superiore all'estremità della pinna caudale.
- Lunghezza Standard (SL): dall'estremo anteriore della mandibola superiore all'estremità della notocorda.
- Lunghezza della testa (HL): Dall'estremo anteriore della mandibola superiore alla pinna pettorale.

- Larghezza del corpo alla cleitra (BD), in direzione della pinna pettorale.
- Diametro dell'occhio (ED).
- Lunghezza anale (AL): dall'estremo anteriore della mandibola superiore all'estremità del tubo digerente.

Una volta aperta l'immagine i parametri vengono acquisiti tramite lo strumento dedicato "Create trace feature" che si trova nel pannello relativo agli strumenti di misura ("Measurements"). Questo strumento permette di misurare la lunghezza di una spezzata disegnata dall'operatore (linea gialla posta a circa metà corpo della larva mostrata in figura 12) Questo strumento è particolarmente utile in quanto consente di ottenere misure precise anche su soggetti relativamente curvi, permettendo quindi di compensare eventuali imperfezioni in fase di allineamento della larva.

I dati vengono poi trasferiti, mediante la funzione "Export now" che si trova nel riquadro a destra, su fogli di calcolo. Un esempio è riportato nella figura 13, in cui vengono archiviate tutte le informazioni relative alle larve, appartenenti al medesimo campione.

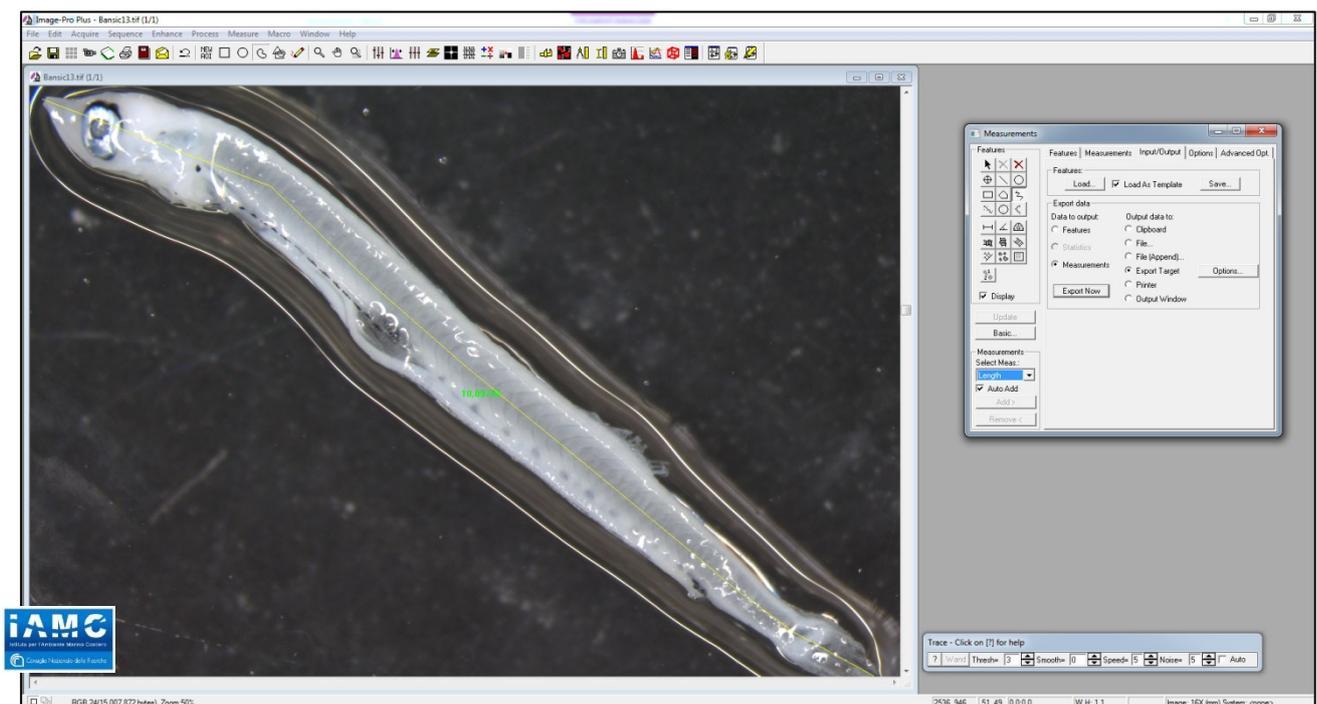


Figura 12 – Schermata di Image Pro Plus per l'acquisizione dei dati

1	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P
2	Campagne	Stazione	Ordine	Numero	Data		Features	Measurer	Value	Nominal	Min. Tol.	Max. Tol.	Pass / Fail			
3	Bansic 13	1	814	1	15/07/2013	1	T1	Length	9,411156	9,411156	-0,001	0,001	Pass			
4	Bansic 13	1	814	1	15/07/2013	2	T2	Length	8,862093	8,862093	-0,001	0,001	Pass			
5	Bansic 13	1	814	1	15/07/2013	3	T3	Length	7,974588	7,974588	-0,001	0,001	Pass			
6	Bansic 13	1	814	1	15/07/2013	4	T4	Length	1,678012	1,678012	-0,001	0,001	Pass			
7	Bansic 13	1	814	1	15/07/2013	5	T5	Length	0,863397	0,863397	-0,001	0,001	Pass			
8	Bansic 13	1	814	1	15/07/2013	6	T6	Length	0,511963	0,511963	-0,001	0,001	Pass			
9							Features	Measurer	Value	Nominal	Min. Tol.	Max. Tol.	Pass / Fail			
10	Bansic 13	1	811	2	15/07/2013	1	T2	Length	10,83217	10,83217	-0,001	0,001	Pass			
11	Bansic 13	1	811	2	15/07/2013	2	T3	Length	10,62846	10,62846	-0,001	0,001	Pass			
12	Bansic 13	1	811	2	15/07/2013	3	T4	Length	9,356212	9,356212	-0,001	0,001	Pass			
13	Bansic 13	1	811	2	15/07/2013	4	T5	Length	1,672256	1,672256	-0,001	0,001	Pass			
14	Bansic 13	1	811	2	15/07/2013	5	T6	Length	0,859625	0,859625	-0,001	0,001	Pass			
15	Bansic 13	1	811	2	15/07/2013	6	T7	Length	0,608233	0,608233	-0,001	0,001	Pass			
16							Features	Measurer	Value	Nominal	Min. Tol.	Max. Tol.	Pass / Fail			
17	Bansic 13	1	817	3	15/07/2013	1	T1	Length	14,08953	14,08953	-0,001	0,001	Pass			
18	Bansic 13	1	817	3	15/07/2013	2	T2	Length	12,56392	12,56392	-0,001	0,001	Pass			
19	Bansic 13	1	817	3	15/07/2013	3	T3	Length	11,16827	11,16827	-0,001	0,001	Pass			
20	Bansic 13	1	817	3	15/07/2013	4	T4	Length	2,437746	2,437746	-0,001	0,001	Pass			
21	Bansic 13	1	817	3	15/07/2013	5	T5	Length	1,18891	1,18891	-0,001	0,001	Pass			
22	Bansic 13	1	817	3	15/07/2013	6	T6	Length	0,744451	0,744451	-0,001	0,001	Pass			
23							Features	Measurer	Value	Nominal	Min. Tol.	Max. Tol.	Pass / Fail			
24	Bansic 13	1	813	4	15/07/2013	1	T1	Length	10,78239	10,78239	-0,001	0,001	Pass			
25	Bansic 13	1	813	4	15/07/2013	2	T2	Length	10,29093	10,29093	-0,001	0,001	Pass			
26	Bansic 13	1	813	4	15/07/2013	3	T3	Length	9,147467	9,147467	-0,001	0,001	Pass			
27	Bansic 13	1	813	4	15/07/2013	4	T4	Length	1,844372	1,844372	-0,001	0,001	Pass			
28	Bansic 13	1	813	4	15/07/2013	5	T5	Length	0,814791	0,814791	-0,001	0,001	Pass			
29	Bansic 13	1	813	4	15/07/2013	6	T6	Length	0,493217	0,493217	-0,001	0,001	Pass			
30							Features	Measurer	Value	Nominal	Min. Tol.	Max. Tol.	Pass / Fail			
31	Bansic 13	1	815	5	15/07/2013	1	T1	Length	10,70103	10,70103	-0,001	0,001	Pass			
32	Bansic 13	1	815	5	15/07/2013	2	T2	Length	10,48528	10,48528	-0,001	0,001	Pass			
33	Bansic 13	1	815	5	15/07/2013	3	T3	Length	9,271479	9,271479	-0,001	0,001	Pass			
34	Bansic 13	1	815	5	15/07/2013	4	T4	Length	2,019533	2,019533	-0,001	0,001	Pass			
35	Bansic 13	1	815	5	15/07/2013	5	T5	Length	0,985262	0,985262	-0,001	0,001	Pass			
36	Bansic 13	1	815	5	15/07/2013	6	T6	Length	0,535326	0,535326	-0,001	0,001	Pass			
37							Features	Measurer	Value	Nominal	Min. Tol.	Max. Tol.	Pass / Fail			
38	Bansic 13	1	816	6	15/07/2013	1	T1	Length	11,00701	11,00701	-0,001	0,001	Pass			
39	Bansic 13	1	816	6	15/07/2013	2	T2	Length	10,30515	10,30515	-0,001	0,001	Pass			

Figura 13– Esempio di foglio di calcolo per l’archiviazione dei dati

### 3. BIBLIOGRAFIA

- Ananiades, C. I. (1952). Quelques considérations biométriques sur l'allache (*Sardinella aurita* CV) des eaux grecques. *Prak. Hell. Hydrobiol. Inst*, 5, 5-45.
- Bănărescu P., 1964. Fauna Republicii Populare Romine, 13. Pisces-Osteichthyes (Pestiganoizi si ososi). Academiei Republicii Populare Romine, Bucharest, 959 pp.
- Basilone, G., Guisande, C., Patti, B., Mazzola, S., Cuttitta, A., Bonanno, A., Kallianiotis, A. 2004. Linking habitat conditions and growth in the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*), *FISHERIES RESEARCH* (04223J0) 68, 9-19.
- Basilone G., Guisande C., Patti B., Mazzola S., Cuttitta A., Bonanno A., Vergara A.R., Maneiro I., Effect of habitat conditions on reproduction of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Strait of Sicily, *FISHERIES OCEANOGRAPHY* (11620J0), 2006, 15:4, 271-280.
- Bauchot, M.L. (1987). Poissons osseux. In: W. Fischer, Schneider, M. and M.-L. Bauchot (eds.), *Fishes FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche: Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Volume II. Vertèbres.*, pp. 861-1422. Food and Agricultural Organisation of the United Nations, Rome.
- Ben-Tuvia, A. (1960). *Synopsis of biological data on Sardinella aurita of the Mediterranean Sea and other waters*. Fisheries Division, Biology Branch, Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Bethoux, J. P., Gentili, B., Morin, P., Nicolas, E., Pierre, C., & Ruiz-Pino, D. (1999). The Mediterranean Sea: a miniature ocean for climatic and environmental studies and a key for the climatic functioning of the North Atlantic. *Progress in Oceanography*, 44(1), 131-146.
- Blackith, R. E., & Reyment, R. A. (1971). *Multivariate morphometrics*.
- Borja, A., A. Uriarte, V. Valencia, L. Motos & A. Uriarte, 1996. Relationships between anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) recruitment and the environment in the Bay of Biscay. *Sci. mar.* 60:179–192.
- Cergole, Maria Cristina, Saccardo, Suzana Anita, & Rossi-Wongtschowski, Carmen L. D. B.. (2002). Fluctuations in the spawning stock biomass and recruitment of the Brazilian sardine (*Sardinella brasiliensis*) 1977-1997. *Revista Brasileira de Oceanografia*, 50(unico), 13-26.
- Cingolani, N., Santojanni, A., Arneri, E., Berlardinelli, A., Colella, S., Donato, F., ... & Marceta, B. (2004). Anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) stock assessment in the Adriatic Sea: 1975-2003. *GFCM-SAC Working Group on Small Pelagic Species (Malaga, 6th-7th May 2004)*. *FAO-MiPAF Scientific Cooperation to Support Responsible Fisheries in the Adriatic Sea*. *GCP/RER/010/ITA/OP-14. AdriaMed Occasional Papers*, 14(10).
- Cury, P., & Fontana, A. (1988). Compétition et stratégies démographiques comparées de deux espèces de sardinelles (*Sardinella aurita* et *Sardinella maderensis*) des côtes ouest-africaines. *Aquatic living resources*, 1(03), 165-180.
- Cuttitta A., Cavalcante C., Basilone G., Buscaino G., Garcia A., Garcia Lafluente J., Bonanno A., Patti B., Mazzola S., Avellone P. 2003. Distribuzione di uova e larve di *Sardinella aurita* in relazione alle condizione oceanografiche nel canale di Sicilia, *BIOLOGIA MARINA MEDITERRANEA*, 2003, 10(2), 990-993

- Cuttitta, A., Carini, V., Patti, B., Bonanno, A., Basilone, G., Mazzola, S. & Cavalcante, C. (2003). Anchovy egg and larval distribution in relation to biological and physical oceanography in the Strait of Sicily. In *Migrations and Dispersal of Marine Organisms* (pp. 117-120). Springer Netherlands.
- Cuttitta, A., Guisande, C., Riveiro, I., Maneiro, I., Patti, B., Vergara, A. R. & Mazzola, S. (2006). Factors structuring reproductive habitat suitability of *Engraulis encrasicolus* in the south coast of Sicily. *Journal of fish biology*, 68(1), 264-275.
- Demir N., 1963. Synopsis of biological data on anchovy *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus) 1758 (Mediterranean and 1963 adjacent seas). FAO Fish.Synop. 26, 41.
- Diaz, M. V., Pájaro, M., & Sánchez, R. P. (2009). Employment of morphometric variables to assess nutritional condition of Argentine anchovy larvae *Engraulis anchoita* Hubbs & Marini, 1935. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr*, 44(3), 539-549.
- Froese, R., & Pauly, D. (2007). World wide web electronic publication. *World Wide Web electronic publication*.
- James, A., J. W. Pitchford & J. Brindley, 2003. The relationship between plankton blooms, the hatching of fish larvae, and recruitment. *Ecol. Model.* 160: 77–90.
- 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. *Fisheries Oceanography*, 11: 31-44.
- Ghirardelli E., 1967. I fattori che regolano la microdistribuzione superficiale del plancton: la temperatura. *Boll. Soc. Adriatica Sci.* 55, 18-86.
- Marcus L. F., 1990 - Traditional morphometrics. In Rohlf, F. J., & Bookstein, F. L. (1990). *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop*. University of Michigan Museum of Zoology.
- Morote, E., Olivar, M. P., Villate, F., & Uriarte, I. (2008). Diet of round sardinella, *Sardinella aurita*, larvae in relation to plankton availability in the NW Mediterranean. *Journal of plankton research*, 30(7), 807-816.
- National Statistical Service of Hellas. – 1990-2002. Statistical Yearbooks. NSSH, Athens.
- Palomera, I., & Sabatés, A. (1990). Co-occurrence of *Engraulis encrasicolus* and *Sardinella aurita* eggs and larvae in the northwestern Mediterranean.
- Patti B., Bonanno A., D'Elia M., Quinci E., Giacalone G., Fontana I., Aronica S., Basilone G., Mazzola S., 2011. Daytime pelagic schooling behaviour and relationships with plankton patch distribution in the Sicily Strait (Mediterranean Sea). *Advances in Oceanography and Limnology* 14, 79-92.
- Regner S., 1972. Contribution to the study of the ecology of the planktonic phase in the life history of the anchovy in the Central Adriatic. *Acta Adriat.* 14 (9), 3-31.
- Regner S., 1985. Ecology of the planktonic stages of the anchovy, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758), in the Central Adriatic Sea. *Acta Adriat.* 26, 1-113.
- Sabates, A., Martin, P., Lloret, J., & Raya, V. (2006). Sea warming and fish distribution: the case of the small pelagic fish, *Sardinella aurita*, in the western Mediterranean. *Global Change Biology*, 12(11), 2209-2219.
- Tikhonova, I., O. Arino, G. Ivanitskii, H. Malchow & A. Medvinskii, 2000. The dependence of fish school movement and plankton spatial distributions on the phytoplankton growth rate. *Biofizika* 45: 352–359.

- Tsikliras, A. C., & Antonopoulou, E. (2006). Reproductive biology of round sardinella (*Sardinella aurita*) in north-eastern Mediterranean. *Scientia Marina*, 70(2), 281-290.
- Tudela S., 1999. Morphological variability in a Mediterranean, genetically homogeneous population of the European anchovy, *Engraulis encrasicolus*. *Fish Res* 42, 229-243.
- Varagnolo S., 1965. Alcune osservazioni sulla distribuzione delle uova galleggianti di Teleostei nell'Alto Adriatico. *Boll. Zool.* 32 (2), 849-858.
- Varagnolo S., 1967. Osservazioni sulla riproduzione dell'*Engraulis encrasicolus* L. (Acciuga) dell'alto Adriatico. *Arch. Oceanog. Limnol.* 15, 71-81.