

Relazione tecnica sulle attività della campagna oceanografica “Evatir 2015”



I.A.M.C.-C.N.R. di Capo Granitola



M. Pulizzi, S. Mangano, G. Giacalone, I. Fontana, S. Genovese, G. Basilone, A. Bonanno, P. Rumolo, S. Aronica, R. Ferreri, A. Gargano, L. La Gattuta, C. Patti, V. Tancredi, A. Langiu, G. Tranchida, M. Calabrò, M. Barra, S. Fiorelli, S. Mazzola.

INDICE

Introduzione _____	3
Acquisizione dati acustici _____	4
Campionamenti biologici _____	5
Misurazione dei parametri fisico-chimici _____	9
Campionamenti Ittioplantoni e Zooplantoni _____	10
Bibliografia _____	11
Allegati _____	12

Introduzione

La campagna oceanografica "EVATIR 2015", condotta a bordo della N/O "G. Dallaporta", è la quinta campagna di valutazione acustica della biomassa pelagica nelle acque del Tirreno condotta dall'IAMC-CNR. La campagna è parte integrante del Progetto "Estensione della Campagna acustica Medias (Mediterranean International Acoustic Survey) nelle sub aree geografiche (GSA) 9 (Mar Ligure e Mar Tirreno settentrionale) e 10 (Mar Tirreno centrale e meridionale)" (CUP n. J52I15002440006), finanziato dal Mipaaf nell'ambito del Fondo Europeo per gli Affari Marittimi e la Pesca (FEAMP). Infatti, il FEAMP prevede un sostegno per le attività di raccolta e gestione e utilizzo dei dati, così come previsto all'art. 25, parr. 1 e 2, del Reg. (UE) 1380/2013 e ulteriormente specificato nel Reg. (CE) 199/2008.

Le ricerche condotte in tale periodo sono state finalizzate principalmente alla valutazione della biomassa e della distribuzione spaziale delle popolazioni di piccoli pelagici ed allo studio delle relative condizioni ambientali.

Le specie target del progetto sono l'acciuga europea (*Engraulis encrasicolus*) e la sardina (*Sardina pilchardus*), specie chiave sia a livello commerciale che ecologico. Le specie ittiche di piccoli pelagici, come sardine e acciughe, rappresentano uno dei prodotti sbarcati più importanti dalle marinerie del Mediterraneo e siciliane. Purtroppo, la gestione di queste risorse è abbastanza complicata poiché si tratta di specie a breve ciclo di vita, caratterizzate da ampie oscillazioni interannuali nella abbondanza dello stock dovuta principalmente al fallimento del reclutamento annuale. La variabilità nel reclutamento e le conseguenti oscillazioni di biomassa sono principalmente legate alla variabilità di habitat e in misura minore allo sforzo di pesca. L'obiettivo principale dei piani di monitoraggio di queste risorse si basa sulla possibilità di valutare di anno in anno le fluttuazioni di abbondanza dello stock e il conseguente livello di reclutamento, al fine di una della gestione sostenibile della pesca delle risorse stesse.

Durante la campagna di ricerca sono state effettuate le seguenti operazioni:

- 1) Rilevazioni acustiche degli stock di piccoli pelagici con echosounder scientifico Simrad EK60, con 4 trasduttori split beam (ES38-12, ES70-7C, ES120-7 e ES200-7C) installati a scafo, aventi rispettivamente frequenze 38, 70, 120 e 200 kHz.
- 2) Campionamenti biologici di piccoli pelagici con rete pelagica dotata di sistema acustico Simrad ITI per il controllo della geometria della rete durante il campionamento. I
- 3) Campionamenti di acciughe per analisi della potenziale riproduttivo e l'applicazione di tecniche istologiche sui tessuti gonadici: In ogni cattura contenente esemplari di *Engraulis encrasicolus* vengono raccolti da 75 esemplari per specie che vengono misurati e processati a

bordo estraendone le gonadi femminili e conservandole in formalina tamponata al 10%.

4) Misurazioni dei parametri fisico-chimici della colonna d'acqua con sonda multiparametrica SEABIRD mod. 9/11 plus.

5) Campionamenti Ittioplanttonici e Zooplanctonici con retini BONGO40.

6) In specifiche stazioni sono stati raccolti campioni d'acqua per la stima degli isotopi stabili di azoto e carbonio nel POM. Il rilevamento dei profili delle variabili oceanografiche, attraverso sonda multiparametrica (CTD), ha permesso di individuare alcune quote a cui eseguire il campionamento di acqua attraverso le bottiglie Niskin.

Acquisizione dati acustici

- L'acquisizione dei dati acustici è stata eseguita con l'echosounder scientifico Simrad EK60. L'area di lavoro si estendeva da Trapani (Sicilia nord occidentale) GSA10 sino ad Imperia (Mar Ligure e Mar Tirreno Settentrionale) GSA9. Nel corso del survey sono stati acquisiti dati acustici con echosounder scientifico Simrad EK60 dotato di 4 trasduttori split beam (ES 38-12, ES 70-7, ES 120-7 e ES 200 7c) installati a scafo aventi rispettivamente frequenze 38, 70, 120 e 200 kHz. Nel corso dell'echosurvey è stato adottato un piano di campionamento (survey design) costituito da transetti paralleli disposti in direzione perpendicolare alla linea di costa e alle batimetriche (figura 1). Soltanto in alcuni casi (Sicilia settentrionale, costa calabra e parte della penisola sorrentina in Campania) è stato adottato un piano di campionamento con transetti disposti a zig-zag. L'adozione di tale disegno, legata alla particolare struttura delle batimetriche e della linea di costa, permette di stimare la biomassa delle specie ittiche pelagiche, tenendo conto dell'influenza della batimetria sulla variabilità spaziale delle aggregazioni di pesci. La distanza media tra i transetti paralleli era di 5 NM. La calibrazione dell'echosounder è stata effettuata nel corso delle precedente campagna oceanografica "Ancheva 2015" nella baia prospiciente il porto di Siracusa sempre con il metodo della sfera standard (Cupper) di TS noto (-33.6 per 38 kHz, -39.1 dB per 70 kHz, -40.4 dB per 120 kHz e -45.0 dB per 200 kHz) come consigliato da Mclannen (2002) (allegato 1).

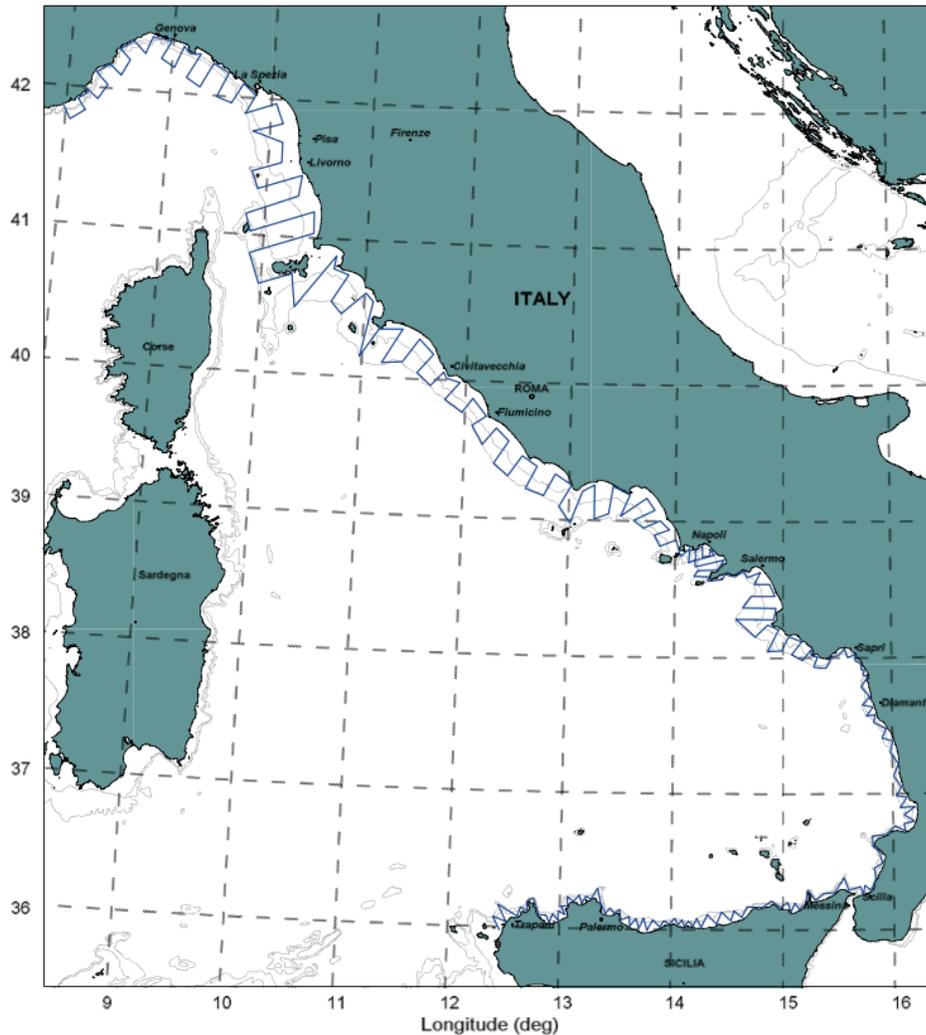


Figura 1: Transetti acustici effettuati nel corso della Campagna "EVATIR2015" a bordo della N/O "G. Dallaporta".

Campionamenti biologici

Durante il suddetto survey sono state eseguite complessivamente 47 cale (figura 2). I campionamenti biologici sono stati attuati mediante rete pelagica dotata di sistema acustico Simrad ITI per il controllo della geometria della rete durante il campionamento. La rete adoperata era di tipo "Volante Monobarca" di lunghezza complessiva 78 metri, lunghezza sacco 22 metri con maglia di 18 millimetri, apertura verticale ed orizzontale bocca rispettivamente 7 m e 13 m per un'area della bocca di 90 m² circa, maglia iniziale del corpo 252 (78 x 2 + 48 x 2) maglie da 600 mm. L'apertura orizzontale è assicurata dai divergenti mentre, quella verticale è determinata dai pesi che vanno alle mazzette inferiori, dalla catena sulla lima dei piombi e dai galleggianti sulla lima dei sugheri (figura 3).

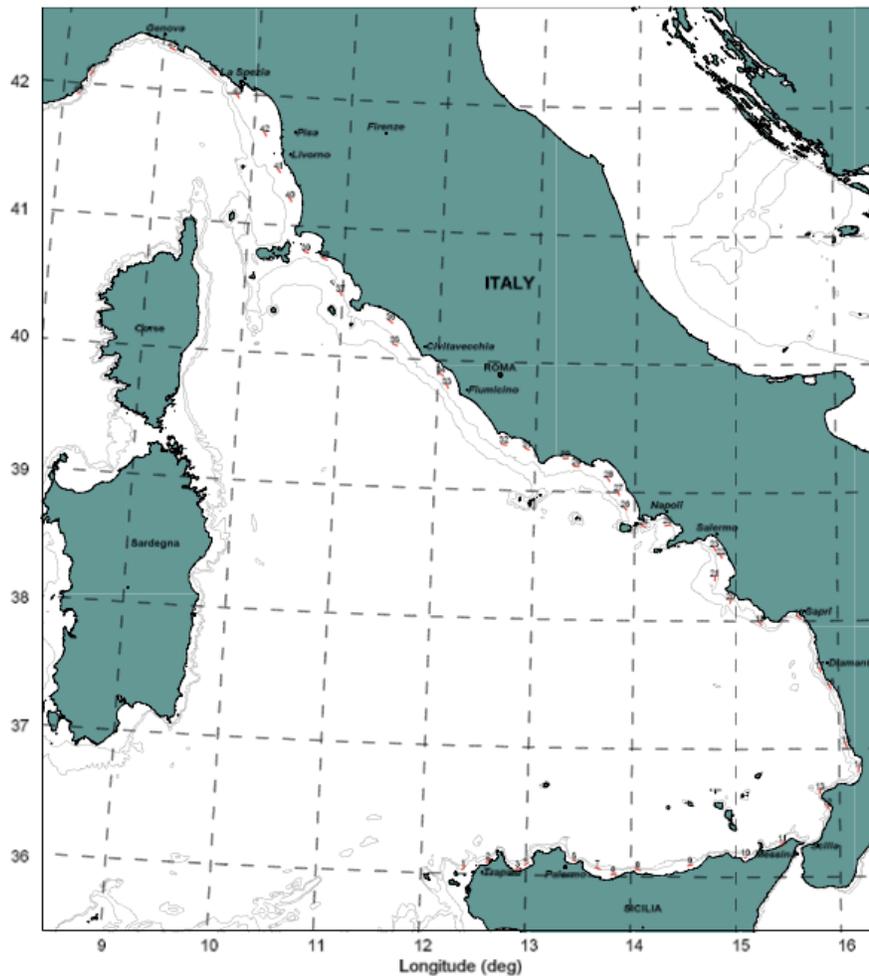


Figura 2: Posizione delle cale con rete pelagica e transetti acustici effettuati nel corso della Campagna "EVATIR 2015" a bordo della MN "G. Dallaporta".

Il cavo da traino in acciaio adoperato era di 16 mm di diametro con calamenti di cavo misto lunghi 70 m; i divergenti Grilli AR delle dimensioni di 190 x 115 cm e peso circa 240 kg ognuno.

Per l'impiego del sistema Simrad ITI, i sensori sono stati posti sulla parte superiore della bocca della rete mentre l'idrofono, per la trasduzione dei segnali acustici ricevuti in segnali elettrici, è stato installato sulla chiglia dell'imbarcazione (figura 3). Durante la cala l'imbarcazione ha viaggiato ad una velocità di 3.5-4 nodi e l'echosounder Simrad EK60 ha acquisito dati acustici utili sia al controllo del fondo ma anche alla successiva fase di post processing. Inoltre, è stato utilizzato il software "ITI log" della SIMRAD per registrare e in seguito elaborare sia i parametri dei sensori (temperatura, densità e profondità) che quelli relativi alla rete stessa quali apertura della bocca, distanza dal fondo, "clearance".

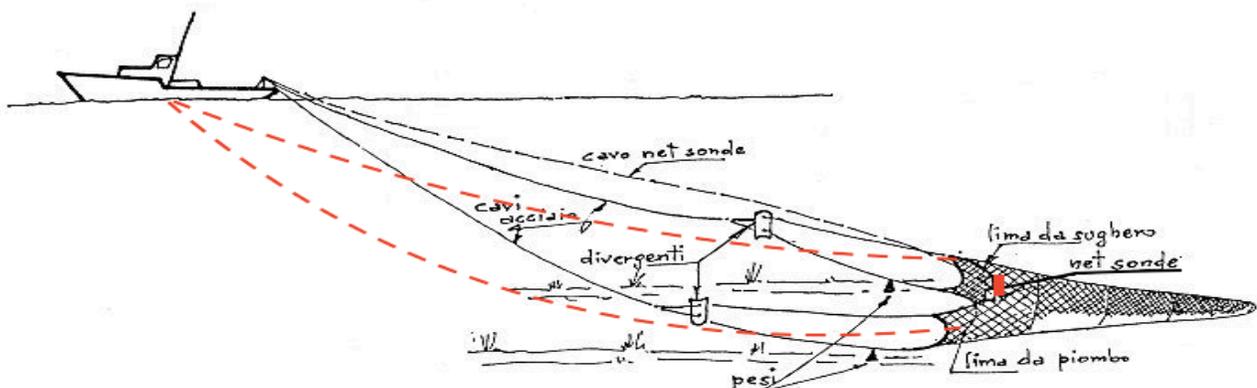


Figura 3: Schema di una rete "Volante Monobarca" dotata di sensori e trasduttori acustici.

Prima di eseguire la pescata è risultato necessario ispezionare il fondale lungo il transetto prestabilito dal piano di campionamento, grazie all'impiego dell'ecoscandaglio proprio al fine di individuare strutture (secche, massi isolati, relitti, risalite rocciose) che potessero diventare pericolose per la navigazione o ostacolare il corretto posizionamento della rete. In seguito alle suddette operazioni, la rotta è stata invertita e la rete è stata calata ripercorrendo il transetto al contrario. La durata di ciascuna cala è stata di mezz'ora; ogni cinque minuti sono state trascritte su supporto cartaceo le informazioni sulla cala registrate dai sensori posizionati alla bocca della rete quali: profondità, cavo filato, distanza tra la nave e la rete, velocità della nave, posizione della rete rispetto alla rotta della nave. Una volta imbarcata la rete, il totale del campione pescato è stato raccolto in contenitori chiamati "coffe" (figura 4) ognuna delle quali è stata pesata con una bilancia a molla (kg) in modo da stimare il peso totale del campione. Da quest'ultimo è stato prelevato un sub-campione che rappresentativo dell'intero pescato ed è stato sottoposto a processamento previa separazione dei pesci per specie (sorting)(figura 5).



Figura 4: Parte del campione pescato raccolto nelle coffe



Figura 5: Sorting

Per quanto riguarda le specie pelagiche, i singoli individui sono stati sottoposti a rilievi biometrici e divisi per classe di taglia; ogni classe è stata pesata. Le metodologie di campionamento impiegate per ognuna delle pescate effettuate ha seguito una ben definita procedura suddivisa in 2 passaggi distinti:

- Il primo prevede che la pescata venga pesata per intero e successivamente suddivisa per specie creando le seguenti classi: specie target 1 (*Engraulis encrasicolus*), specie target 2 (*Sardina pilchardus* e *Trachurus spp.*), altre specie pelagiche (OPS, another pelagic species), specie demersali. Un campione rappresentativo della pescata per ogni specie pelagica viene esaminato per la rilevazione dei principali parametri. In particolare le specie ittiche pelagiche, sono raggruppate in classi di taglia al cm, e gli individui contati e pesati a gruppi di taglia con l'accuratezza di 0.1 g. Anche le specie demersali sono suddivise in classi di taglia e pesate a gruppi. Altri gruppi zoologici quali crostacei e molluschi vengono contati e pesati senza suddivisioni in alcuna classe di taglia.

Per le specie target principali (sardine, acciughe e tracuri) oltre al primo passaggio vengono anche rilevati a bordo i parametri quali la lunghezza totale al mm, il peso totale (0.01g), il sesso e la maturità delle gonadi. La maturità gonadica viene determinata mediante ispezione macroscopica delle gonadi ed adottando una scala di maturità redatta in un apposito workshop internazionale ICES nel 2008 (ICES, 2008 – WKSPMAT) (allegato 2). Nel contempo, dalla “coffa campione” sono stati selezionati 10 esemplari per classe di taglia dai quali successivamente sono stati estratti gli otoliti per la determinazione dell'età. In dettaglio, presso i laboratori dello IAMC CNR UOS di Capo Granitola gli otoliti vengono letti secondo i criteri definiti durante i workshop ICES (ICES, 2010 – WKARA) (allegato 3).

La determinazione del sesso, maturità ed età consente di ottenere stime della struttura della popolazione investigata. Rispetto alla stima indifferenziata della biomassa questa suddivisione in classi di maturità e d'età consente, infatti, di valutare la capacità di rinnovo della popolazione di compensare l'effetto delle catture commerciali (Resilienza della popolazione). Tale caratteristica è di fondamentale importanza nelle specie a vita breve come acciughe e sardine.

- Oltre alle metodologie di campionamento elencate sopra, sono stati raccolti e conservati:
 - 1) esemplari di *Engraulis encrasicolus* per l'analisi del potenziale riproduttivo e l'applicazione di tecniche istologiche sui tessuti gonadici (Daily egg production method, DEPM). In ogni cattura contenente le suddette specie sono stati raccolti 75 esemplari per specie, misurati e processati a bordo, estraendone le gonadi femminili e conservandole in formalina tamponata al 10%;
 - 2) Alcuni campioni di *Engraulis encrasicolus* e *Sardina pilchardus*, *Trachurus trachurus* e

Merluccius merluccius sono stati conservati mediante congelazione a -20°C , per le successive analisi:

- Valutazione della dieta mediante esame del contenuto stomacale;
- prelievo del muscolo dorsale per effettuare analisi isotopiche di Azoto e Carbonio al fine di valutare la posizione trofica e le sorgenti alimentari utilizzate dalle suddette specie.

Misurazione dei parametri fisico-chimici

Durante la suddetta campagna oceanografica sono state eseguite 279 campionamenti con sonda CTD (figura). Le misurazioni dei parametri fisico-chimici della colonna d'acqua sono state eseguite con sonda multiparametrica SEABIRD mod. 9/11 plus. La sonda multiparametrica, impiegata in corrispondenza dei vertici dei transetti acustici, è stata calata in mare a nave ferma dal portale posto sulla paratia destra dell'imbarcazione con verricello a doppio tamburo e cavo in acciaio da 8 mm. I sensori collegati alla CTD (figura 6) rilevavano pressione, temperatura (primario e secondario), conducibilità (primario e secondario), fluorescenza, ossigeno disciolto (primario e secondario), trasmissione della luce, SPAR e PAR. In specifiche stazioni, disposte lungo transetti costa-largo, è stata campionata la colonna d'acqua con bottiglie Niskin per valutare la stima di nutrienti e degli isotopi stabili di azoto e carbonio nel POM.



Figura 6: Sonda multiparametrica SEABIRD mod. 9/11 plus utilizzata per misurazioni di parametri oceanografici della colonna d'acqua e raccolta dei campioni mediante bottiglie Niskin per la stima di nutrienti e degli isotopi stabili di azoto e carbonio nel POM .

Campionamenti ittioplanttonici e zooplanctonici

Durante Evatir 2015 sono stati eseguiti complessivamente 18 campionamenti con Bongo40 (figura 7, a e b) conservati in bottiglie Kartell di polietilene da 200 ml. Il Bongo40 è un campionatore composto da due retini accoppiati, con bocca di diametro di 40 cm, tenuti da una struttura di acciaio a due anelli e depressore per la stabilità durante il traino. La cala del Bongo40 è obliqua e viene effettuata dalla superficie sino ai 100 m e ritorno in superficie, trainandolo ad una velocità costante di 2 nodi con un'inclinazione del cavo di traino di circa 45 gradi. Due flussimetri GO hanno permesso di controllare il volume filtrato e l'efficienza della filtrazione. Per il BONGO40 la velocità di discesa è di 0.75 m/s e quella di risalita è pari a 0.33 m/s. I campioni sono stati conservati in contenitori Kartell di polietilene da 200 ml in modo separato rispetto a ciascuna bocca: una fissata in formalina neutralizzata al 40% , e l'altra congelata a -20°C. I campioni raccolti con il Bongo40 sono stati impiegati per lo studio della popolazioni zooplanctoniche per le analisi degli isotopi stabili di azoto e carbonio.

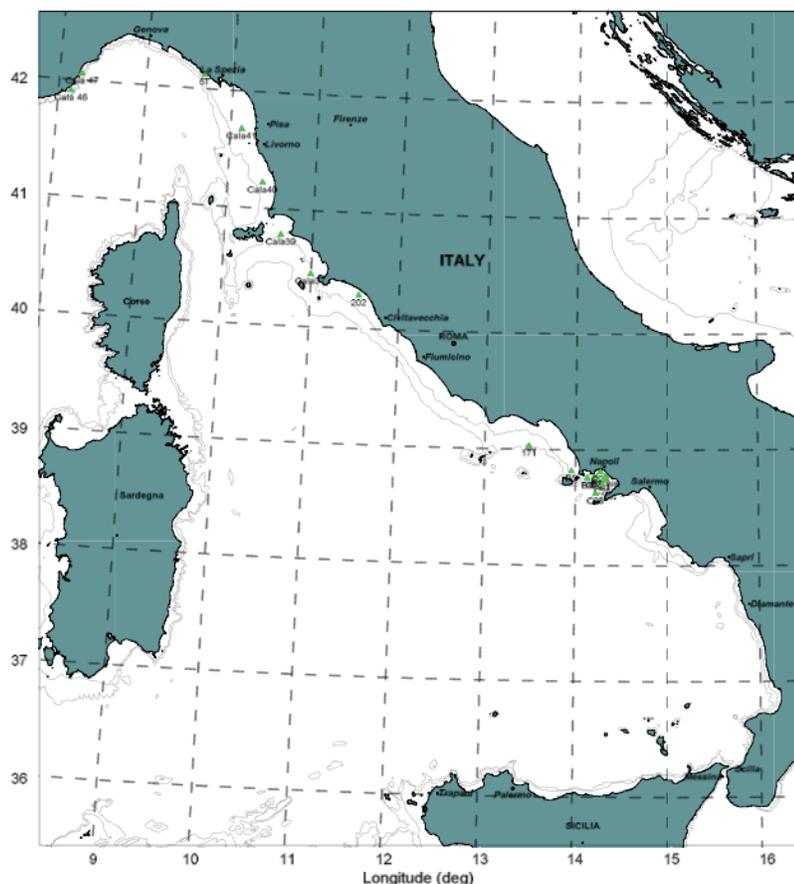


Figura 8 a): Posizione delle stazioni con Bongo 40. Campagna "Evatir 2015" a bordo della N/O "G. Dallaporta"



Figura 7 b): Bongo 40

Bibliografia

MacLennan, D.N., Fernandes, P., Dalen, J. (2002). A consistent approach to definitions and symbols in fisheries acoustics. ICES J. Mar. Sci. 59, 365–369.

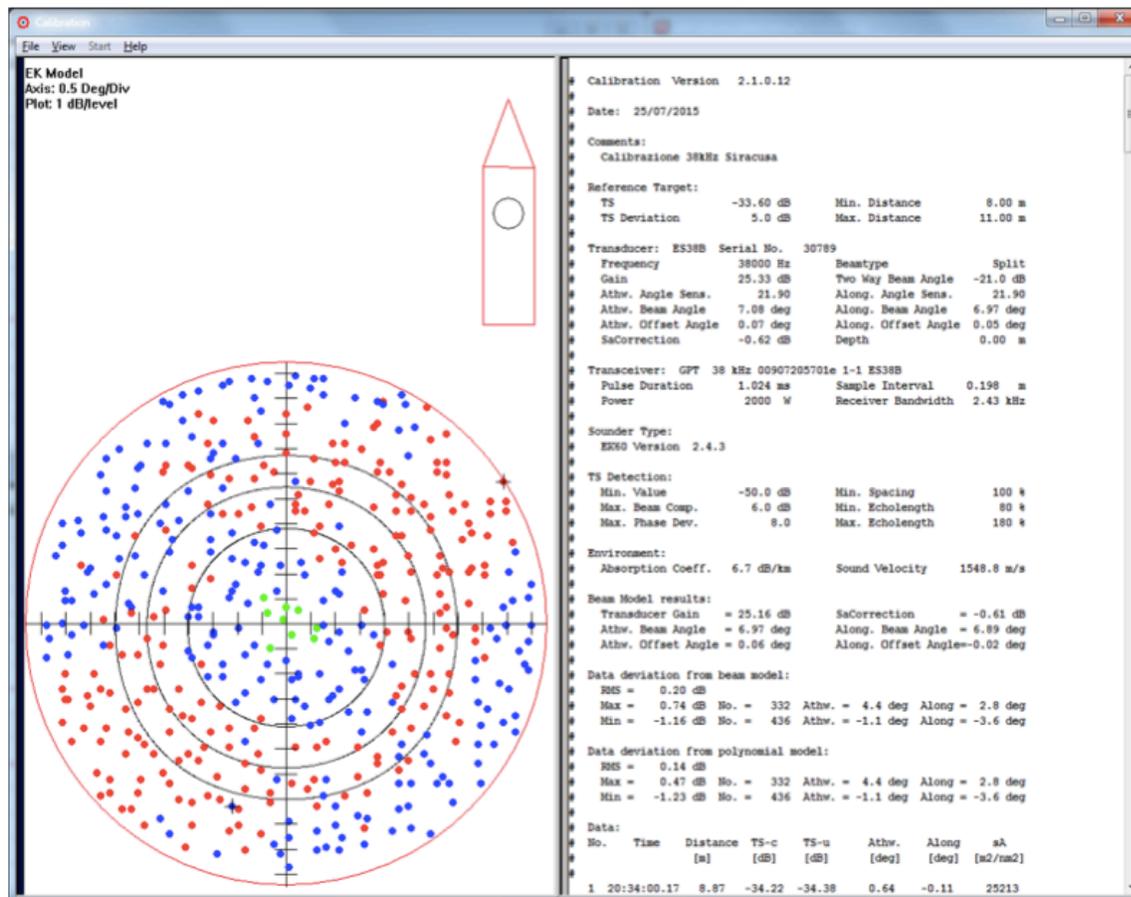
ICES. 2008. Report of the Workshop on Small Pelagics (*Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus*) maturity stages (WKSPMAT), 10–14 November 2008, Mazara del Vallo, Italy. ICES CM 2008/ACOM:40. 82 pp.

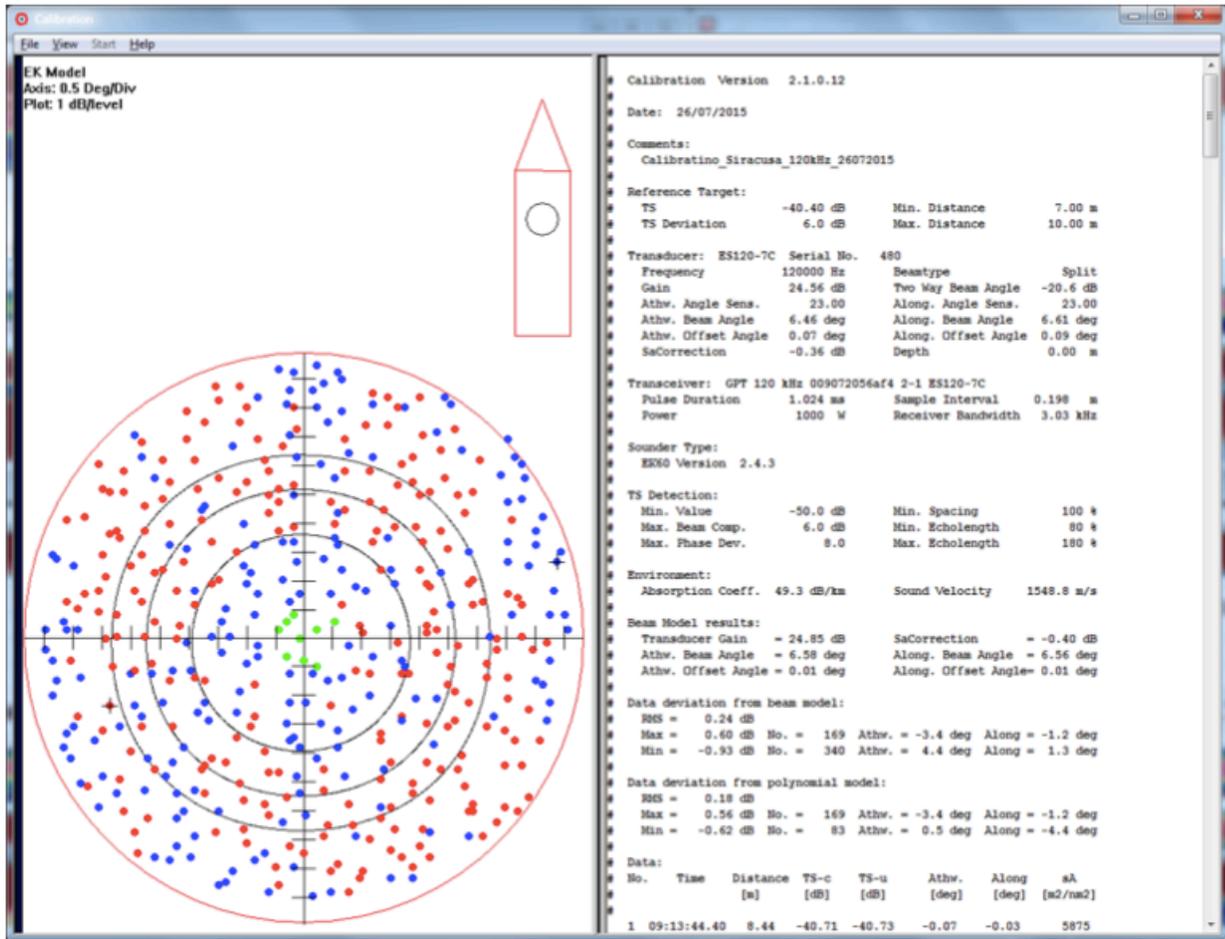
ICES. (2010). Report of the Workshop on Age reading of European anchovy (WKARA), 9-13 November 2010, Sicily, Italy. ICES CM 2010/ACOM:43. 122 pp.

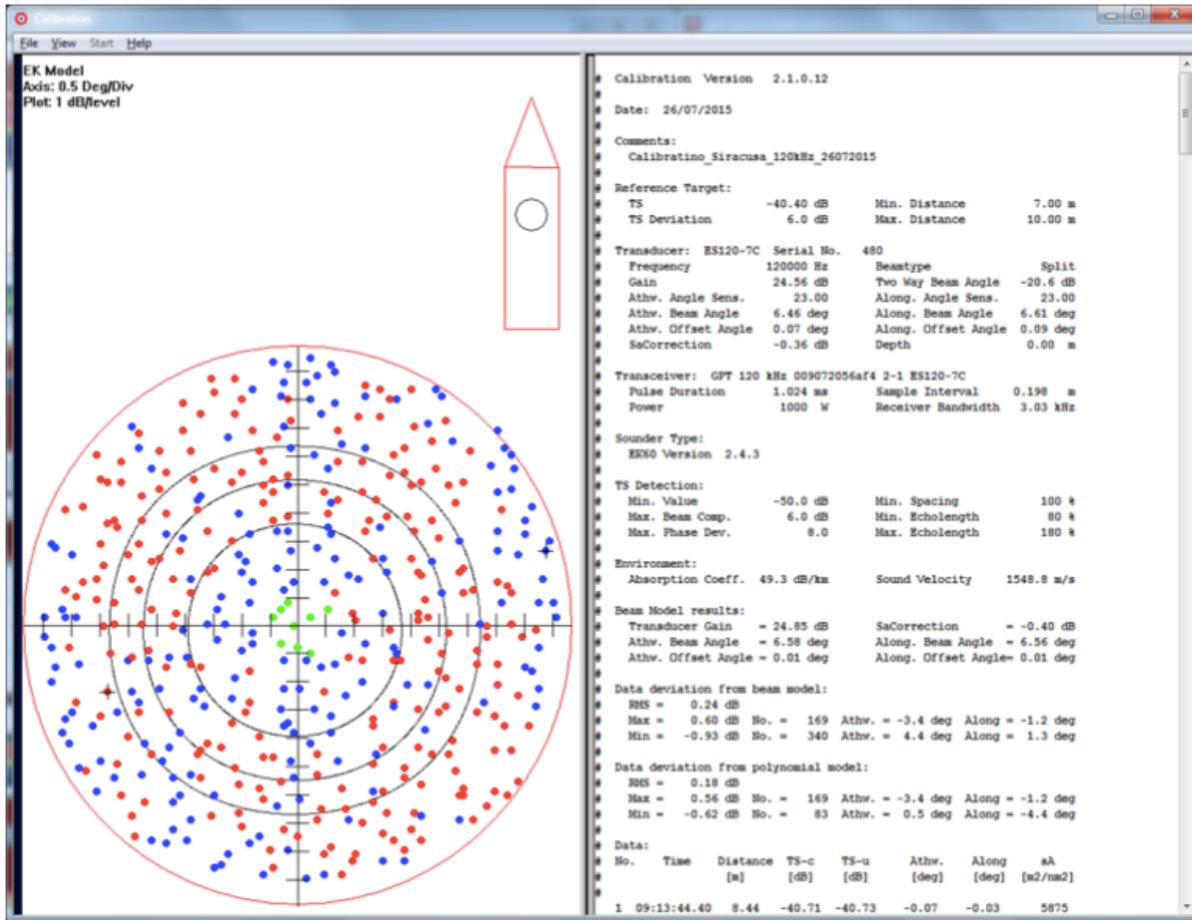
Allegato 1:

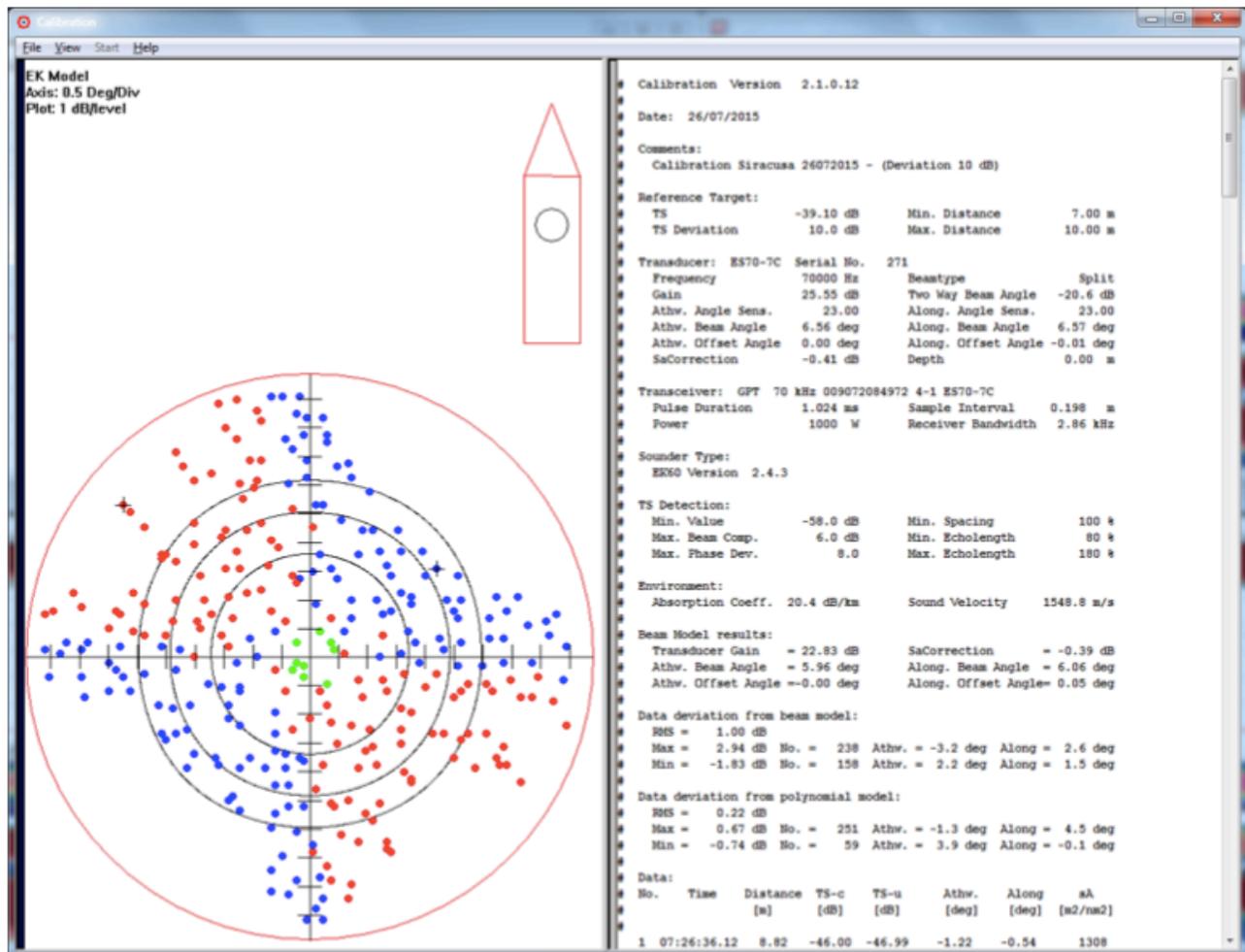
Report di calibrazione dei trasduttori dei split beam dell'echosounder EK60. Ancheva 2015

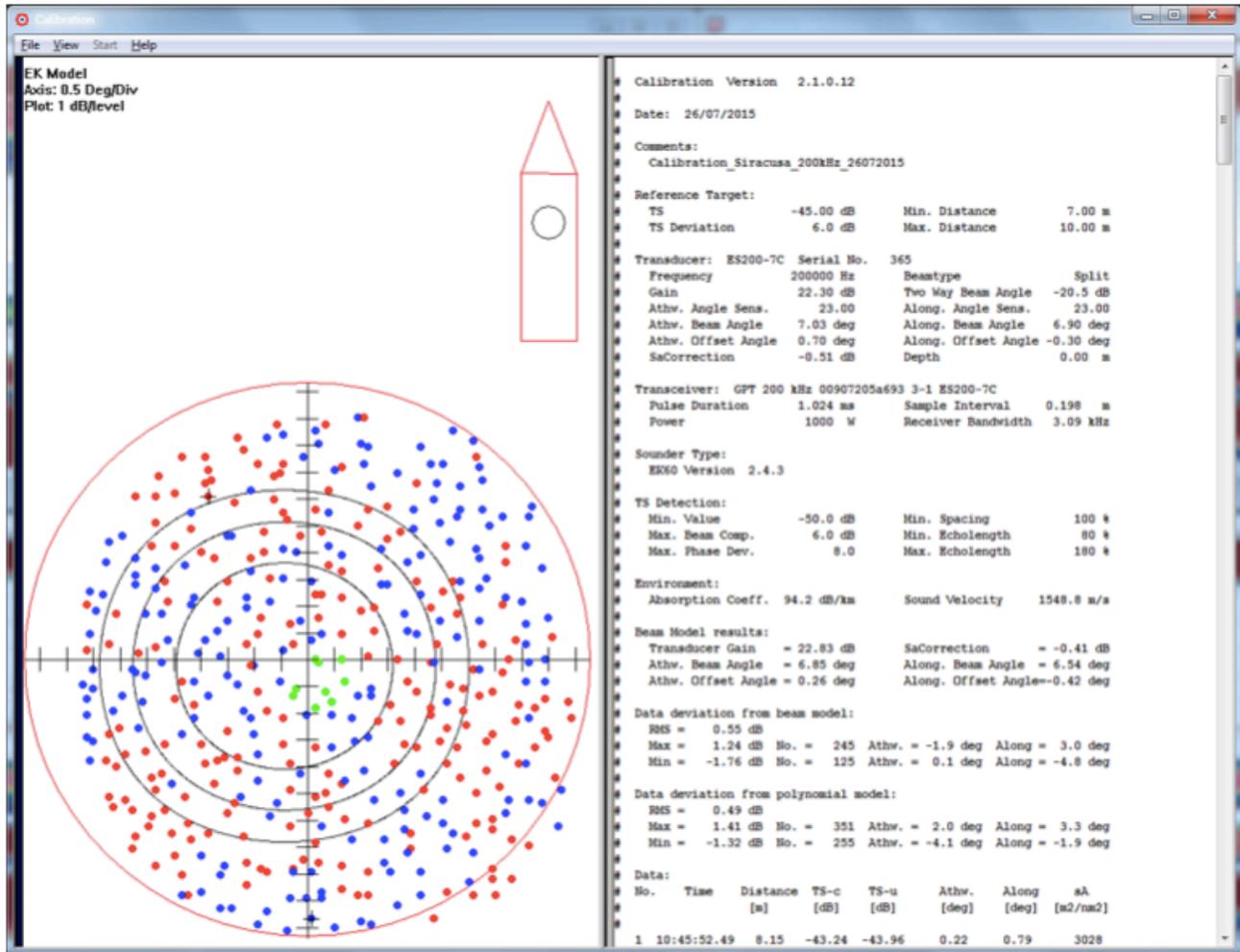
Calibration in Siracusa (pos.: Lat 37 02.568 N, Long 15 17.457 E)











Allegato 3:

Protocollo per la lettura dell'età (ICES, 2010 – WKARA)

First of January adopted as a birthdate: if an otolith is collected from a fish caught in the first semester of the year, the age group assignment will correspond to the number of hyaline rings present. If the otolith is extracted from a fish caught in the second semester of the year the age group assigned will correspond to the hyaline rings completely formed, i.e. if the edge of the otolith is hyaline it will be not considered.

First of July as a birthdate: opposed to previous.

After the extraction the otoliths are washed thoroughly dried mounted and preserved in a synthetic resin or stored dried.

The observations of entire otoliths are made under reflected light using dissection microscopes with 20-25X magnification.

Magnification should be increased near the otolith edge to improve the discrimination of narrow hyaline rings in older individuals.

For each otolith, the number of true hyaline rings (excluding the edge), edge type, age assigned and readability (0 - good, 1 - medium, 2 - difficult), as well as false rings (checks) must be recorded.

If a faint ring occurs at a distance where a true ring should be expected (based on the diameter of the 1st annual ring) it could be also considered as a true ring for age assignment.

Since in the older specimens growth often slow down to such an extent that hyaline rings are very close each other, they are counted even if they are not continuous all around the otoliths.

When hyaline rings are very close each other forming a cluster (two or more very close rings), generally appearing in the antirostrum, we consider them as a single ring.

Assigning 1st of January as birthdate or Assigning 1st of June as birthdate, the age of fish is underestimated or overestimated respectively. Two main conclusions can be drawn:

Overall age estimates derived from monthly samples collected all the year around are not influenced by assigning 1st of January or 1st of June as alternative birthdates. Anyway, by assigning 1st of January as birthdate of anchovy we accomplish the conventional use but not the biological data on reproductive biology, viceversa by assigning 1st of June as birthdate. Independently of the birthdate to be assigned for ageing purposes, it is mandatory to collect monthly samples all the year around to be sure to compensate age estimate inconsistencies.

Recommendations

- In order to support the identification of the 1st annual ring, the otolith radius of the first hyaline ring must be measured and used as a gauge for exclude the first check in ageing older individuals;
- Validation of first annulus has to be done and could be based on the micro-increment counts (daily rings);
- In order to identify when the hyaline/opaque rings are laid down, the otolith edge seasonal evolution should be followed across the year for different age classes and areas;
- Each reader in each area should regularly calibrate his age readings with the reference collection produced during this workshop; a workshop joining readers from the different areas should periodically (3 years) take place;

- This Workshop agreed that any decision concerning the use of the birthdate criterion in anchovy age assignment and its consequences in the stock assessment must be preceded by a more detailed analysis of juvenile fish otoliths and a broader discussion in other Working Groups;
- A strong need rises up from discussions and results of WKARA on planning a standardization meeting on the micro-increment analysis of the European anchovy otolith among Mediterranean and Atlantic partners.

Allegato 4:

Principali conclusioni del WKSPMAT

Workshop on Small Pelagics (*Sardina pilchardus*, *Engraulis encrasicolus*) maturity stages (WKSPMAT) 10 – 14 November 2008, Mazara del Vallo, Italy.

Discrepancies in maturity stage identification among laboratories, even when the same maturity scale is used, were detected during the Workshop. Most discrepancies were difficult to overcome also after a joined training session using the same scale. Otherwise some other discrepancies were overcome by the new stage maturity standard key.

The detection of referred discrepancies were possible within this kind of workshop, where scientists from different institutes classified the same gonad, with the same maturity key, and explained what the macroscopic characteristics were that concluded to a given classification. Also the presence of experts in reproduction biology, namely in histology, is an essential key to support the correct macroscopic identification and to link them with the reproductive cycle.

The proposed standard maturity stage key takes into account the reproductive cycle which allow an easier interpretation of the stage classification. Maturity ogives should only be based on data collected during the peak of the spawning season considering geographical variation, because it is impossible to macroscopically distinguish immature and resting females. The proportion of resting females during the peak of the spawning season is lower than the rest of the year.

Monthly analyses of gonadosomatic index are an important tool for the spawning season identification. However this index and also the condition factor and the hepatosomatic index do not allow the identifications of the maturity stage and the differentiation between immature and mature fish. Gonads freshness is very important to the correct maturity stage identification.

Gonads that were frozen can present colour change and flaccidity that are because of the freezing process and not indicative of the post-spawning stage. Also frozen gonads are not appropriate for performing histology.

The calibration exercise performed during this Workshop was very useful, because the observation of fresh gonads, instead of photos, allows for a better description of some macroscopic characteristics.

More histology work should be carried on. The differentiation between immature and resting females is possible by the means of histology. Also histology on males should be undertaken to distinguish between stages I and II and on females to distinguish between stages II/IIIb, where the flaccidity is the only difference between these stages.

Final Maturity table obtained from the WKSPMAT work group

Stage	Activity	Stage Name	FEMALE	MALE
1	Inactive	Immature or Rest	Invisible or very small ovaries (cord shaped), translucent or slightly coloured (when resting)	Very small testis, translucent. Sex is very difficult to identify; Small testis, colour orange-red (when rest)
2		Developing	Wider ovaries occupying 1/4 to 1/3 of body cavity; pinkish or yellow colour. Visible oocytes are not present	The testis occupy approximately 1/3 of the abdominal cavity. White-Greyish Colour
3	Active	Imminent spawning	Ovaries occupying 3/4 to almost fitting body cavity; opaque with yellow or orange colour. Opaque oocytes are visible.	Whitish to creamy testis long about 2/3 of the body cavity. Under light pressure, sperm is not expelled
4		Spawning	Large ovaries occupying the full body cavity; fully or partially translucent with gelatinous aspect. Hyaline oocytes are visible	Whitish-creamy soft testis occupy the full body cavity. Under light pressure, sperm is expelled freely
5		Partial post-spawning	Size from 1/2 to 3/4 of abdominal cavity; not-turgid ovaries with hemorrhagic zones. Blood coloured	Deflated testicles occupy up to 2/3 of the body cavity, brownish/reddish colour.
6	Inactive	Spent	Reddish ovary shrunked; Size less than 2/3 of abdominal cavity Flaccid ovary. Some small opaque oocyte	Flaccid and thin testicles with haemorrhagic aspect.