

Corso di Dottorati in Scienze Ambientali
XXII Ciclo

Università degli Studi Ca' Foscari di Venezia
Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali

Strategie di vita di *Thunnus thynnus* nel Bacino
Mediterraneo: evidenze da indagini geochimiche e
biologiche

Tesi di dottorato di Simona Genovese
matricola n. 955326

Coordinatore del Dottorato:
Prof. Bruno Pavoni

Tutor: Prof. Giovanni Maria Zuppi

Co-Tutor: Dott. Mario Sprovieri

INDICE

<i>RIASSUNTO</i>	4
1. INTRODUZIONE	6
1.1. Gli otoliti: caratteristiche morfo- strutturali e posizione nelle capsule otiche.....	6
1.2 Cenni di biologia della specie <i>Thunnus thynnus</i>	9
1.3 Caratteri chimici del carbonato degli otoliti	13
1.4 Distribuzione di Sr, Mg e Ba nelle acque atlantiche e mediterranee.....	16
1.5 Obiettivi del lavoro di ricerca	18
2. MATERIALI E METODI	19
3. RISULTATI	29
3.1. Otoliti di organismi Adulti.....	32
3.1.1. <i>Otolite 1A</i>	34
3.1.2. <i>Otolite 3A</i>	37
3.1.3 <i>Otolite 9F</i>	40
3.1.4. <i>Otolite 12F</i>	43
3.1.5 <i>Otolite 13F</i>	46
3.1.6. <i>Otolite 22F</i>	49
3.1.7 <i>Otolite 62F</i>	52
3.1.8 <i>Otolite 1D</i>	54
3.1.9 <i>Otolite 3D</i>	57
3.1.10 <i>Otolite 4D</i>	60
3.2 Otoliti di organismi di età compresa fra zero e un anno	63
3.3.Otoliti di larve	65
3.4.Analisi di elementi in traccia misurati spot a 60 µm in LA-ICP-MS	66
4. DISCUSSIONE	76
4.1 E' possibile, sulla base di una statistica adeguata e robusta, discriminare tra chimica delle bande di accrescimento stagionale (opache e ialine) per gli esemplari di <i>T.thynnus</i> analizzati?	77
4.2 "Chemical signature" e "Stock discrimination" per la specie <i>T.thynnus</i>	79
5. CONCLUSIONI	89
<i>Ringraziamenti</i>	91
BIBLIOGRAFIA	92
ALLEGATO I	99
ALLEGATO II	110

Riassunto

Thunnus thynnus è uno delle più importanti specie commerciali di tonno presenti all'interno del bacino Mediterraneo e nell'oceano Atlantico .

Negli ultimi anni, un forte incremento nello sforzo di pesca esercitato su questa specie ha comportato una drastica riduzione nel numero di organismi di *T. thynnus* a scala globale (Sissenwine et al., 1998; SCRS, 2002). L'attuale gestione delle politiche di pesca per questa specie si basa sulla conoscenza del fatto che le due principali zone di spawning di *T. thynnus* sono localizzate nel mar Mediterraneo e nel Golfo del Messico. Inoltre, una serie di evidenze scientifiche basate su dati di rilevamento satellitare di un numero discreto di organismi congiuntamente a studi relativi alla chimica degli otoliti prelevati da un numero ridotto di esemplari della medesima specie, suggeriscono eventi di migrazioni trans-oceaniche di *T. thynnus* che sembrano mettere fortemente in dubbio il concetto di “confine di gestione” degli stocks di questa risorsa recentemente proposto dall’ICCAT (*International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas*) (Magnuson et al., 1994; Lutcavage et al., 1999; Block et al., 2001,2005; Rooker et al., 2006).

Il recente sviluppo di tecnologie adeguate allo studio della chimica di campioni di ridottissime dimensioni ha permesso di utilizzare dati di chimica del carbonato biogenico degli otoliti presenti all'interno di pesci come “record” puntuale delle masse d'acqua all'interno delle quali gli organismi sono vissuti (Thresher, 1999) e quindi come affidabili strumenti di “stock discrimination” (Secor and Rooker 2000; Campana and Thorrold 2001). Il carbonato aragonitico degli otoliti, precipitando continuamente durante la crescita dell'individuo, incorpora in proporzione sostanzialmente lineare all'acqua di mare, elementi chimici vicarianti del calcio fornendo una marcatura naturale delle masse d'acqua all'interno delle quali gli organismi sono vissuti. Un ampio spettro di esperimenti eseguiti in ambiente controllato (Kalish, 1989; Arai et al., 1995, 1996, Fowler et al., 1995; Limburg 1996; Townsend et al., 1995; Radtke et al., 1990, Sadovy et al., 1992) e in ambiente naturale (Secor et al., 1995; Gallahar & Kingsford 1996; Tzeng 1996; Mugiyama et al., 1995) hanno chiaramente dimostrato l'esistenza di tale proporzionalità nella concentrazione di alcuni elementi vicarianti del calcio (in particolare Mg, Sr, Ba, Cd) all'interno dell'aragonite dei pesci e nell'acqua di mare. I lavori di Campana (1999) e Bath, et al., (2000) suggeriscono che soprattutto il Ba nel carbonato degli otoliti, sembra riflettere la chimica delle masse d'acqua all'interno delle

quali vivono gli organismi con limitati effetti legati alla termodinamica (T, S, etc.) di incorporazione nel carbonato stesso.

In questo lavoro di ricerca vengono presentati i risultati di un'ampia indagine analitica in LA-ICP-MS effettuata su un elevato numero di otoliti di esemplari di *T. thynnus* pescati nel bacino Mediterraneo e nel Golfo del Messico. I risultati si riferiscono alla misura dei valori di concentrazione di un numero discreto di elementi in tracce (Sr, Mg e Ba) su incrementi annuali di otoliti.

Un approfondito studio statistico dei risultati ottenuti ha permesso di individuare chiaramente i periodi di vita dei diversi organismi studiati trascorsi in area atlantica e in area mediterranea e pertanto di ipotizzare strategie di vita diverse per questa specie di tonno.

I dati sono stati confermati da ulteriori analisi eseguite su esemplari di *T. thynnus* in stadio giovanile e larvale, utilizzati quindi come *marker biologici mediterranei*.

Inoltre in questo lavoro di tesi sono state presentate delle informazioni preliminari relative alla distribuzione di una suite di elementi in traccia (Sc, T, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Y, Zr, Nb, Mo, Cd, Cs e Pb).

Tale dataset rappresentando il primo del genere, possa essere di aiuto nel guidare studi più approfonditi per i diversi elementi investigati, soprattutto in termini di concentrazioni medie presenti per i diversi analiti nel carbonato degli otoliti di *T. thynnus*.

1. INTRODUZIONE

1.1. Gli otoliti: caratteristiche morfo- strutturali e posizione nelle capsule otiche.

All'interno dell'apparato vestibolare dei teleostei esistono 3 paia di otoliti (*sagitte*, *lapilli* e *asterischi*), analoghi agli *otoconi*, formati da una matrice costituita da carbonato di calcio e una proteina simil-cheratinosa (otolina) (Mugiy 1987) (Fig.1.1).

Gli anelli di accrescimento degli otoliti (caratterizzati da tipiche alternanze opache e ialine) fin dal diciannovesimo secolo sono stati utilizzati come utili *marker* per la determinazione dell'età dei pesci (Morales-Nin, 2000).

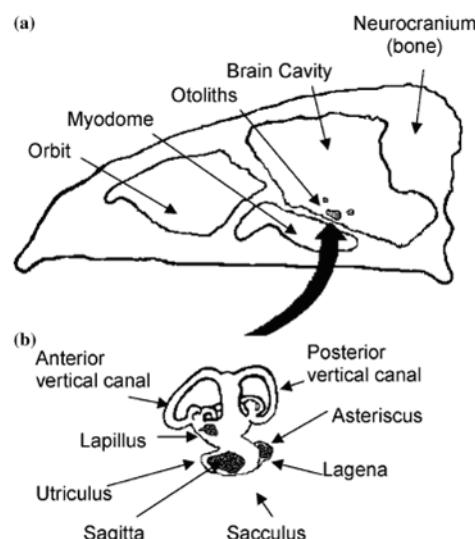


FIG. 1.1. Anatomia dell'apparato vestibolare dei pesci teleostei (da Degens *et al.*, 1969)

La sagitta, tipicamente schiacciata in senso dorso ventrale, è caratterizzata da una zona prossimale convessa, una distale concava e infine dall'asse di crescita principale orientato in direzione antero/posteriore (Fig.1.2). In molti pesci epipelagici, pelagici e di profondità la parte dorsale e ventrale degli otoliti è asimmetrica, il che rende la sagitta a forma di farfalla (Panfili *et al.*, 2002).

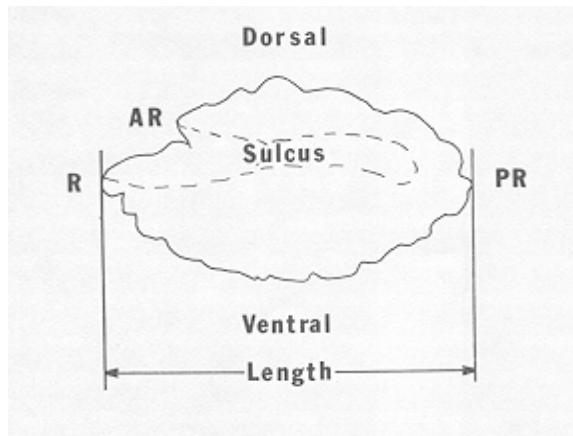


FIG 1.2. Sagitte di teleosteo. AR= antirostro; Pr= postrostro; R =Rostro; Sulcus: solco acustico (da Secor *et al.*, 1991)

Le 3 paia di otoliti si trovano in 3 camere separate, chiamate *casse otiche*, comunicanti fra di loro attraverso 3 canali semicircolari (Dunkelberger *et al.*, 1980; Platt *et al.*, 1981). Il sistema vestibolare dei pesci si è evoluto al fine di mantenere l'equilibrio dell'organismo attraverso lo sviluppo di cellule sensibili alla pressione, movimento e vibrazione (Lowenstein, 1971).

Secondo Morales (2000) la crescita degli otoliti è regolata da una combinazione complessa di fattori endogeni ed esogeni all'individuo stesso. In particolare, essi si formano per effetto della precipitazione del carbonato di calcio del fluido dal sacco endolinfatico all'interno dal sacculo in specifici siti di nucleazione, la crescita dell'individuo stesso (Gauldie *et al.*, 1995).

La chimica del fluido otico è regolato fisicamente dalle concentrazioni di ATP che attraverso una membrana determina il chimismo dell'endolinfa e della perilinfa (Rauch, 1963). Queste proteine vengono sintetizzate dalle cellule della macula (Gauldie *et al.*, 1988; Zhang, 1992) e sono incorporate dall'otolite in due fasi successive: la prima è associata alla costituzione della struttura "twinned" dell'aragonite (Gauldie *et al.*, 1995); la seconda, invece, forma una banda densa di fibre corrispondenti in misura ed orientamento ad una sequenza discontinua di microincrementi giornalieri (Dunkelberger *et al.*, 1980; Morales- Nin 1986). In particolare, quest'ultima fase potrebbe riflettere una combinazione nella tipologia di proteine differenti all'interno della macula (Gauldie *et al.*, 1988). Peraltro, le proteine all'interno dell'otolite agiscono come un componente significativo del meccanismo di controllo nella formazione e morfologia dell'otolite (Dunkelberger *et al.*, 1980; Gauldie 1991, 1993; Zhang 1992).

Come precedentemente accennato, la calcificazione degli otoliti è limitata dal numero di siti di nucleazione presenti all'interno della cassa vestibolare, così come dalle

condizioni chimico-fisico presenti all'interno della stessa (Mann *et al.*, 1989). Nello specifico, il tasso di produzione della matrice proteica all'interno della cassa vestibolare determina il tasso di calcificazione dell'otolite (Wright, 1991). La matrice, composta da una proteina simil-cheratinosa è più densa durante la prima fase di sviluppo dell'organismo e la sua composizione amminoacidica cambia in relazione all'età dell'individuo (Degens *et al.*, 1969).

Benché, la matrice proteica abbia un'alta affinità per il carbonato di calcio, essa non sembra essere influenzata dai fenomeni e tassi di crescita dell'aragonite.

I tassi di secrezione del carbonato di calcio alternati alle proteine determinano l'alternanza dei microincrementi carbonatici dell'otolite. Tali alternanze sistematiche sono composte da 2 unità: un'unità (ialina) ricca di microcristalli di aragonite aciculare all'interno di una matrice organica tridimensionale, che al microscopio a luce trasmessa appare di aspetto traslucido e un'unità discontinua, opaca, in luce trasmessa e traslucida in luce riflessa (Mugiya, 1987; Morales- Nin 2000; Tzeng, 1999).

La precipitazione del materiale organico ed inorganico dal fluido del sacculo è controllata dal pH, sotto diretto controllo ormonale (Wright, 1991) dell'organismo. Inoltre, la crescita degli otoliti non avviene a contatto con nessun tessuto cellulare. Essi sono legati alla macula da una matrice proteica (membrana otica) lungo il solco acustico (Dunkelberger *et al.*, 1980). Le cellule della macula sono la fonte principale di ioni calcio e delle proteine che costituiscono l'otolite (Mugiya, 1987; Gauldie *et al.*, 1988).

Recenti studi hanno dimostrato che il tessuto del sacculo è costituito da ionociti impilati in una miscela più spessa e densa (Dunkelberger *et al.*, 1980), il che suggerisce che la macula ha un ruolo predominante nel processo di cristallizzazione (Morales- Nin, 2000).

Tale informazione permette di dimostrare che la cristallizzazione dell'otolite è prodotta, tranne che nell'area chiusa alla macula, al di fuori dei fluidi del sacco endolinfatico (Mugiya, 1966). Secondo Campana e Neilson (1985) la periodicità nella formazione degli incrementi è regolata strettamente da fenomeni endogeni ed è indotta dal fotoperiodo, benché altri fattori, come le fluttuazioni di temperatura e la frequenza di alimentazione, sembrano influire differentemente sulla formazione di sistemi subalterni. Evidenze a supporto della teoria della regolazione endogena della formazione delle alternanze degli otoliti sono derivate da alcuni esperimenti, che evidenziano che l'accrescimento degli anelli giornalieri è costante a prescindere dalle condizioni di luce e/o in assenza di variazioni cicliche di fattori ambientali (Campana, 1984; Radtke *et al.*, 1982; Wright *et al.*, 1992).

1.2 Cenni di biologia della specie *Thunnus thynnus*

La specie *T. thynnus*, appartenente alla famiglia degli Scombridae, possiede tratti evolutivi che gli permettono di esplorare ambienti assai diversi, dalle acque calde tropicali a quelle subpolari del Nord Atlantico. Tali caratteristiche lo rendono un migratore per eccellenza (Matther *et al.*, 1995; Collette, 2001; Fromentin *et al.*, 2005; Turner *et al.*, 1995; Block *et al.*, 2005).

L'attuale gestione delle politiche di pesca di tale gruppo di organismi si basa sulla definizione di due principali zone di spawning: il Mar Mediterraneo e il Golfo del Messico.

Evidenze scientifiche e dati acquisiti con sistemi di rilevamento satellitare (Tag) congiuntamente a studi sulla geochimica degli otoliti appartenenti a questa specie, indicano l'esistenza di migrazioni trans-oceaniche che sembrano mettere in dubbio l'affidabilità del concetto proposto dall'ICCAT di un reale ipotetico "confine di gestione" in età adolescenziale ed adulta degli stocks di tale gruppo di organismi (Magnuson *et al.*, 1994; Lutcavage *et al.*, 1999; Block *et al.*, 2001, 2005; Rooker *et al.*, 2006).

Block *et al.* (2001; 2005) hanno evidenziato tramite uso di tag satellitari l'esistenza di due stocks nord Atlantici con attività di spawning principalmente tra il Golfo del Messico e il mar Mediterraneo; i due stock si "sovraporrebbero" durante la sola fase adolescenziale ed adulta, mentre sembra che rimangano sostanzialmente separati durante il periodo di spawning.

Inoltre sempre Block *et al.* (2001) hanno evidenziato forti migrazioni giornaliere sia verticali che orizzontale (Fig. 1.3) in brevi periodi di tempo.

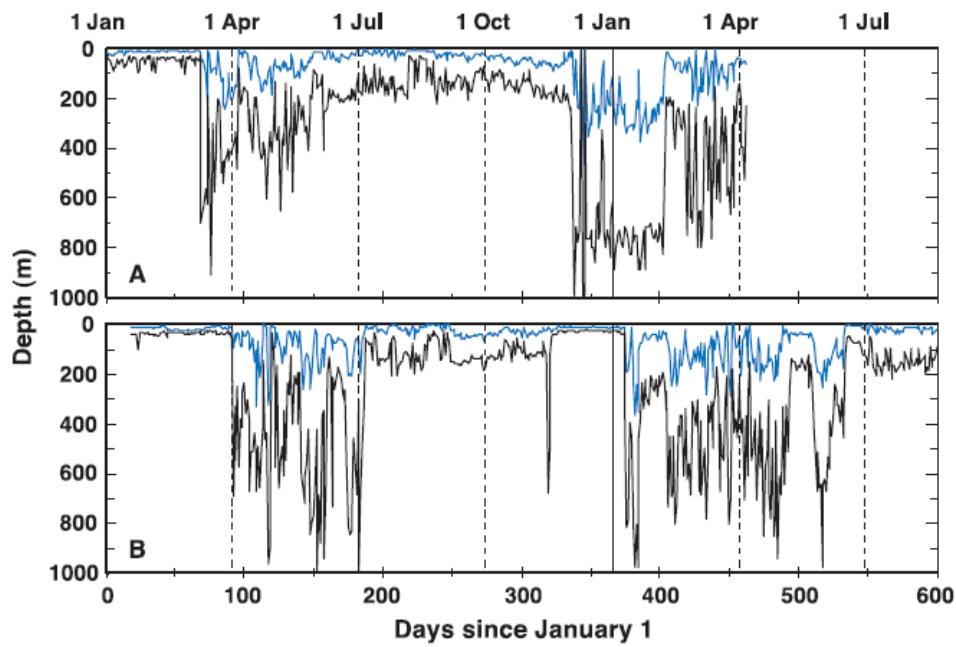


FIG.1.3. Movimenti verticali ed orizzontali di *T. thynnus*. Profondità massima (nero) e media (blu) di due esemplari (da: Block *et al.*, 2001).

Il Golfo del Messico e il bacino Mediterraneo sono stati identificate come le due principali aree di spawning e di nursery di *T. thynnus*. Nel Golfo del Messico la deposizione sembra concentrata maggiormente tra i 200 e 3000 mt (Fig. 1.4.), mentre all'interno del bacino Mediterraneo sono state riconosciute molteplici aree di deposizione: attorno alla Sicilia (Italia meridionale), le isole Baleari (Spagna sud-occidentale) e infine le acque antistanti l'isola di Malta (Canale di Sicilia) (Fig.1.5) (Piccinetti *et al.*, 1973; Karakulak *et al.*, 2004 Rooker *et al.* , 2007).

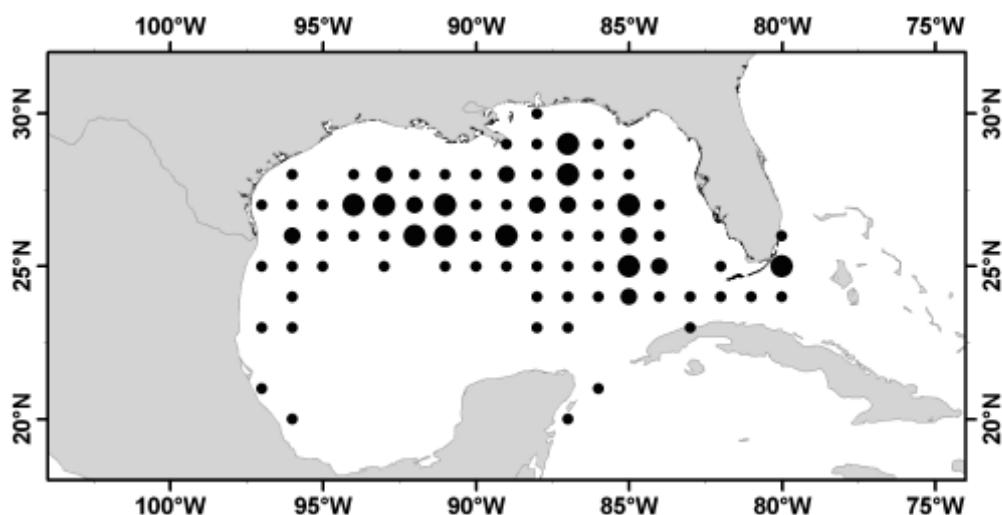


FIG . 1.4 Distribuzione di larve di *T. thynnus* nel Golfo del Messico (GOM); i cerchi più piccolo identificano la cattura da 1 a 4 larve, I cerchi di media grandezza identificano la cattura da 5 a 10 larve e infine i cerchi più grandi più di 10 larve (da: Rooker *et al.* 2007).

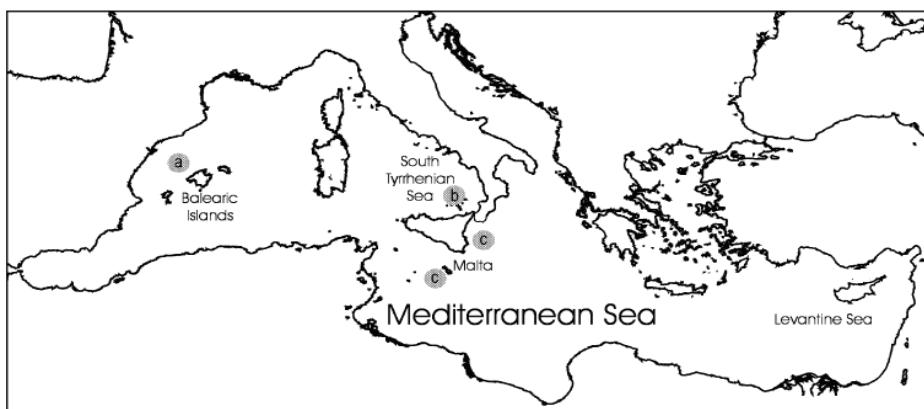


FIG. 1.5 Aree di deposizione di *T.thynnus* nel Bacino Mediterraneo. I cerchi grigi rappresentano le aree deposizione note:a) isole Baleari; b) Tirreno meridionale; c) acque antistanti la Sicilia orientale e l'isola di Malta (da: Karakulak *et al.*, 2004).

Dall'analisi delle curve di crescita degli organismi campionati e dallo studio del periodo di maturazione e prima maturità sessuale degli stessi è stato possibile evidenziare grosse variazioni fra individui appartenenti ai due ipotetici stock. In effetti, gli individui campionati nell'area atlantica orientale e in Mediterraneo hanno la prima maturazione ad un'età circa 4 anni (lunghezza alla forca 120-130 cm- peso 30 -35 kg; lunghezza alla forca 200 cm- peso 150 kg) mentre gli individui che vivono nell'Atlantico occidentale mostrano solo ad 8 anni tali caratteristiche (Matther, 1995).

La temperatura dell'acqua di mare sembra essere un fattore discriminante per i due ipotetici stocks, con la temperatura superficiale nelle presunte aree di deposizione di *T.thynnus* nel Golfo del Messico e nel mar Mediterraneo rispettivamente di 22.6°C-27.5° C e 22.5 ° C- 25.5° (Karakulak *et al.*, 2004(a), 2004(b); Garcia *et al.*, 2005; Teo *et al.*, 2007). Questo implicherebbe che gli individui depongono prima nel Golfo del Messico (tra aprile e giugno) rispetto al bacino Mediterraneo dove la deposizione potrebbe avvenire tra giugno e fine agosto (Baglin, 1982; Clay, 1991; Nishida *et al.*, 1998; Medina *et al.*, 2002; Corriero *et al.*, 2003; Karakulak *et al.*, 2004).

La dieta alimentare di *T. thynnus* varia in funzione della distribuzione delle prede lungo la colonna d'acqua (Sarà e Sarà, 2007), ed è costituita, per i giovani e gli adulti da pesci, cefalopodi e crostacei.

Hanski e Gilpin (1991) hanno ipotizzato un frazionamento della popolazione in migrazioni con ritorno annuale verso le aree di deposizioni denominata “*patchy population*”. A corroborare questa ipotesi vi sono le osservazioni di De Metrio (2005) in mar Mediterraneo, basate su tagging satellitare di numerosi esemplari di *T. thynnus* e, di Rooker *et al.* (2001) su una suite di elementi in traccia (Li, Mg, Ca, Mn, Sr, Ba) analizzati in soggetti giovani di *T. orientali*. Gli autori hanno dimostrato una chiara

marcatura geochimica tra otoliti di giovanili catturati nell'oceano Pacifico rispetto a quelli provenienti da aree limitrofe. Studi simili sono stati condotti su individui di età compresa fra 0 e un 1 anno per i quali sono state ricercate potenziali differenze fra le due potenziali aree di nursery (Atlantico orientale ed occidentale) in termini di distribuzione di Li, Sr, Ba, Mg e Mn.

In particolare, Rooker *et al.*, (2006) hanno comparato analisi relative al *core* degli otoliti di tonni di piccola, media e grande taglia al fine di determinarne l'origine geografica. I risultati di questo studio hanno dimostrato che un'ampia frazione degli adolescenti di *T.thynnus* catturati nell'Atlantico occidentale hanno origine in area Mediterranea. Dall'altra parte individui adulti catturati in area Mediterranea hanno diversa marcatura chimica.

In sintesi, sebbene molteplici siano gli studi finalizzati a corroborare l'assunzione dell'ICCAT (*International Commission for the Conservation of Atlantic Tunas*) sulla potenziale suddivisione della popolazione di *T.thynnus*, al fine di regolarizzarne la gestione degli stock, rimangono ancora non definitive le risultanze scientifiche che stanno alla base di tale assunzione (Fig.1.6).



FIG. 1.6. Suddivisione amministrativa eseguita dall'ICCAT al fine di regolarizzare la pesca del tonno rosso (Fromentin *et al.*, 2005).

1.3 Caratteri chimici del carbonato degli otoliti

Il carbonato di calcio degli otoliti è caratterizzato dalla presenza di almeno 31 elementi della tavola periodica, per il 90% rappresentati da C, O e H (Campana, 1999). Il resto degli elementi (Na, Sr, K, S, N, Cl, P etc.) (Fig.1.7) sono presenti all'interno della matrice carbonatica degli otoliti in concentrazione minore di 10 ppm (Campana, 1999).

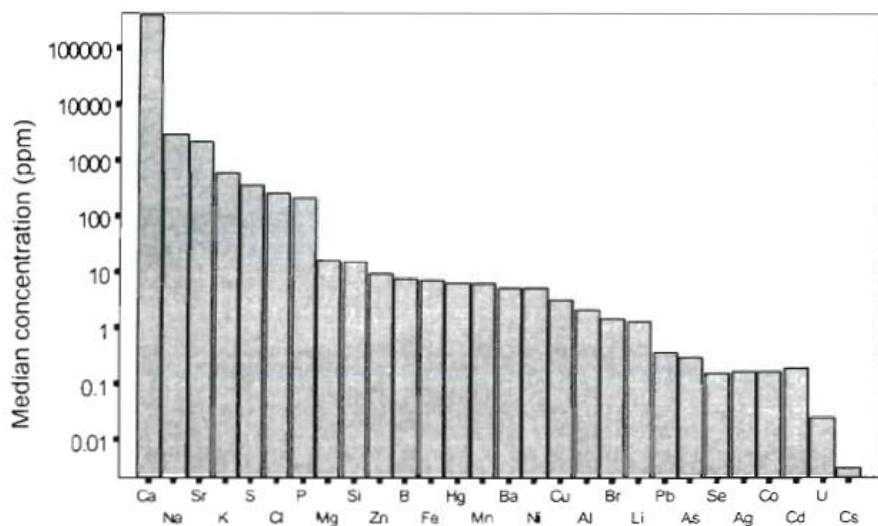


FIG.1.7. Sintesi delle concentrazioni degli elementi (ppm) presenti negli otoliti dei pesci (non sono inclusi gli elementi maggiori C, O, e gli elementi radioattivi presenti in traccia come Ra e Th (da: Campana, 1999).

La matrice carbonatica degli otoliti cristallizza in aragonite nelle sagitte e lapilli, mentre in vaterite negli asterischi (Panfili *et al.*, 2001). L'aragonite e la vaterite sono polimorfi instabili del carbonato di calcio. I processi di ricristallizzazione dall'aragonite a calcite non sono ancora chiari e studi in corso sono proprio focalizzati alla ricerca dei meccanismi di tale fenomeno (Melita, 2005). Recentemente Falini (1996) ha suggerito che lo stesso polimorfismo del carbonato di calcio degli otoliti potrebbe essere regolato dalla matrice organica presente nell'endolinfa della cassa otica.

Per quanto riguarda il fenomeno di cristallizzazione degli asterischi è noto che essi precipitano come carbonato all'interno di una soluzione sovrassatura di carbonato di calcio. Anche in questo caso, la precipitazione della vaterite, come suggerito da Falini (1996) sembra essere sostanzialmente mediata da una matrice proteica.

Sebbene una descrizione dettagliata dei meccanismi di crescita del carbonato degli otoliti non sia tra gli obiettivi di questo lavoro di tesi, di seguito vengono riportate

alcune informazioni chiave per meglio interpretare la chimica degli elementi in traccia presenti nel carbonato che li costituisce.

Come descritto nel paragrafo precedente, la crescita degli otoliti è caratterizzata dalla deposizione regolare di una matrice organica e di cristalli di carbonato di calcio, con conseguente formazione di anelli traslucidi alternati ad anelli opachi (l'insieme di queste coppie di alternanza rappresenta la chiave di lettura degli accrescimenti annuali degli otoliti) regolati da ritmi endogeni (fisiologici) unitamente a cicli ambientali (Morales-Nin, 2000).

Gauldie and Radtke (1990) hanno proposto due differenti meccanismi per la crescita del carbonato degli otoliti: la crescita obbligatoria e la crescita facoltativa. La crescita obbligatoria prevede un controllo da parte di cicli di deposizione combinata (proteine e cristalli) regolata da meccanismi di controllo fisiologico giornaliero e/o stagionale, mentre la crescita facoltativa sarebbe determinata dallo sforzo metabolico del pesce nei primi stadi di vita dell'individuo (Geffen, 1982, 1992; ReÂ *et al.*, 1985; Mosegaard *et al.*, 1988; Maillet *et al.*, 1990). Inoltre, osservazioni in laboratorio hanno evidenziato chiaramente che, la larghezza delle bande e quindi la cinetica della deposizione del carbonato può cambiare in risposta a fattori esterni quali cambiamenti di salinità e temperatura e fattori fisiologici quali per esempio la maturazione sessuale, dieta dell'organismo, etc. (Gauldie *et al.*, 1990).

Nell'ultimo decennio, lo studio della chimica di un elevato numero di elementi chimici incorporati nel carbonato di calcio degli otoliti ha chiaramente evidenziato le potenzialità di tale approccio per lo studio della dinamica delle popolazioni di stock ittioplanctonici.

Una serie di barriere chimico-fisiche tra il carbonato di calcio dell'otolite, e l'acqua di mare all'interno del quale l'organismo è vissuto, determinano l'osmoregolazione chimica nei diversi organi dei pesci, e la chimica delle strutture alle interfacce organico/inorganico.

In particolare, dall'acqua di mare gli elementi passano, attraverso branchie e plasma dell'organismo, all'epitelio interagendo con il sistema linfatico e vengono quindi incorporati, nel carbonato di calcio degli otoliti (Romanek *et al.*, 1996).

Ovviamente, nulla esclude che i cationi possano subire fenomeni di selezione differenziale per effetto di specifiche attività biologiche degli individui (Campana, 1999). Per esempio, una delle barriere tra acqua di mare e plasma del pesce è l'intestino che regola osmoticamente il passaggio degli ioni e che ha pertanto il potenziale di influire sulla dinamica chimica del sistema complesso dell'organismo.

E' pertanto evidente che la semplicistica assunzione di una proporzionalità diretta tra chimica dell'otolite e acqua di mare all'interno della quale l'organismo è vissuto (Campana, 1999; Gillanders *et al.*, 2003) necessita sostanziali approfondimenti.

Rimane comunque evidente che, se pur a valle di poco chiari meccanismi di incorporazione chimica è spesso possibile identificare relazioni pseudo-lineari tra chimica del carbonato e chimica dell'acqua di mare. E' ovviamente al di là di questo lavoro di tesi esplorare tale ambito di ricerca e si rimanda alla letteratura specializzata per ulteriori approfondimenti.

Nello specifico, un numero di cationi divalenti, come Sr, Ba e Mg, con raggio atomico simile a quello del Ca (soprattutto Sr e Mg) sono in grado di sostituire il Ca in accordo con le regole di vicarianza di Pauling (Mason *et al.*, 1982). Seguendo il ragionamento sopra riportato e i risultati di ampia letteratura specializzata (e.g. Bath, 2000) le concentrazioni di questi elementi in traccia negli otoliti potrebbero essere messe in relazione con quelle dell'ambiente esterno attraverso un coefficiente di partizione che potrebbe semplicisticamente determinare la concentrazione degli elementi all'interno del carbonato biogenico in proporzione alle concentrazioni in acqua di mare (Morse e Bender, 1990).

Tale approccio ovviamente non considera effetti di "competizione" come la "vicarianza differenziale" che rendono complessa una qualsiasi immediata trasformazione dei valori di concentrazione nel carbonato degli otoliti in quelli dell'acqua di mare. Per esempio, secondo Melita *et al.* (2005) potrebbero esistere due possibili meccanismi, riprendendo Pingitore (1996), che spiegherebbero l'incorporazione di un elemento rispetto ad un altro: la facilitazione e la competizione (Mucci *et al.*, 1983). Nello specifico secondo gli autori esiterebbero soglie di concentrazione che, se superate, come per esempio nel caso dello Sr rispetto al Ca, potrebbero causare formazione di reticolari cristallini difettosi favorendo l'incorporazione di Ba nel carbonato con un effetto di controllo e/o di condizionamento multiplo di elementi in traccia nei processi di incorporazione degli stessi. Altri esempi riguardano invece le problematiche relative alla reale incorporazione del Ba nel reticolo cristallino del carbonato a prescindere dal raggio di tale elemento (circa 2 Å ai circa 1 Å del Ca).

Sebbene si sia consapevoli della complessità legata ai fattori di incorporazione degli elementi all'interno del carbonato biogenico degli otoliti, nel contesto di questo lavoro di ricerca si ritiene sufficientemente supportata dalla letteratura l'assunzione di una proporzionalità tra concentrazione degli analiti in acqua di mare e nel carbonato

stesso almeno per quanto riguarda soprattutto Ba e Sr (Campana, 1999; Bath *et al.*, 2000).

Questo determina la possibilità di utilizzare la chimica delle bande progressive di accrescimento degli otoliti come vere e proprie “segnature” dell’ambiente acquoso in cui l’organismo è vissuto durante l’arco di temporale della sua esistenza.

Due approcci analitici sono generalmente seguiti nell’utilizzo della chimica degli otoliti come marker di *stock discrimination*, ovvero riconoscimento dell’appartenenza dei diversi organismi a vari gruppi di pesci. Il primo è basato sull’analisi del *core*, ovvero della parte più vecchia dell’otolite, secreta durante i primi anni di età dell’organismo, per la determinazione dell’area di nursery dei pesci. La seconda è più direttamente legata all’analisi dell’otolite intero, ed è generalmente usata per marcare chimicamente gruppi di pesci vissuti in condizioni ambientali diverse dal punto di vista chimico per tutto l’intervallo della loro esistenza.

1.4 Distribuzione di Sr, Mg e Ba nelle acque atlantiche e mediterranee

Le concentrazioni in acqua di mare di Ba, Sr e Mg differiscono fra il bacino Mediterraneo e il Golfo del Messico (Bernat *et al.*, 1972).

Le concentrazioni di Sr (Fig.1.7) nell’acqua del mar Mediterraneo sono abbastanza costanti lungo la verticale, mantenendo valori di $8.30 \pm 0,06$ mg/kg (Bernat *et al.*, 1972) mentre nelle acque atlantiche i valori di concentrazioni variano nell’intervallo fra 7,21 e 7,58 mg/kg.

Infine, nell’oceano globale le concentrazioni sono pari a 0,05 $\mu\text{m/l}$ (Bruland *et al.*, 2003).

Anche le concentrazioni di Ba mostrano valori più elevati nelle acque del Bacino Mediterraneo rispetto a quelle atlantiche (Fig.1.8) (Lea *et al.*, 1990) riflettendo gli effetti interni degli apporti fluviali con elevate concentrazioni di Ba e una dinamica interna sostanzialmente limitata.

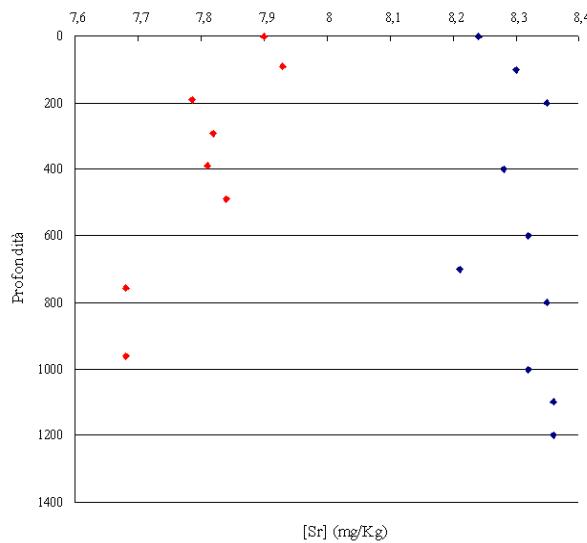


FIG 1.7. Profilo delle concentrazioni di Sr nel Bacino Mediterraneo (Bernat *et al.*, 1972) (in rosso le concentrazioni nel bacino Mediterraneo; in blu le concentrazioni in oceano Atlantico).

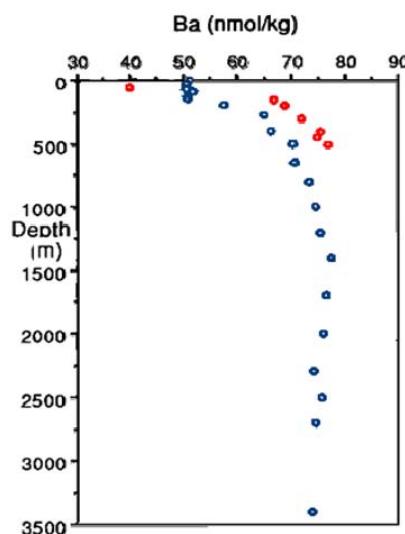


FIG 1.8. Profilo delle concentrazioni di Ba lungo la colonna d'acqua (Lea *et al.*, 1990) (in rosso le concentrazioni nel bacino Mediterraneo; in blu le concentrazioni in oceano Atlantico).

1.5 Obiettivi del lavoro di ricerca

Gli obiettivi principali di questo lavoro di ricerca possono essere sintetizzati nei seguenti punti:

- definizione di opportune strategie e metodiche di indagine chimica del carbonato biogenico di otoliti di *T.thynnus* come efficace strumento di indagine di stock discrimination;
- contributo alla comprensione dei processi di formazione delle bande annuali degli otoliti di *T.thynnus* e messa a punto di opportune strategie interpretative della chimica delle stesse bande per opportune indagini di *stock discrimination*;
- contributo alla comprensione della dinamica di stock di *T.thynnus* tra bacino mediterraneo e ambiente oceano.

2. MATERIALI E METODI

Il prelievo dei campioni è stato effettuato da organismi pescati in quattro aree diverse tra il 2003 e il 2008 (Tab. 2.1, e Fig. 2.1):

- **Tonnara a rete fissa di Favignana (Tp)** dove sono stati catturati in 3 episodi di pesca differenti, tra il 2005 e il 2006, sette individui con lunghezza alla forca (LF) media di 173,8 cm (Fig. 2.1 b; Tab. 2.2);
- Golfo del Messico dove sono stati campionati, mediante pesca sportiva, 5 esemplari con lunghezza alla forca media di 212,852 cm (Fig. 2.1 a; Tab. 2.2);
- Basso Tirreno, nelle acque antistanti Milazzo, dove sono stati accidentalmente catturati 5 individui con lunghezza media alla forca di 52,38 cm (Fig. 2.1 b; Tab. 2.2);
- Canale di Sicilia dove nel 2003, durante la campagna oceanografica *Ansic 03'* (Urania), sono state campionate 16 larve con lunghezza media totale di 5,94 mm (Fig. 2.1 b Tab. 2.3).

<i>Area di campionamento</i>	<i>Anno di campionamento</i>	<i>Classe di età</i>	<i>n° campioni</i>
Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	2005-2006	Adulti	7
Golfo del Messico (Usa)	2008	Adulti	3
Milazzo (Basso Tirreno)	2008	0-1 anno	5
Canale di Sicilia	2003	Larve	16

TAB 2.1. Tabella riassuntiva delle aree di campionamento.

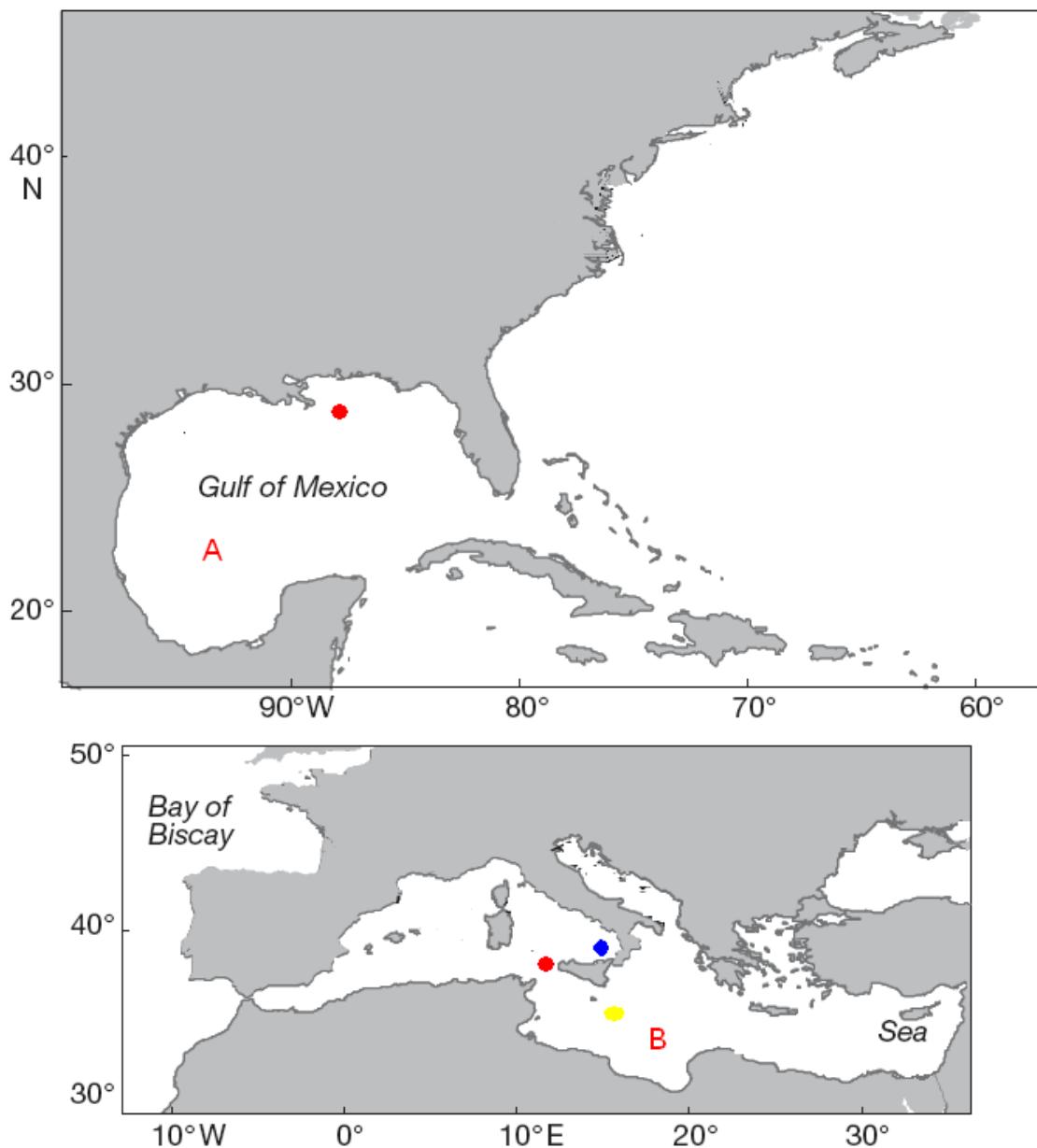


FIG 2.1. Mappa dei campionamenti eseguiti nel Golfo del Messico (A) e mar Mediterraneo (B). (In rosso i campioni adulti; in blu i campioni di età compresa fra zero ed un anno ed in gialle le larve).

<i>Campione</i>	<i>Età</i>	<i>Luogo di cattura</i>	<i>Data di acquisizione</i>
1A*	11	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	13-14-16/10/08
3A*	14	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	16/10/08
9F*	10	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	15-16/01/09
12F*	11	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	14/10/09
13F*	14	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	15/10/09
22F*	9	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	14/10/09
62F*	6	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	15/10/09
1D**	15	Golfo del Messico (Usa)	16-17/10/09
3D**	10	Golfo del Messico (Usa)	04/06/09
4D**	12	Golfo del Messico (Usa)	5-6/06/09
1 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08
2 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08
3 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08
4 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08
5 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08

TAB 2.2. Dati relativi agli esemplari adulti e giovanili utilizzati per il lavoro di tesi (* = esemplari campionati nel Bacino Mediterraneo; ** = esemplari campionati nel Golfo del Messico; ° = esemplari campionati nel basso Tirreno)

<i>Campione</i>	<i>Età</i>	<i>Luogo di cattura</i>	<i>Data di acquisizione</i>
4	5	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
5	5	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/9
30	7	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
34	7	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
94	6	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
101	6	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
128	10	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
139		Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
145	9	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
240		Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
275	3	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
276	10	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
277	8	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
278	6	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
280	9	Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09
282		Canale di Sicilia (luglio '03)	5-6/06/09

TAB 2.3. Dati relativi agli esemplari larvali utilizzati per il lavoro di tesi

Una volta catturati, gli esemplari di origine mediterranea sono stati stabulati per circa 12 ore in cella frigorifera a -20°C e successivamente analizzati; per quanto riguarda gli esemplari atlantici, essi sono stati immediatamente processati dopo la cattura. Per ogni esemplare sono state acquisite le misure morfometriche e quindi estratti gli otoliti.

Gli esemplari catturati nel basso Tirreno sono stati congelati per 15 mesi in una cella frigorifera a -20°C presso i laboratori di Ispra (Messina); le larve, una volta pescate sono state identificate e, successivamente, conservate in alcol etilico al 70% per tutta la durata della campagna oceanografica.

Una volta scongelati, per ogni campione, è stato registrato il peso e la lunghezza totale, nonché la forca e la lunghezza totale, identificato il sesso ed eseguita la procedura di estrazione delle sagitte attraverso esecuzione di una sezione trasversale della testa dei diversi esemplari; per le larve è stata misurata solo la lunghezza totale.

Dopo l'estrazione, tutte le sagitte dei campioni adulti e giovanili sono state ripulite in acqua e, i soli campioni destri (per quanto riguarda il sito tirrenico) sono stati inclusi in resina Imprex trasparente. Per ogni sagitta è stata eseguita una sezione trasversale attraverso la parte centrale dell'otolite (Lee et al. 1983) con lama da 0,33 mm e diametro di 4 inches ed ausilio di un microtomo *Buheler Isomet low speed saw*. La sezione ottenuta è stata incollata su vetrino 5x5 con colla Lakeside 70 cement secondo procedura consigliata da Secor et al. (1991). Per ogni coppia di sagitte sono state acquisite le immagini, registrate le misure morfometriche attraverso uso di un microscopio *Leica MZ 12.5* interfacciato con telecamera Leica DC200.

L'età degli esemplari è stata determinata attraverso lettura degli anelli di accrescimento secondo la procedura consigliata da Cort (1991), mentre le sagitte delle larve dopo l'estrazione sono state direttamente incluse in resina.

Le analisi geochimiche di Ca, Sr, Ba, Li, Mg sono state eseguite in LA-ICP-MS, Perkin Elmer DRCE-Laser microprobe ArF 193 nm Geolas 200Q, Microlas presso l'Istituto di Geoscienze e Georisorse (IGG) del CNR di Pavia in quattro sessioni consecutive. (Fig. 2.2; 2.3; 2.4).

Sinteticamente, la tecnica ICP-MS (*inductively coupled plasma mass spectrometry*) è una tipologia di spettrometria di massa altamente sensibile e in grado di determinare diverse sostanze inorganiche metalliche e nonmetalliche presenti in concentrazioni inferiori a una parte per bilione (10^{12}). Esso sfrutta l'utilizzo di una torcia al plasma ICP per produrre la ionizzazione e di uno spettrometro di massa per la separazione e rivelazione degli ioni prodotti. Il principio su cui si basa la spettrometria di massa è la possibilità di separare una miscela di ioni in funzione del loro rapporto massa/carica generalmente tramite campi magnetici statici o oscillanti. Questa tecnica consente la misura della

concentrazione di elementi minori e di elementi in tracce su un'ampia tipologia di campioni liquidi, solidi e gassosi. La capacità di analisi multi - elementare simultanea, la conseguente sensibile diminuzione dei tempi medi di analisi, i bassi limiti di rivelazione costituiscono pregi eccezionali che hanno permesso un'ampia diffusione dell'ICP-MS.

Il campione una volta inserito nella cella di ablazione viene polverizzato con l'ausilio di un laser ad eccimeri.

All'interno della cella di ablazione convergono 4 aperture: 3 di ingresso disposte su un lato della cella e posizionate a 60° tra loro, e la quarta, di uscita, posizionata sul lato opposto.

La posizione delle aperture è tale da ottimizzare il flusso del materiale ablato dalla cella verso l'ICP-MS, utilizzando come gas di trasporto una miscela 1:1 di He e Ar necessario, inoltre, per la produzione del plasma. Il materiale è introdotto nello strumento tramite una pompa peristaltica che assicura un flusso costante di $\mu\text{l}/\text{min}$ sotto forma di aerosol. Qui, l'aerosol, che ha temperature di 6700 K, è prima desolvatato, poi decomposto e dissociato in particelle, ed infine ridotto in atomi subito ionizzati. Tutti questi processi avvengono in pochi millisecondi. Il plasma così formato, giunge all'interfaccia, costituita da una serie di coni, che lo focalizza ulteriormente, causandone un lieve raffreddamento.

Il plasma, sino ad ora neutro, acquista un leggero eccesso di cariche positive, costituite principalmente da ioni argon, che sono parzialmente allontanati dallo "skimmer cone".

Fra l'interfaccia e il sistema di lenti ioniche, è creata una caduta di pressione di circa tre ordini di grandezza, passando da 10^{-2} bar a 10^{-5} bar, in modo da aspirare, per effetto Venturi, il plasma all'interno del sistema delle lenti.

Questo sistema focalizza ulteriormente il fascio accelerandolo verso il quadrupolo, che funziona come un vero e proprio filtro di massa permettendo, al variare delle differenze di potenziale applicate alle barre, il passaggio solo ad una ben determinata massa. Le masse selezionate, raggiungono il detector, che dopo aver moltiplicato il segnale, lo trasmette all'unità elettronica di controllo.



FIG 2.2. Sistema di acquisizione LA-ICP-MS, *Perkin Elmer DRCE-Laser microprobe ArF 193 nm Geolas 200Q, Microlas* (Laser ablation).



FIG 2.3. Sistema di acquisizione LA-ICP-MS, *Perkin Elmer DRCE-Laser microprobe ArF 193 nm Geolas 200Q, Microlas* (ICP- MS).



FIG. 2.4. Sistema di acquisizione LA-ICP-MS, *Perkin Elmer DRCE-Laser microprobe ArF 193nm Geolas 200Q, Microlas* (PC interfacciato allo strumento).

Una sessione di prova è stata dedicata all'acquisizione di dati relativi a Cd, Zn, Cu, Sr, Mg, Mn, Pb, REEs con diametro degli spot di 60 μm . Durante tale sessione sono state messe a punto le metodiche analitiche più opportune per la tipologia di campioni in studio, ovvero quelle relative all'analisi della chimica degli accrescimenti stagionali degli otoliti e quindi sono stati selezionati gli elementi con valori di concentrazione in grado da assicurare accuratezza e precisione analitica.

Al fine di determinare la possibile influenza della resina sulle concentrazioni totali del campione, sono state effettuate delle analisi sulla resina stessa quantificandone il contributo e il cui valore per singolo elemento è rapportato in Tab. 2.4.

Isotopo	Possibile contributo della resina
^{25}Mg	9,3%
^{43}Ca	0,42%
^{44}Ca	0,28%
^{88}Sr	
^{137}Ba	0,6%

TAB 2.4. Analisi eseguita sulla resina utilizzata per includere gli otoliti.

Le prove effettuate per determinare il più adeguato diametro dello spot del laser hanno mostrato che il miglior compromesso fra riproducibilità analitica e precisione è risultato essere non inferiore a 25 μm per quanto riguarda il gruppo di elementi Ca, Sr, Mg e Ba.

Tale dimensione è stata utilizzata per buona parte del lavoro analitico di questo lavoro di ricerca.

Per migliorare la precisione nella determinazione dei punti su cui eseguire le analisi in LA- ICP-MS all'interno di aree specifiche dei singolo otoliti è stato ideato un opportuno disegno sperimentale mappando e referenziando i singoli punti da acquisire tramite microscopia ottica e telecamera interfacciata, con trasferimento cartesiano della matrice di acquisizione ottica al sistema di riferimento di microscopia del LA-ICP-MS. Un esempio di tale approccio è riportata in figura 2.6.

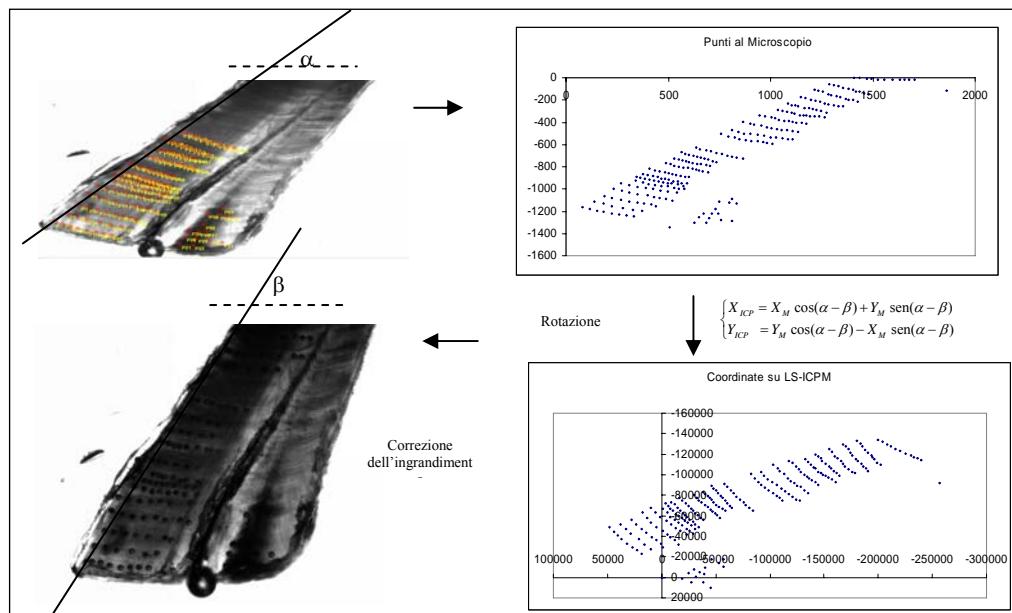


FIG. 2.6. Esempio di trasferimento delle coordinate del campione al sistema di acquisizione in LA- ICP- MS.

Al fine di garantire un'opportuna elaborazione statistica del dataset acquisito si è proceduto all'acquisizione di 5/10 punti per un numero selezionato di bande ialine e opache presenti nei diversi otoliti analizzati. Alla fine di ogni sessione di analisi è stata verificata al microscopio ottico la distribuzione dei punti di campionamento in relazione alle diverse bande di accrescimento dell'otolite.

Il tempo di permanenza del laser sui punti di campionamento è stato di circa 2 minuti, con densità di energia di 12 J/cm^2 e una frequenza di 5 Hz. Il tempo di pre-ablazione è stato di 20 secondi; solo la parte del segnale successiva a tale tempo è stata utilizzata per l'integrazione finale. Tale operazione ha consentito di eliminare la parte più esterna del campione possibilmente affetta da contaminazione. Tutti i dati, riportati in ppm, sono stati trasformati in moli e rapportati per opportuni confronti con la letteratura al Ca (anch'esso espresso in moli).

La percentuale di CaO stechiometrico in CaCO_3 è stato usato come standard interno per tutti gli elementi. L'accuratezza delle misure è stata verificata tramite analisi della matrice carbonatica BCR-2g USGS e Nist SRM 610. Per ogni elemento è stato verificata un'accuratezza superiore al 95% e precisione del 97-99 %. Il pacchetto software utilizzato per il trattamento dei dati è stato Glitter (Van Achterbergh *et al.*, 2001

3. RISULTATI

In questo lavoro di tesi sono stati analizzati complessivamente 28 campioni di otoliti (Tab. 3.1 e 3.2) di cui:

- ✓ 10 di età compresa fra 6 e 15 anni con lunghezza media alla forca di 193,33 cm e peso totale medio di 118,2 kg. Per essi sono state eseguite in totale 1107 analisi (Tab 3.1) (allegato I).
- ✓ 5 campioni di età compresa fra 0 e 1 anno con lunghezza media alla forca di 52,38 cm e peso medio di 3,1 kg per i quali sono stati eseguiti complessivamente 50 analisi (Tab 3.1) (allegato I).
- ✓ 15 larve con età media di 7 giorni e con lunghezza totale media di 5,84 mm su cui sono state eseguite complessivamente 16 spot (Tab 3.2) (allegato I)

Campione	Età	Luogo di cattura	Data di acquisizione	Bande analizzate	Bande opache analizzate	Bande ialine analizzate	[Sr/Ca] media (mmol/mol)	[Ba/Ca] media (mmol/mol)	[Mg/Ca] media (mmol/mol)
1A*	11	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	13-14-16/10/08	20	10	10	2322	2,74	184
3A*	14	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	16/10/08	30	15	15	2097	1,87	165
9F*	10	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	15-16/01/09	17	9	8	2470	3,37	293
12F*	11	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	14/10/09	19	10	9	2464	1,73	275
13F*	14	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	15/10/09	18	9	9	2362	3,82	277
22F*	9	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	14/10/09	17	9	8	2506	3,7	210
62F*	6	Tonnara di Favignana (Mediterraneo occidentale)	15/10/09	9	5	4	2440	3,66	100
1D**	15	Golfo del Messico (Usa)	16-17/10/09	18	8	8+2	2227	1,6	112
3D**	10	Golfo del Messico (Usa)	04/06/09	23	12	11	1828	1,62	70
4D**	12	Golfo del Messico (Usa)	5-6/06/09	18	9	9	2140	1,18	127
1 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08				1616	0,6	153
2 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08				1628	0,75	280
3 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08				1564	0,65	246
4 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08				1621	0,71	149
5 Tr°	0-1	Milazzo (Basso Tirreno)	13/10/08				1692	0,91	196

TAB 3.1. Dati relativi agli esemplari adulti e giovanili utilizzati per il lavoro di tesi (* = esemplari campionati nel Bacino Mediterraneo; ** = esemplari campionati nel Golfo del Messico; °= esemplari campionati nel basso Tirreno)

<i>Campione</i>	<i>Età</i>	<i>Luogo di cattura</i>	<i>Data di acquisizione</i>	<i>Lunghezza totale (mm)</i>	<i>[Sr/Ca] (mmol/mol)</i>	<i>[Ba/Ca] (mmol/mol)</i>	<i>[Mg/Ca] (mmol/mol)</i>
4	5	Canale di Sicilia (luglio' 03)	5-6/06/09	0,21	2951	17	3396
5	5	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/9	0,21	4003	9,5	1888
30	7	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	0,25		9,9	2438
34	7	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	5,47		31	158
94	6	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	6,35		5,6	7066
101	6	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	6,22	3367	20	307
128	10	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	0,34	3007	15	2201
139		Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09		3664	14	819
145	9	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	6,5	3974	15	
240		Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09		3422	2	348
275	3	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	5,39	3925	28	109
276	10	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	7,16	3215	21	323
277	8	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	6,37	3492	20	438
278	6	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	0,25	3361	44	3259
280	9	Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	0,3	2920	13	2046
282		Canale di Sicilia (luglio ' 03)	5-6/06/09	5,36	3705	20	1531

TAB 3.2. Tabella riassuntiva dei campioni di otoliti di larve analizzati

3.1. Otoliti di organismi Adulti

I rapporti Ba/Ca risultano inferiori (mediane comprese tra 1,58 e 1,64 $\mu\text{mol/mol}$; Fig. 3.1) per i campioni 1D, 3D e 4D rispetto al resto del dataset (mediane comprese tra 1,58 e 3,31 $\mu\text{mol/mol}$). In particolare i campioni 13F, 22F e 62F mostrano il maggiore spread (I e III interquartile compresi rispettivamente fra 0,44 e 0,87 e 4,76 e 16,18 $\mu\text{mol/mol}$; Fig. 3.1)

Anche i rapporti Sr/Ca risultano inferiori per i campioni 1D, 3D e 4D (mediane comprese fra 1842 e 2270 $\mu\text{mol/mol}$; Fig. 3.2) rispetto al resto del dataset (2133 e 2480 $\mu\text{mol/mol}$; Fig. 3.2).

L’analisi del dataset riguardante il rapporto Mg/Ca evidenzia una somiglianza tra i campioni 1A, 3A, 62F, 1D, 3D e 4D (mediane tra 56,6 e 130 $\mu\text{mol/mol}$) con valori inferiori al resto del dataset (mediane tra 198 e 274 $\mu\text{mol/mol}$; Fig.3.3).

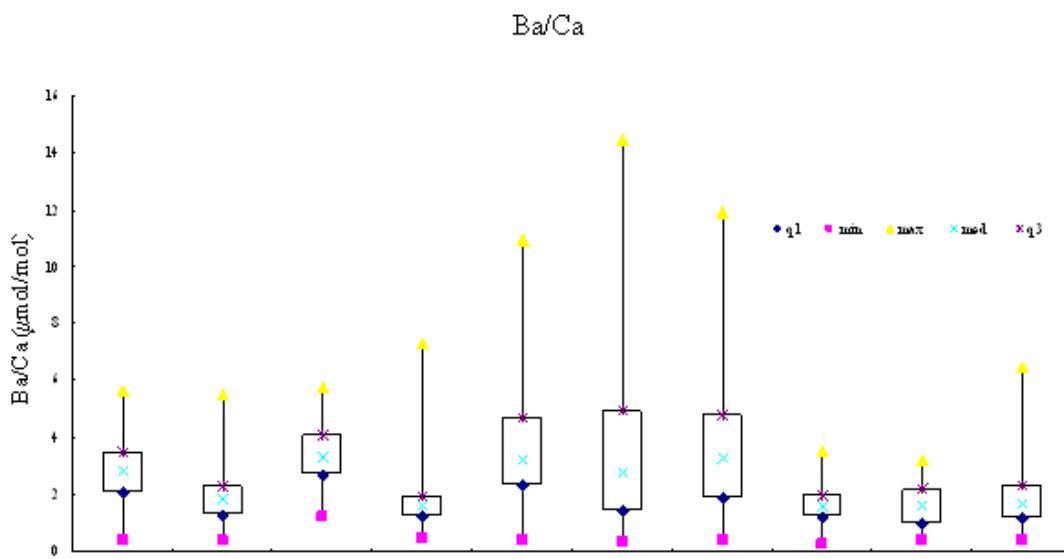


FIG 3.1. Statistiche relative ai valori Ba/Ca nei campioni analizzati (q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%). In blu gli esemplari catturati nel Bacino Mediterraneo; in rosso gli esemplari catturati nel Golfo del Messico.

Sr/Ca

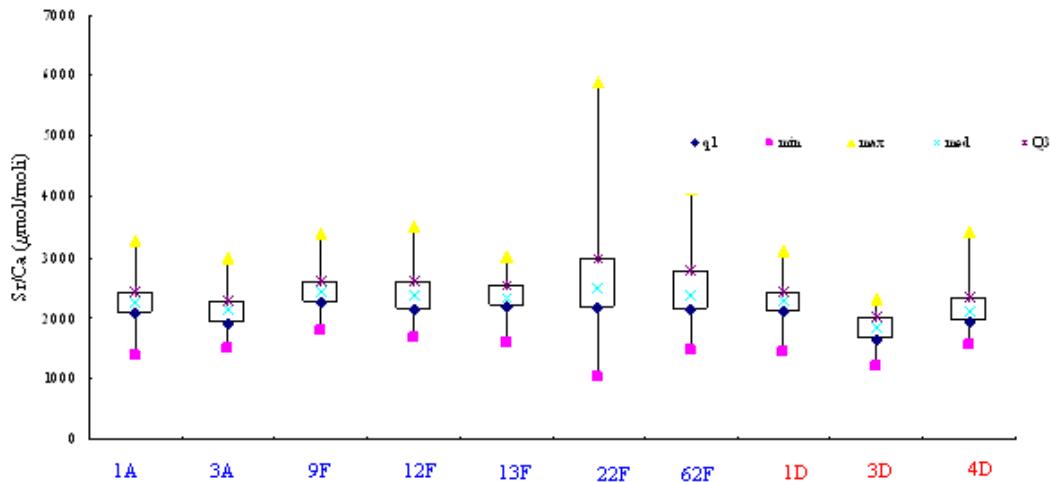


FIG 3.2. Statistiche relative ai valori Sr/Ca nei campioni analizzati. (q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3: quartile al 75%) In blu gli esemplari catturati nel Bacino Mediterraneo; in rosso gli esemplari catturati nel Golfo del Messico.

Mg/Ca

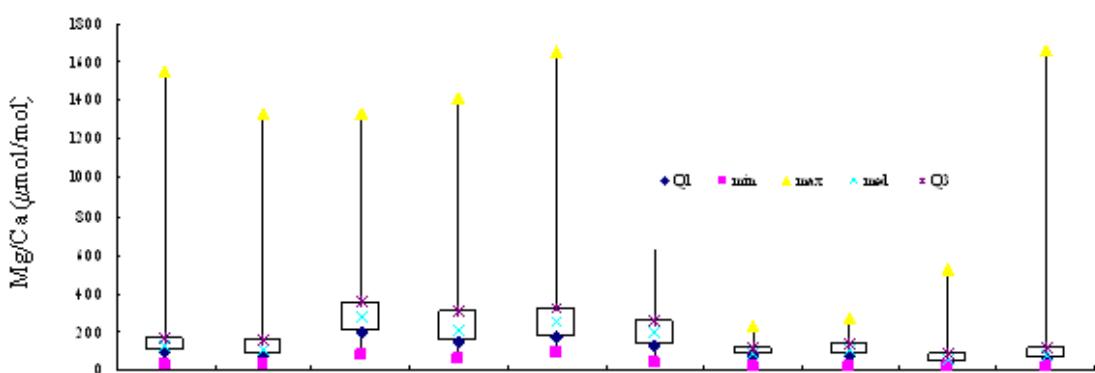


FIG 3.3. Statistiche relative ai valori Mg/Ca nei campioni analizzati. (q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%)

3.1.1. Otolite 1A

Il campione 1A, di undici anni di età, è stato analizzato dalla prima banda ialina (anno 1996) all'undicesima opaca (anno 2007) (Fig. 3.4).

Complessivamente sono state eseguite 156 analisi. Un totale di 50 analisi sono state eseguite lungo il transetto principale (dal core al rostro). Gli altri 106 spots sono stati eseguiti come repliche delle bande opache del 1997- 2003 e, come repliche delle bande ialine del 1996, 1997, 1999, 2000, 2003 e 2006.

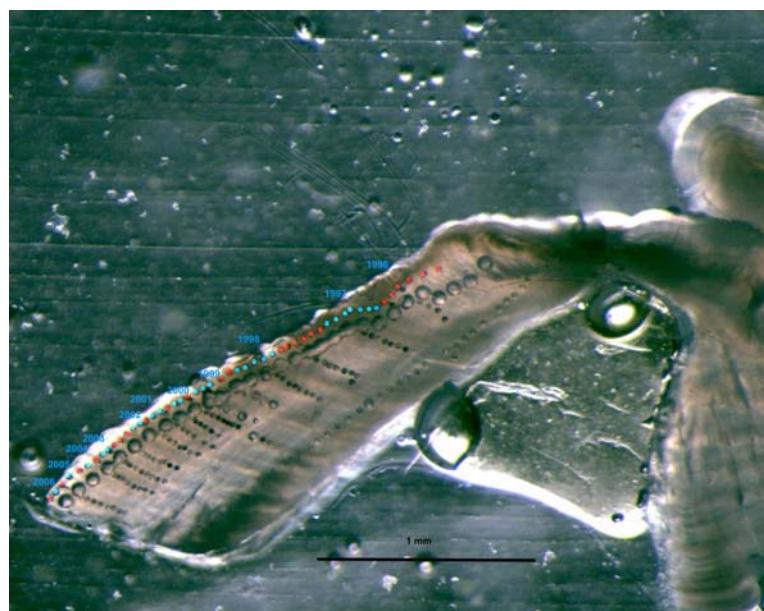


FIG 3.4. Sezione del campione 1 A con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine)

I rapporti Ba/Ca mostrano una variabilità complessiva fra 0,38 e 5,06, valore mediano pari a 3,16 μ mol/mol e uno scarto interquartile pari a 0,56 μ mol/mol (Fig.3.5).

E' evidente un moderato trend in crescita dal 1996 (mediana 0,78 μ mol/mol) al 2000 (mediana 2,8 μ mol/mol) con un massimo raggiunto nella banda opaca del 1999. Dal 2000 le mediane mantengono un valore pressoché costante.

Il rapporto Sr/Ca mostra un range di variabilità compreso fra 1364 a 3267 μ mol/mol, valore mediano pari a 2294 μ mol/mol e uno scarto interquartile pari a 54 μ mol/mol.

Anche in questo caso (Fig.3.6).è evidente un moderato trend in crescita fra il 1996 (valore della mediana pari 1515 $\mu\text{mol/mol}$) e il 1998 (valore della mediana pari $\mu\text{mol/mol}$ 2264).

I rapporti Mg/Ca mostrano un range di variabilità compreso fra 33 e 1548, valore mediano pari a 131 $\mu\text{mol/mol}$ e uno scarto interquartile pari a 162 $\mu\text{mol/mol}$. E' evidente che la variabilità del rapporto Mg/Ca si può suddividere in 2 trend di cui il primo in decremento dal 1996 al 1998 (valore massimo compreso fra 658 e 220 $\mu\text{mol/mol}$) e un secondo in aumento dal 2001 al 2003 (valore massimo compreso fra 478 e 1214 $\mu\text{mol/mol}$) alternati al biennio 1999-2000 dove si è registrato un aumento delle concentrazioni con un massimo a 1548 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.7).

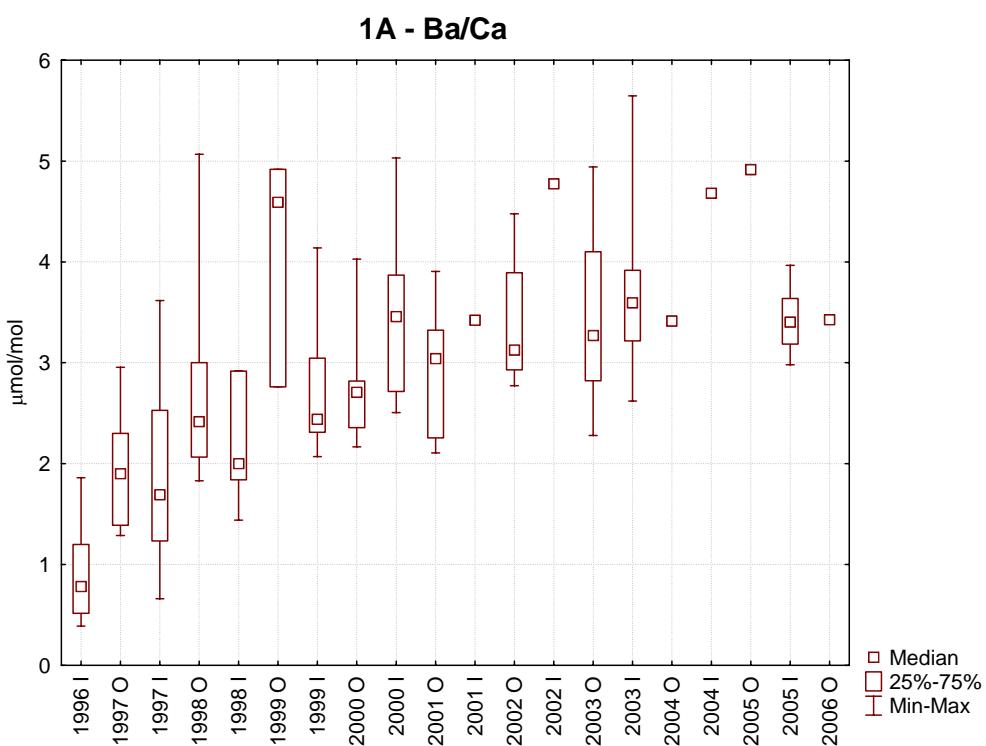


FIG 3.5. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

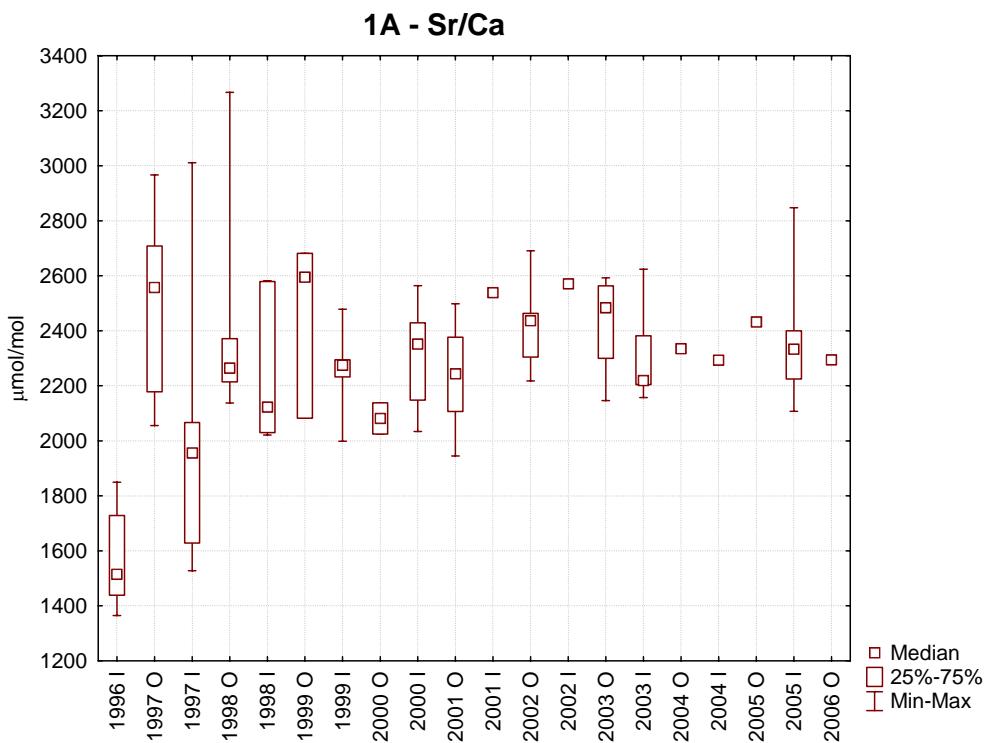


FIG 3.6 Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

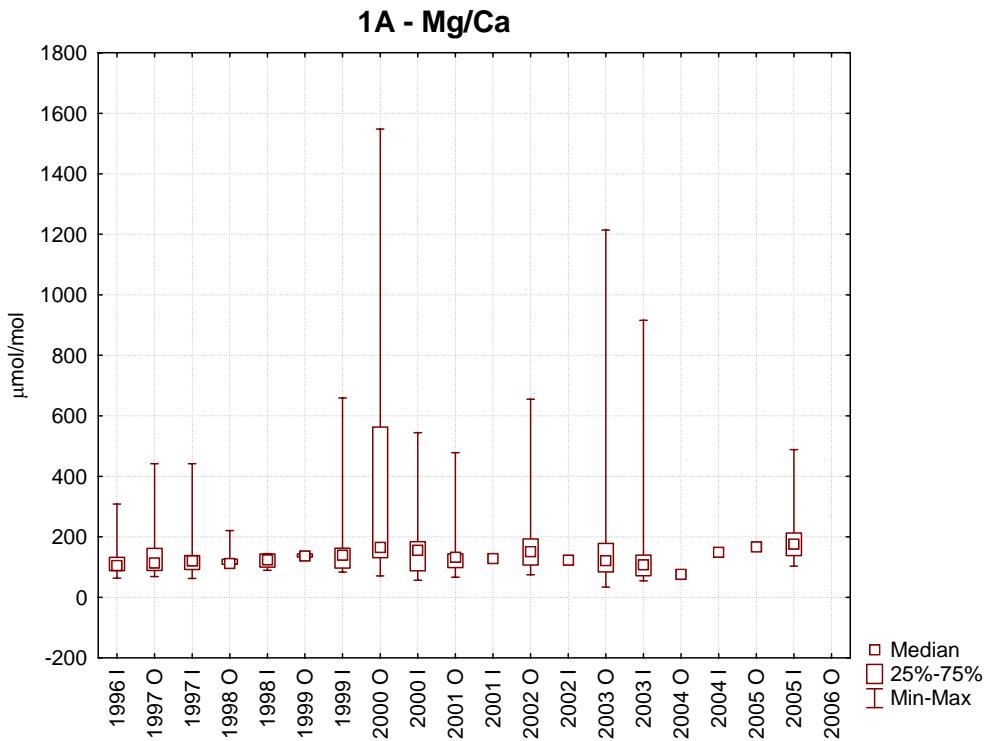


FIG 3.7 Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.2. Otolite 3A

Il campione 3 A, di 14 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda opaca (anno 1991) alla quindicesima banda ialina (anno 2005) (Fig. 3.8).



FIG 3.8 Sezione del campione 3 A con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine)

Complessivamente sono state eseguite 117 analisi di cui 78 lungo il transetto principale (dal core al rostro) e le restanti 39 come repliche delle bande opache per l'anno 1993, 1997, 1998 e 1999 e 2000 e come replica della banda ialina dell'anno 1992.

Il rapporto Ba/Ca mostra un evidente trend sinusoidale con una variabilità complessiva fra 0,41 e 5,52 $\mu\text{mol/mol}$, valore mediano pari a 1,87 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile pari a 0,3 $\mu\text{mol/mol}$.

Le mediane mostrano un trend in crescita dal 1991 al 1993 (mediane comprese fra 0,56 e 1,29 $\mu\text{mol/mol}$) e un massimo nell'anno 2000 (valore mediana 2,64 $\mu\text{mol/mol}$) e infine un trend negativo con un valore minimo della mediana pari a 1,66 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig 3.9).

Il rapporto Sr/Ca mostra un trend non definito con valori che oscillano tra 1494 e 2978 $\mu\text{mol/mol}$, valore mediano pari a 2155 $\mu\text{mol/mol}$ e uno scarto interquartile pari a 116 $\mu\text{mol/mol}$.

Anche in questo caso, a un evidente crescita da valori delle mediane dall'anno 1991 al 1993 (valori compresi fra 1635 e 2608 $\mu\text{mol/mol}$) seguito da un periodo (1994-2004) nel quale le mediane dei rapporti oscillano fra 2224 a 2166 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.10).

I rapporti Mg/Ca mostra una variabilità complessiva fra 30 e 798 $\mu\text{mol/mol}$, valore mediano pari a 94 $\mu\text{mol/mol}$ e uno scarto interquartile uguale a 31 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.11) con un decremento dal 1991 al 1993 seguito da un valore pressoché costante per il resto della vita dell'individuo.

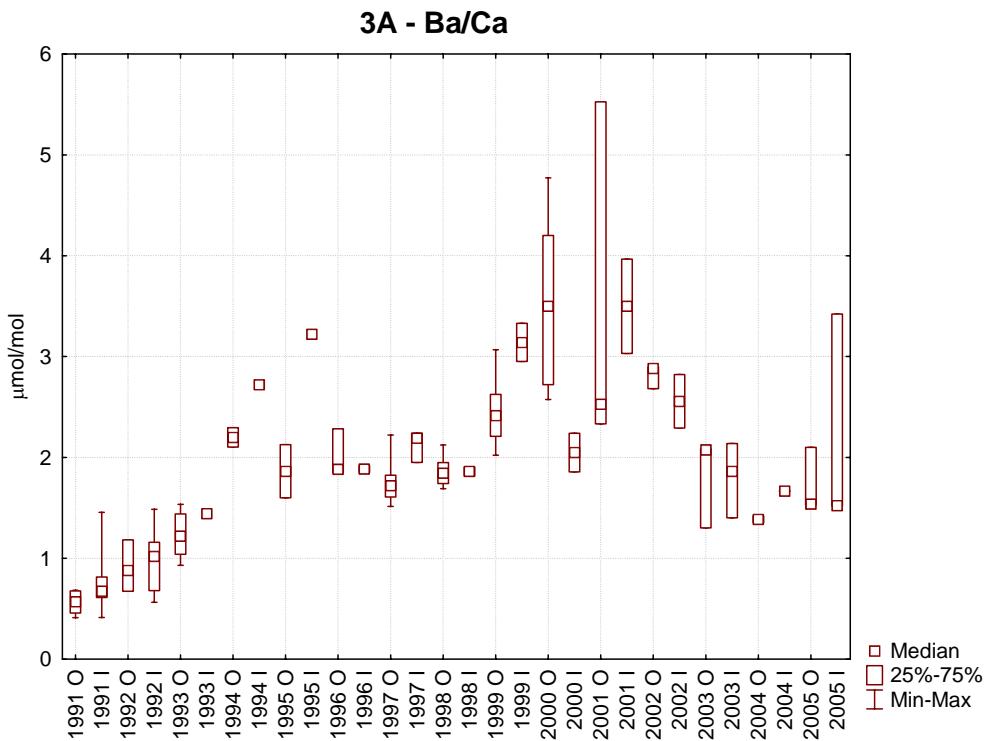


FIG. 3.9. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite)

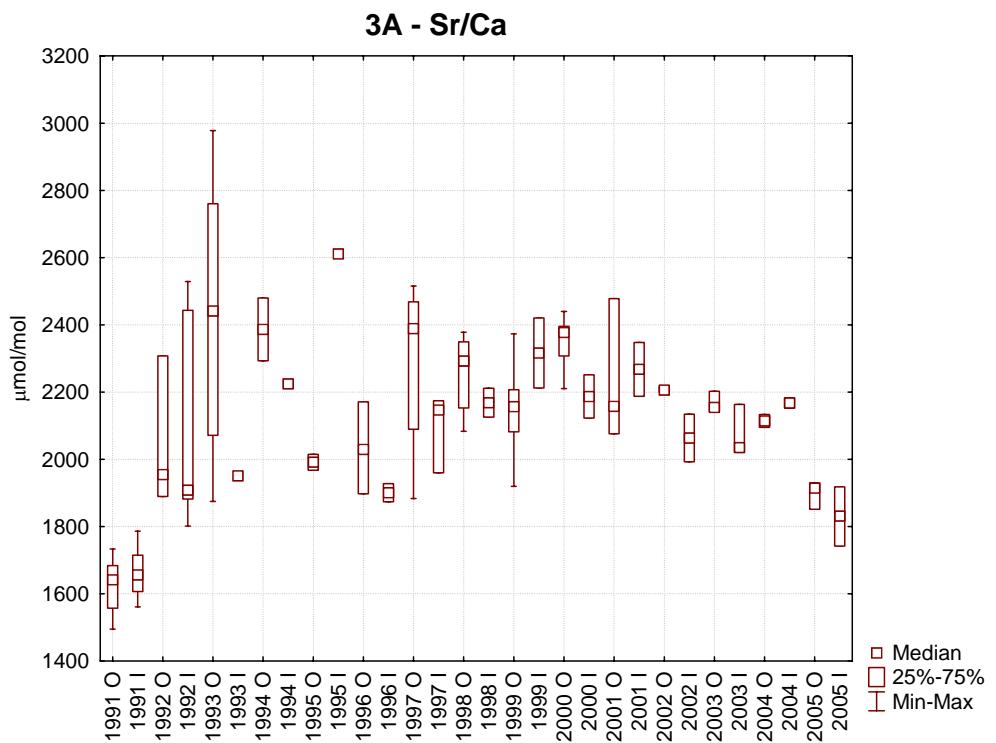


FIG. 3.10. Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

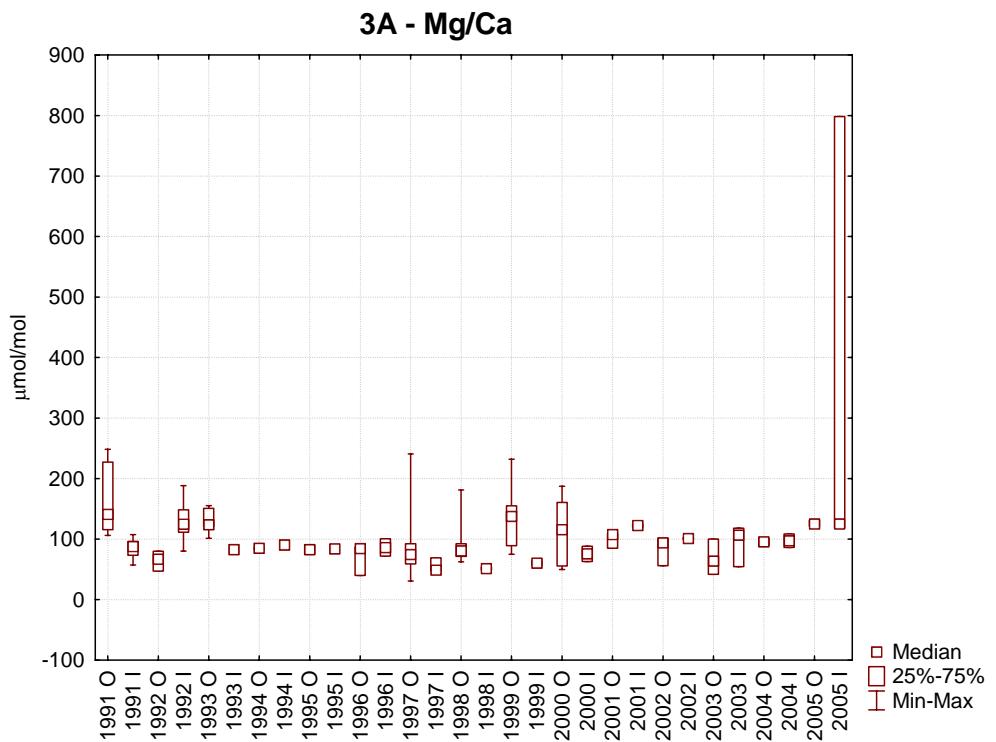


FIG.3.11. Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.3 Otolite 9F

L'otolite 9F, di 10 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda ialina (anno 1997) alla decima banda opaca (anno 2005) (Fig. 3.12).



FIG. 3.12. Sezione del campione 9 F con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

Complessivamente sul campione 9F sono state eseguite 74 analisi di cui 48 lungo il transetto principale (dal core al rostro) e le restanti 26 come repliche delle bande opache dell'anno 2000- 2002 e come repliche delle bande ialine dell'anno 1998.

Il rapporto Ba/Ca mostra un netto trend in aumento per tutto l'arco della vita con una variabilità complessiva compresa fra 1,23 e 5,67 $\mu\text{mol/mol}$, valore mediano pari a 3,44 e scarto interquartile pari a 0,42 (Fig.3.13).

In particolare, si nota un trend di crescente durante il primo biennio 1996-1997 (mediane comprese fra 2,67 e 1,91 $\mu\text{mol/mol}$), seguito da un leggero decremento (mediane comprese fra 3,10 e 3,47 $\mu\text{mol/mol}$) seguito da un netto decremento fino all'anno di cattura (mediane di 2,96 $\mu\text{mol/mol}$).

Il rapporto Sr/Ca presenta valori tra 1795 e 3387 $\mu\text{mol/mol}$ con un valore medio uguale a 2438 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile di 126 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig 3.14).

Anche in questo caso il rapporto Sr/Ca mostra due fasi evidenti; una prima dal 1996 al 2001 in cui si nota un incremento (mediane comprese fra 1951 a 2789 $\mu\text{mol/mol}$) e una seconda in cui è evidente un decremento concentrazioni dei valori (mediane comprese fra 2545 e 2180 $\mu\text{mol/mol}$).

Il rapporto Mg/Ca mostra valori compresi fra 80 e 830 $\mu\text{mol/mol}$ e un valore medio pari a 275 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile di 62 $\mu\text{mol/mol}$. In questo caso si nota una prima fase (dall'anno 1996 al 2001) in cui vi è un trend in crescita con accumulo delle concentrazioni dal 1996 al 1999 (mediane comprese fra 319 e 319 $\mu\text{mol/mol}$), e una seconda fase in cui si nota un lieve decremento (mediane comprese fra 620 e 355 $\mu\text{mol/mol}$) (Fig. 3.15).

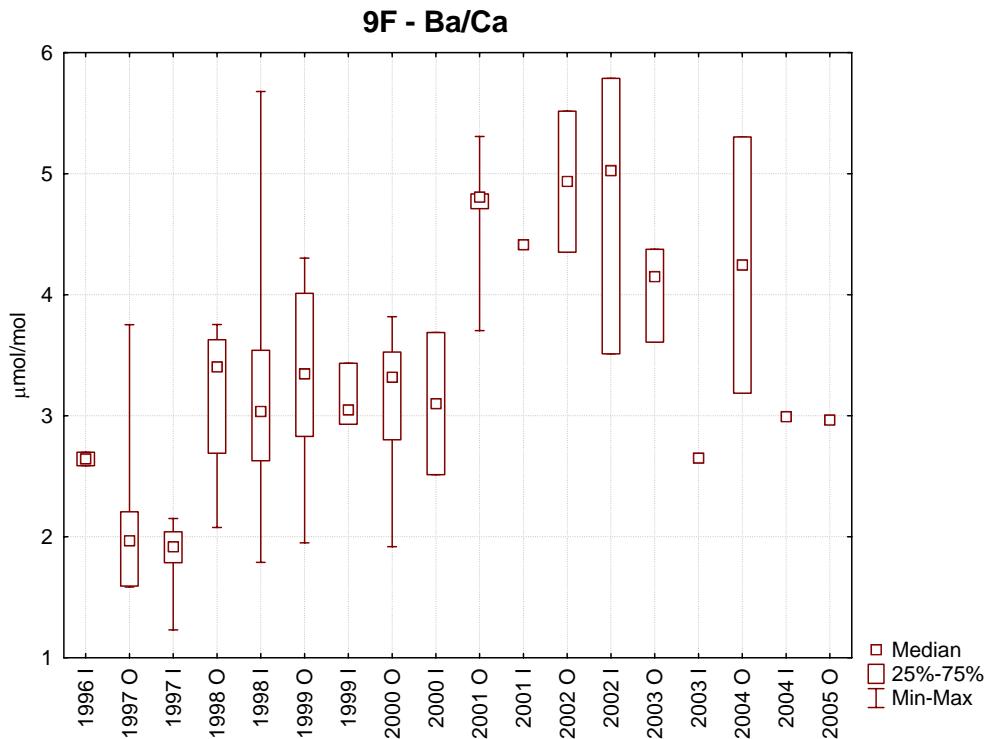


FIG 3.13. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

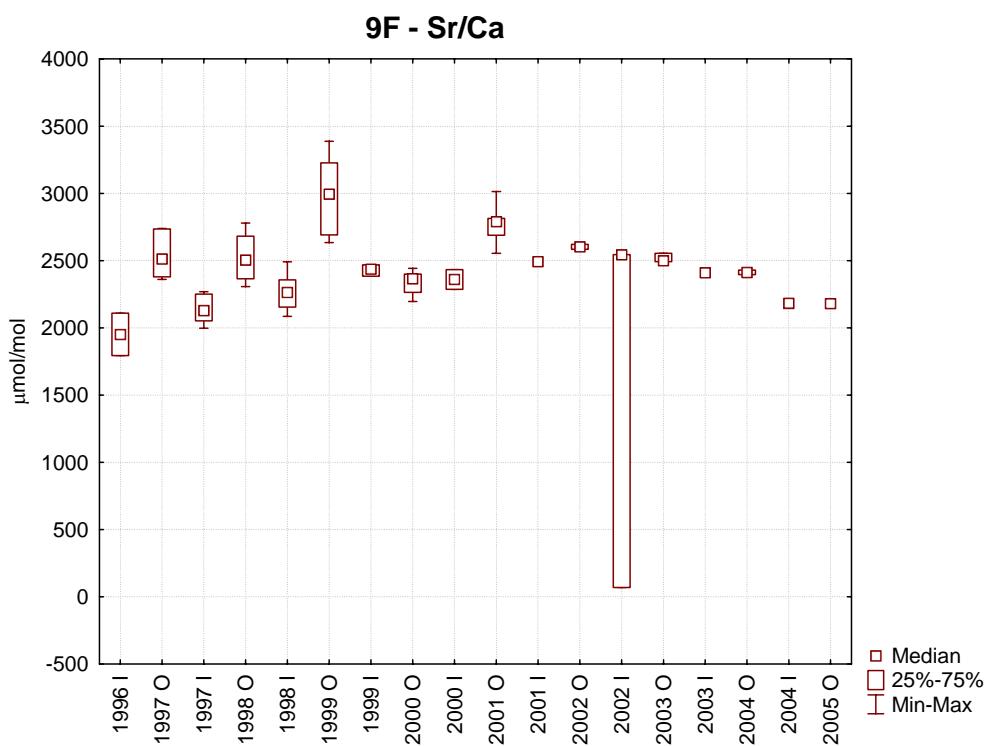


FIG. 3.14. Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

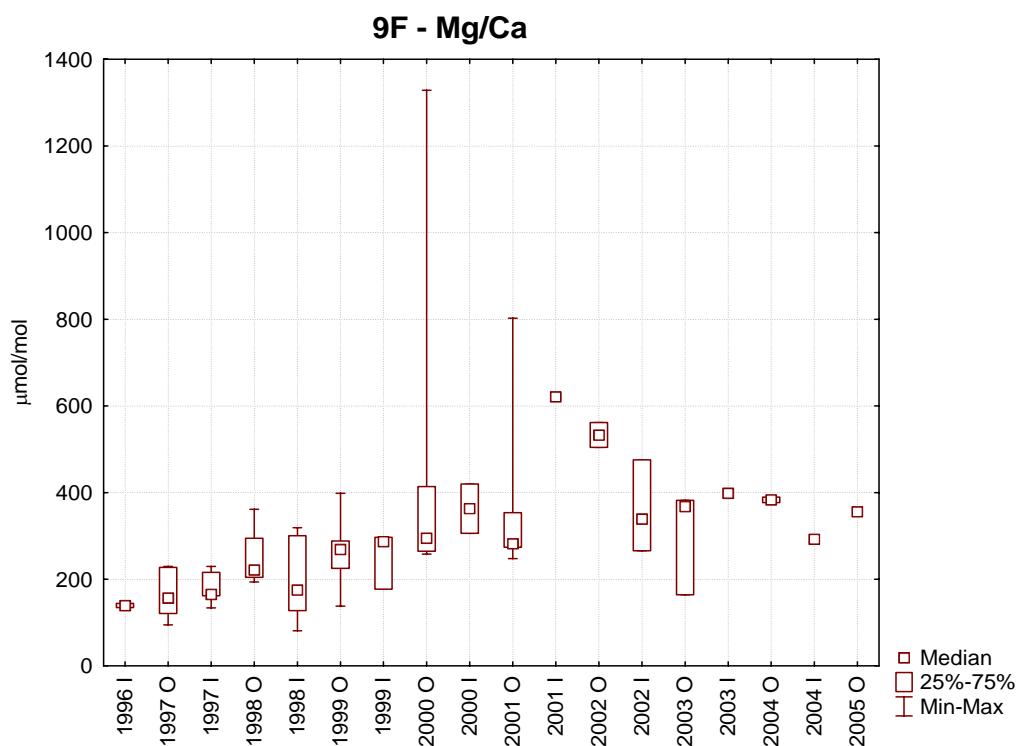


FIG 3.15. Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.4. Otolite 12F

Il campione 12F, di 11 anni di età, è stato analizzato dalla seconda banda di accrescimento opaca (anno 1996) all'undicesima ialina (anno 2005) (Fig.3.16).

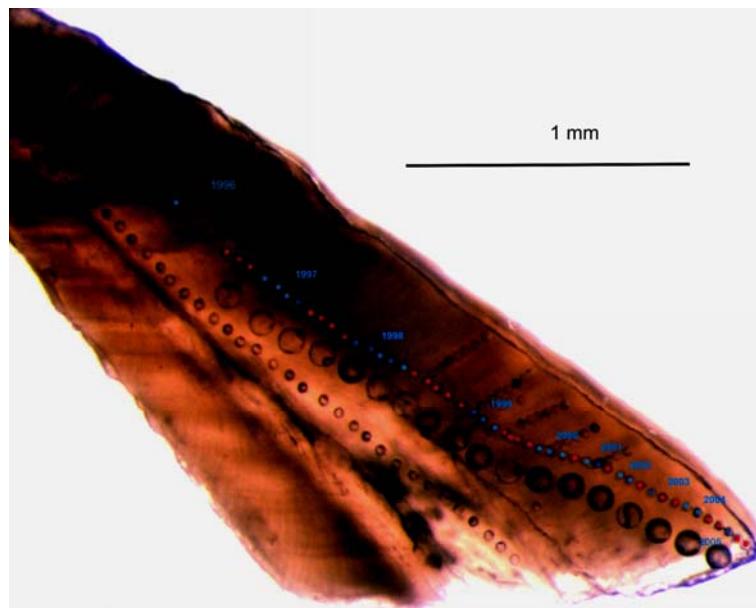


FIG 3.16. Sezione del campione 12 F con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

Complessivamente sul campione sono stati eseguite 85 analisi, di cui 51 sull'asse principale (dal core al rostro) e le restanti 34 come repliche delle bande opache del 1999-2001 e delle bande ialine 1998-1999.

Il rapporto Ba/Ca mostra un trend in aumento per tutta l'esistenza dell'individuo con valori mediani compresi fra 0,47 e 7,30 $\mu\text{mol/mol}$, valore medio pari a 2,03 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile di 0,28 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig 3.17).

Il rapporto Sr/Ca mostra valori compresi fra 1577 e 3009 $\mu\text{mol/mol}$ e valore mediano uguale a 2287 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile uguale a 143 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.18).

Il rapporto Sr/Ca mostra una variabilità che evidenzia un trend in crescita dal 1996 al 1999 crescente (mediane comprese fra 1686 e 2635 $\mu\text{mol/mol}$) e uno decrescente (mediane comprese fra 2339 e 2290 $\mu\text{mol/mol}$) fino all'anno 2002. Da quel momento il rapporto Sr/Ca valori sostanzialmente costanti.

Il rapporto Mg/Ca mostra un trend di crescita per tutto l'arco della vita con valori compresi fra 60 e 322 $\mu\text{mol/mol}$, valore mediano di 191 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile pari a 23 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig 3.19).

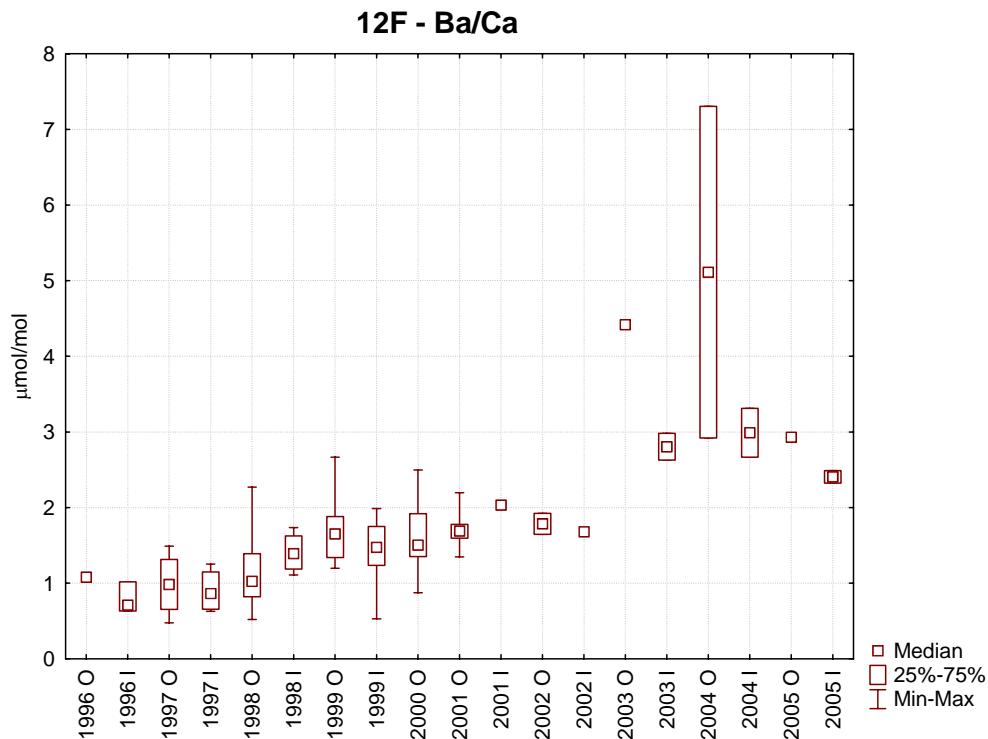


FIG.3.17. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

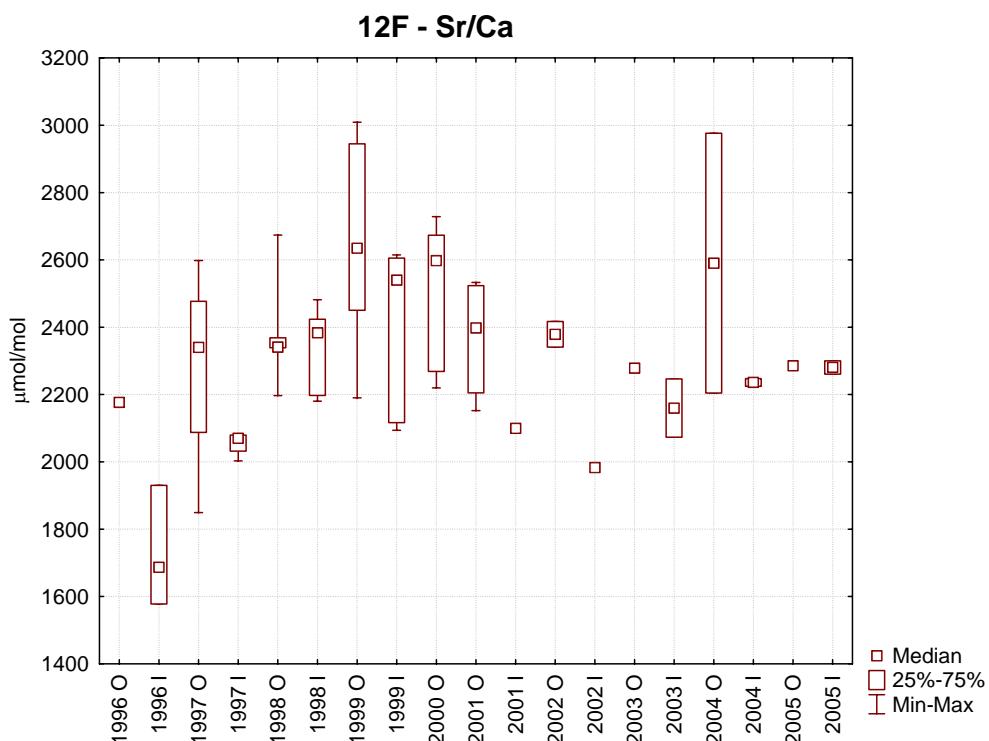


FIG. 3.18. Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

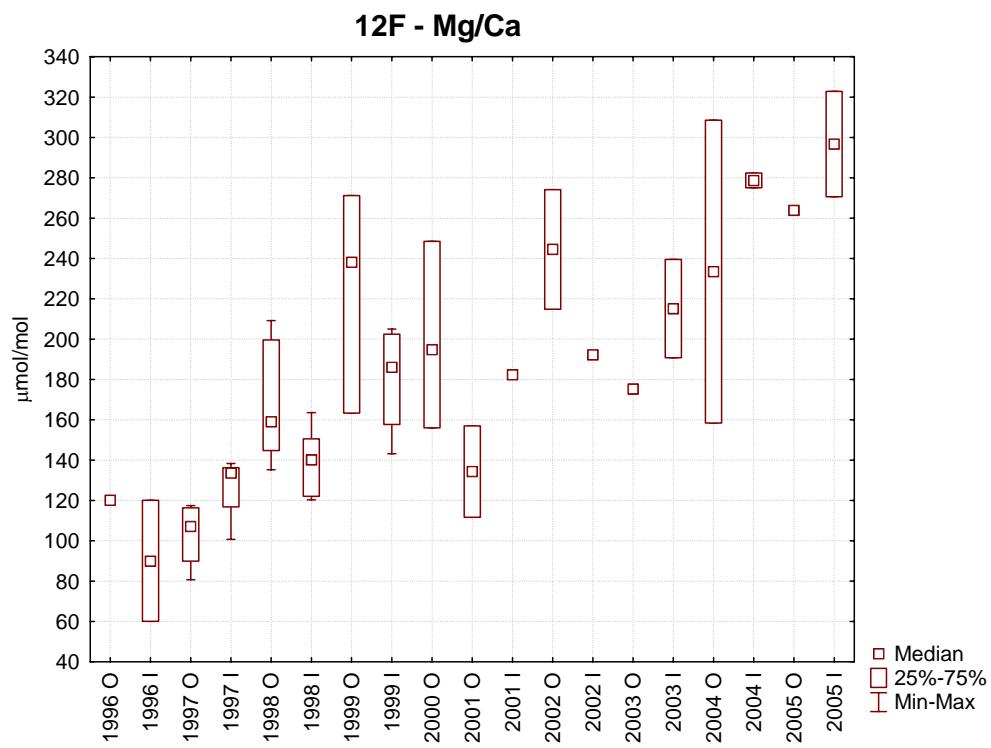


FIG. 3.19 Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.5 Otolite 13F

L'otolite 13F, di 13 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda di accrescimento ialina (anno 1995) alla decima banda di accrescimento opaca (anno 2004) (Fig. 3.20).

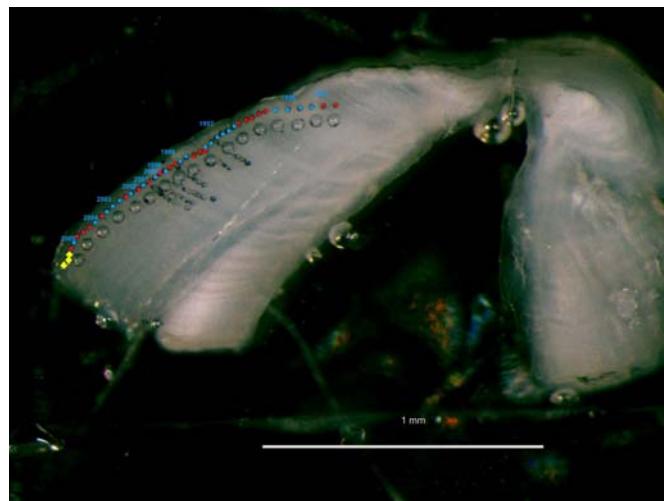


FIG. 3.20. Sezione del campione 13 F con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine; in gialla spot non “georeferenziati”).

Complessivamente sono state eseguite 78 analisi di cui 45 lungo l'asse principale (dal core al rostro) e le restanti 35 come repliche delle bande opache del 1997, 1998 e 2000 e della banda ialina del biennio 1999- 2000.

Il rapporto Ba/Ca presenta valori compresi fra 0,38 e 10 $\mu\text{mol/mol}$. E' evidente un primo accumulo trend di crescita dal 1996 al 1998 (valori mediani compresi fra 0,46 e 7,05 $\mu\text{mol/mol}$) e un seconda fase in cui i valori si attestano a valori costanti compresi fra 4,63 e 3,59 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.21).

Il rapporto Sr/Ca mostra un trend sinodale con valori fra 1678 e 3506 $\mu\text{mol/mol}$, mediana pari a 2329 e scarto interquartile di 227 $\mu\text{mol/mol}$.

In particolare l'andamento temporale del rapporto Sr/Ca mostra un evidente trend in crescita dal 1996 al 1999 (mediane comprese tra 1851 e 3099 $\mu\text{mol/mol}$) seguita da una fase decrescente dalla seconda parte del 1999 al 2001 (mediane comprese fra 2382 e 2127 $\mu\text{mol/mol}$). Infine dal 2003 al 2004 un leggero trend in crescita sposta le mediane tra 2348 e 2962 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.22).

Il rapporto Mg/Ca mostra un trend di crescita nei primi anni di vita (fino al 1998) per poi diventare costante attorno a 359 $\mu\text{mol/mol}$, scarto interquartile di 53 $\mu\text{mol/mol}$.

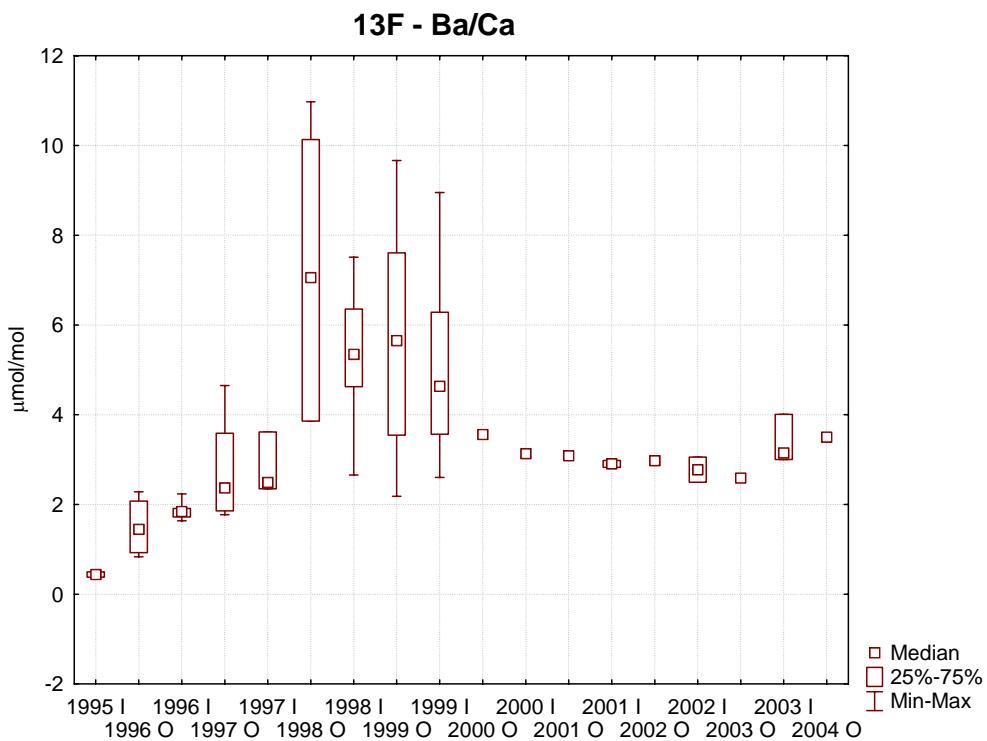


FIG.3.21. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

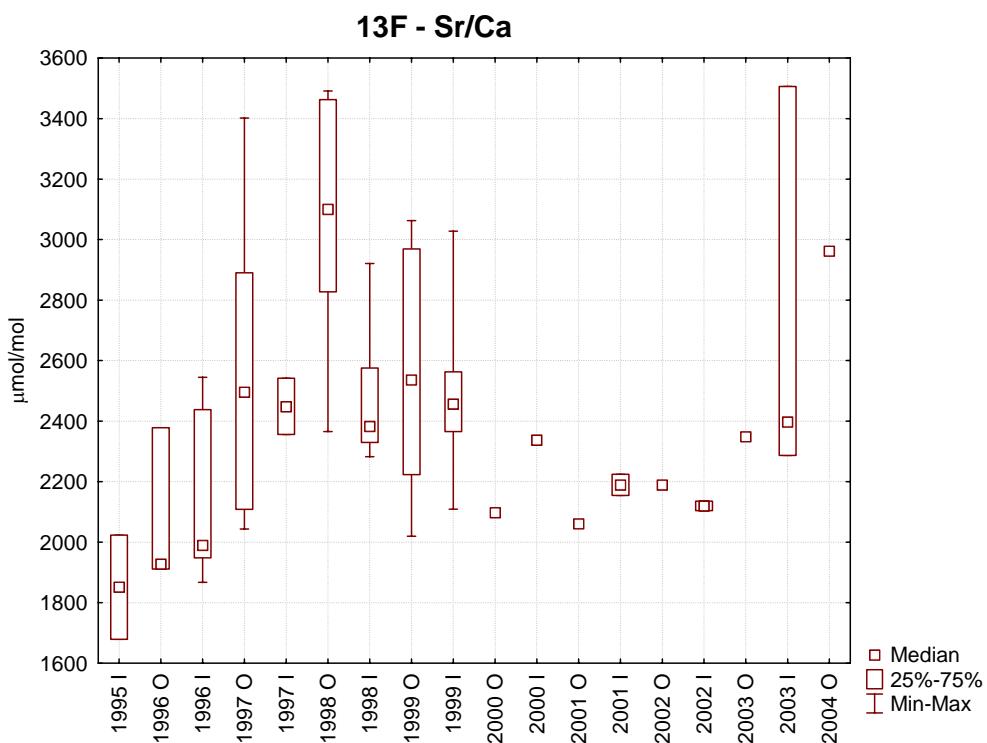


FIG 3.22. Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

Anche in questo caso ad una prima fase, dal 1995 al 1998, in cui si nota un trend in aumento (valori mediani compresi fra 92 e 359 $\mu\text{mol/mol}$) segue una seconda fase dal 1998 al 2004 in cui i valori Mg/Ca con mediane comprese fra 171 e 312 $\mu\text{mol/mol}$ si mantengono pressoché costanti (Fig. 3.23).

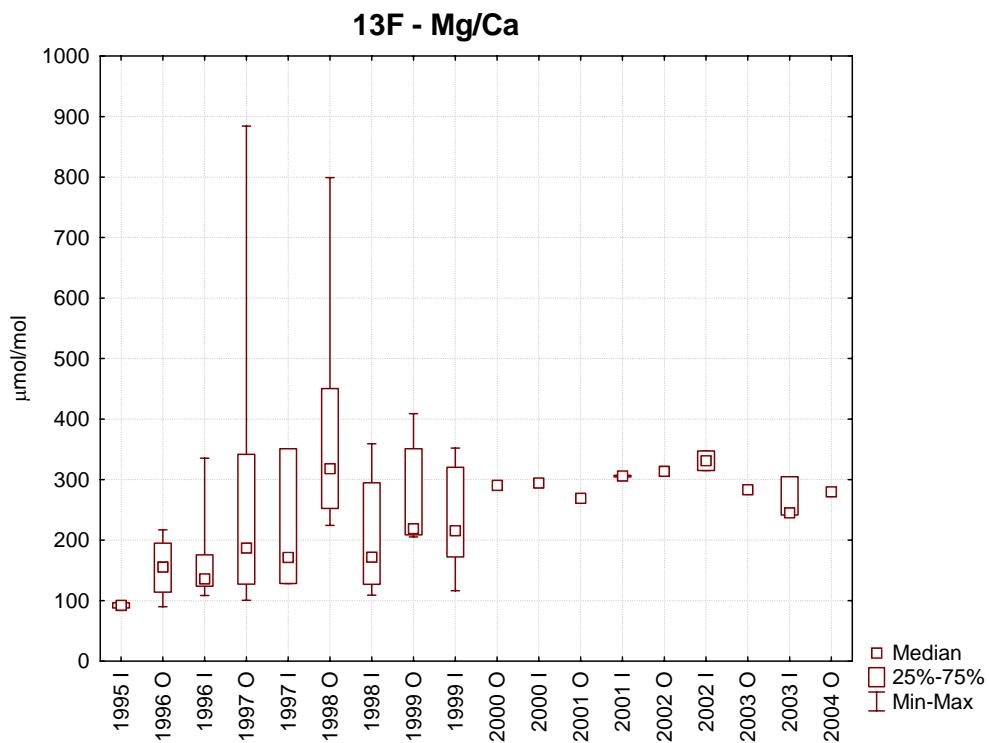


FIG.3.23. Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.6. Otolite 22F

Il campione 22F, di 9 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda opaca (anno 1997) alla nona ialina (anno 2005).

Complessivamente sono state effettuate 189 analisi. Un totale di 52 analisi sono state eseguite lungo il transetto principale (dal core al rostro) ed i restanti 127 spots sono stati eseguiti come repliche delle bande di accrescimento (ialine e opache) del 1997, 1998, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004 e infine sulla sola banda ialina dell'anno 1999 ed opaca dell'anno 2005 (Fig. 3.24).

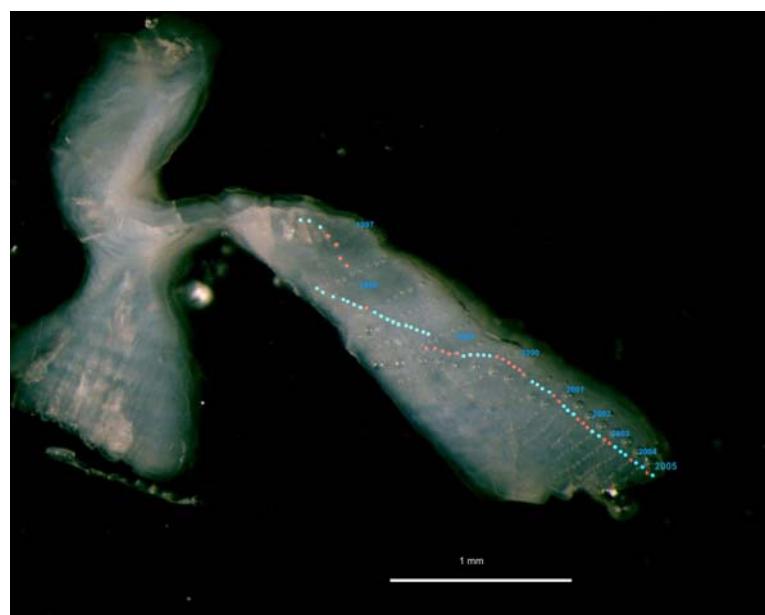


FIG.3.24. Sezione del campione 22 F con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

Il rapporto Ba/Ca mostra un trend di crescita per tutto l'arco di vita dell'esemplare con valori compresi fra 0,29 e 14 $\mu\text{mol/mol}$ e mediana di 3,06 e scarto interquartile di 0,5 $\mu\text{mol/mol}$.

In particolare, è possibile distinguere nella'arco di vita dell'organismo nei rapporti Ba/Ca 2 fasi di accumulo. il primo dal 1997 al 2001 (mediane comprese fra 0,8 e 4,05 $\mu\text{mol/mol}$) e il secondo dalla secondo semestre del 2001 al 2005 in cui il trend di crescita risulta meno pronunciato (mediane comprese fra 3,55 e 7,11 $\mu\text{mol/mol}$) (Fig.3.25).

Il rapporto Sr/Ca mostra un trend di crescita nel corso dell'intera vita dell'organismo con valori compresi fra 1031 e 5876 $\mu\text{mol/mol}$ con un valore mediano

pari a 253 $\mu\text{mol/mol}$ e infine lo scarto medio interquartile pari a 295 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.26).

Il rapporto Mg/Ca mostra definito valori pressoché costanti attorno a per tutto l'arco della vita dell'organismo attorno a 34 e 908 $\mu\text{mol/mol}$ (valori mediani compresi fra 96 e 302 $\mu\text{mol/mol}$) e scarto interquartile pari a 84,19 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.27).

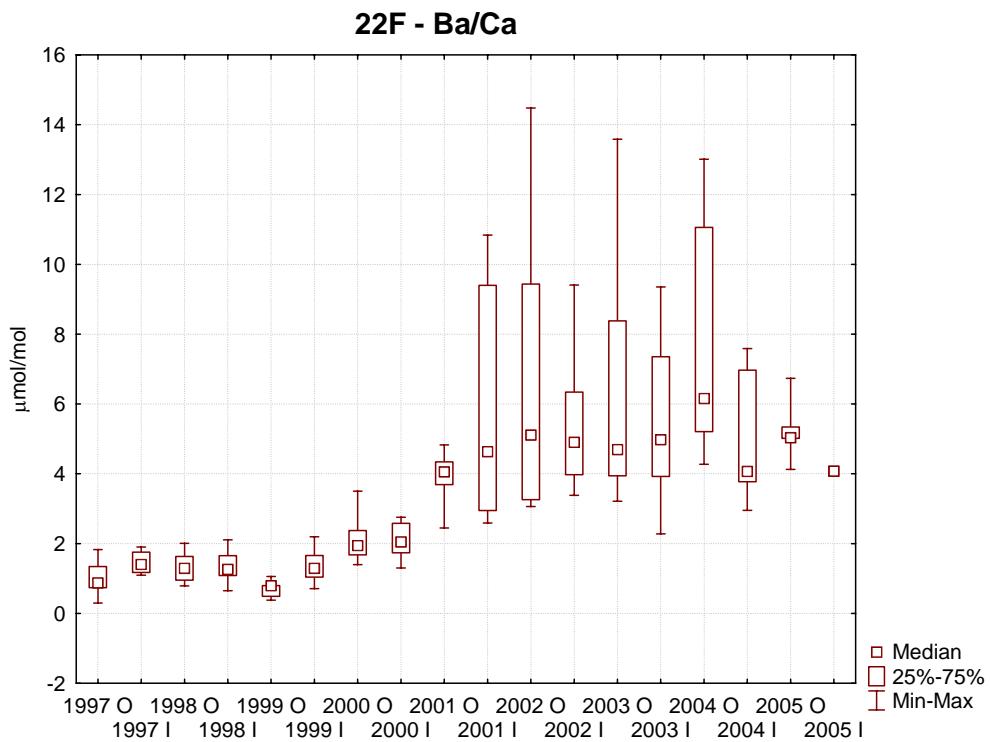


FIG. 3.25. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite)

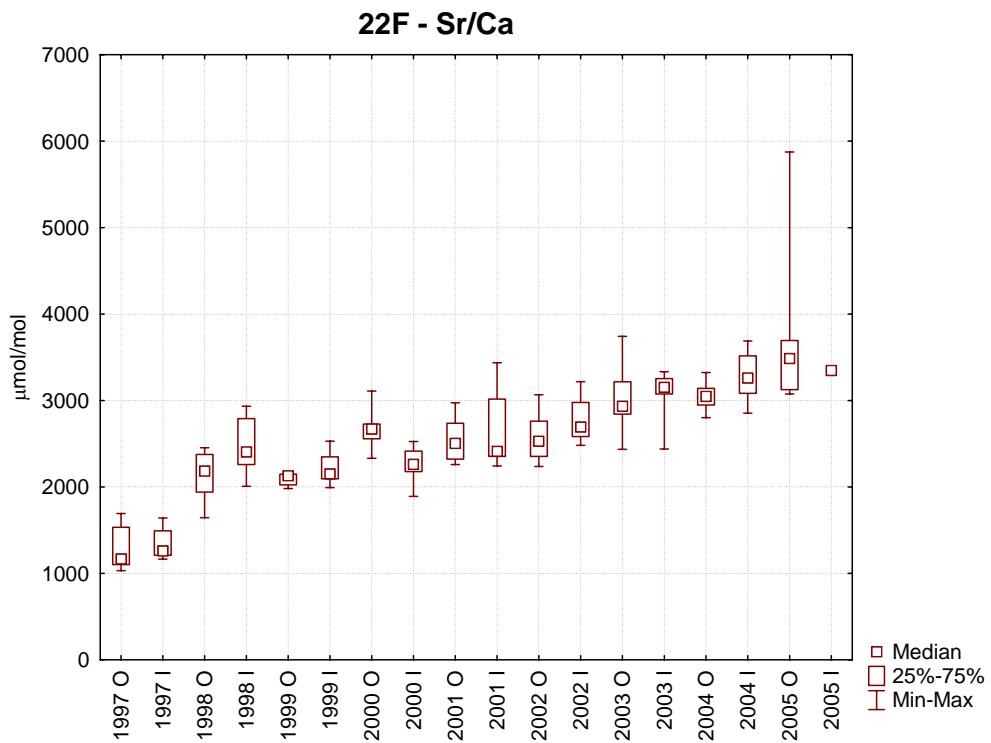


FIG. 3.26. Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

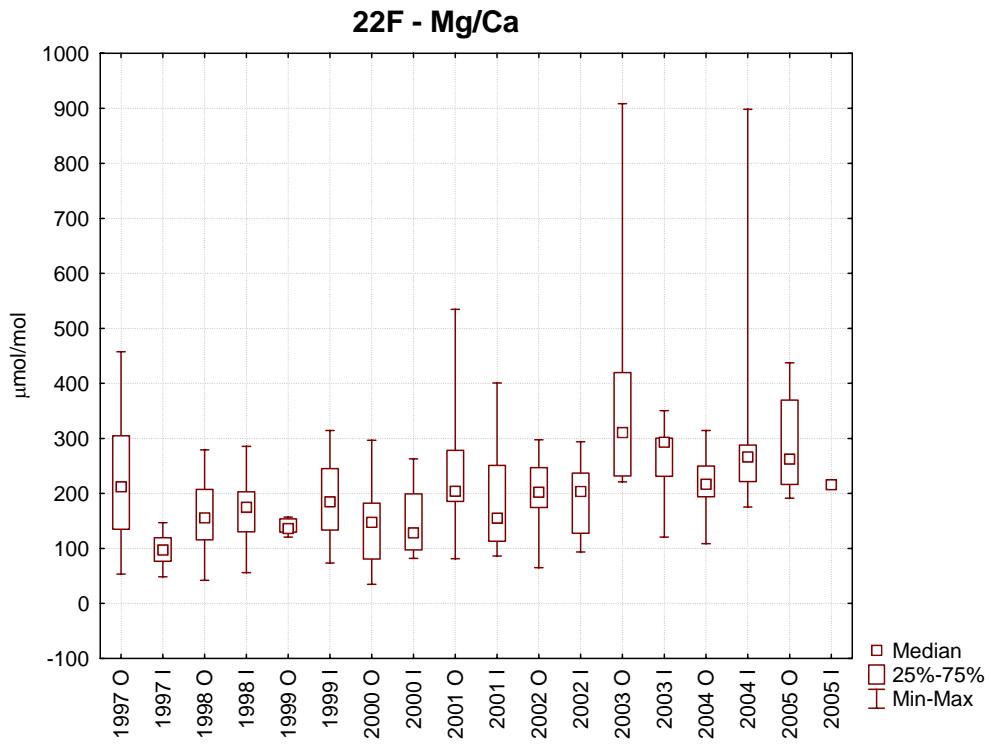


FIG. 3.27. Rapporti Mg/Ca. (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.7 Otolite 62F

L'otolite 62 F, di 6 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda di accrescimento opaca (anno 2001) alla quinta banda di accrescimento ialina (anno 2005) (Fig. 3.28).

Complessivamente sono state eseguite 83 analisi di cui 50 sul transetto principale e le restanti 33, come repliche su entrambe le bande opache e ialine degli anni 2003 e 2004.

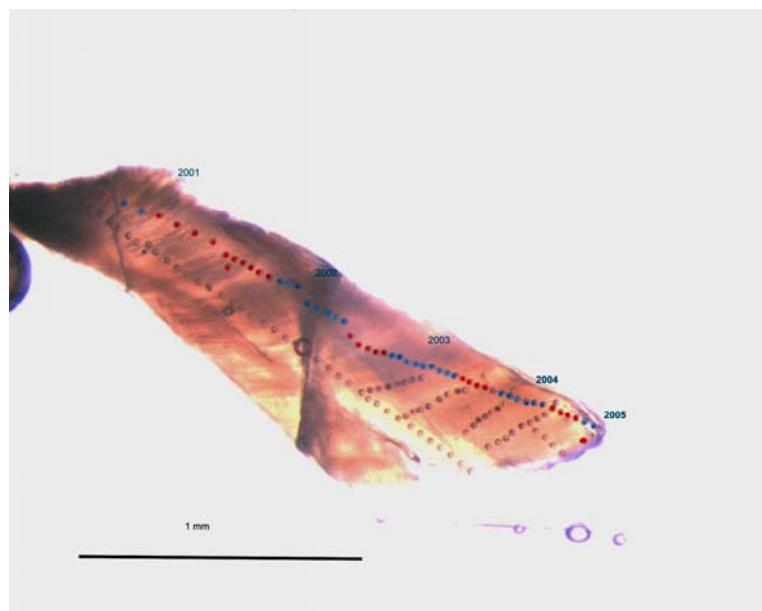


FIG. 3.28. Sezione del campione 62 F con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

Il rapporto Ba/Ca mostra un trend di crescita con valori compresi fra 0,80 e 14 $\mu\text{mol}/\text{moli}$, media uguale a 3,98 $\mu\text{mol}/\text{moli}$ e scarto interquartile uguale 0,06 $\mu\text{mol}/\text{moli}$ (Fig.3.29).

Il rapporto Sr/Ca mostra un trend negativo per l'intero arco di esistenza dell'organismo, con valori compresi fra 1515 e 4128 $\mu\text{mol}/\text{moli}$, valore mediano di 2408 $\mu\text{mol}/\text{moli}$ e scarto interquartile uguale 424 $\mu\text{mol}/\text{moli}$ (Fig.3.30).

Il rapporto Mg/Ca infine, mostra valori quasi costante per tutto l'arco di esistenza della vita dell'organismo con valori tra 23 e 227, media 103 $\mu\text{mol}/\text{moli}$ e scarto interquartile a 25 $\mu\text{mol}/\text{moli}$ (Fig. 3.31).

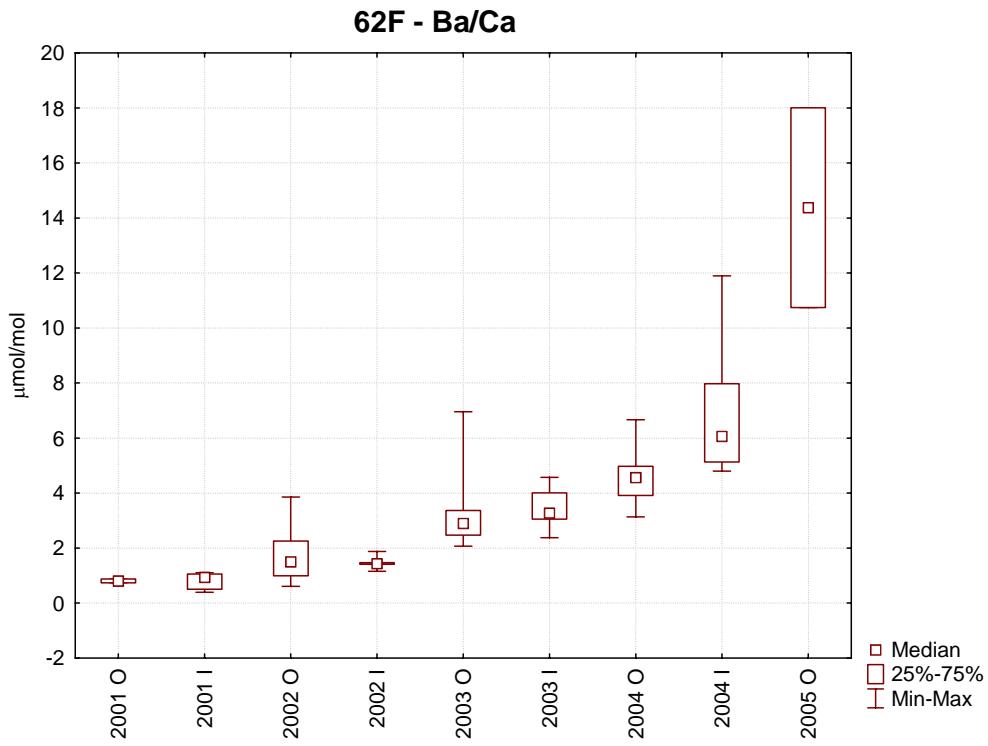


FIG.3.29. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

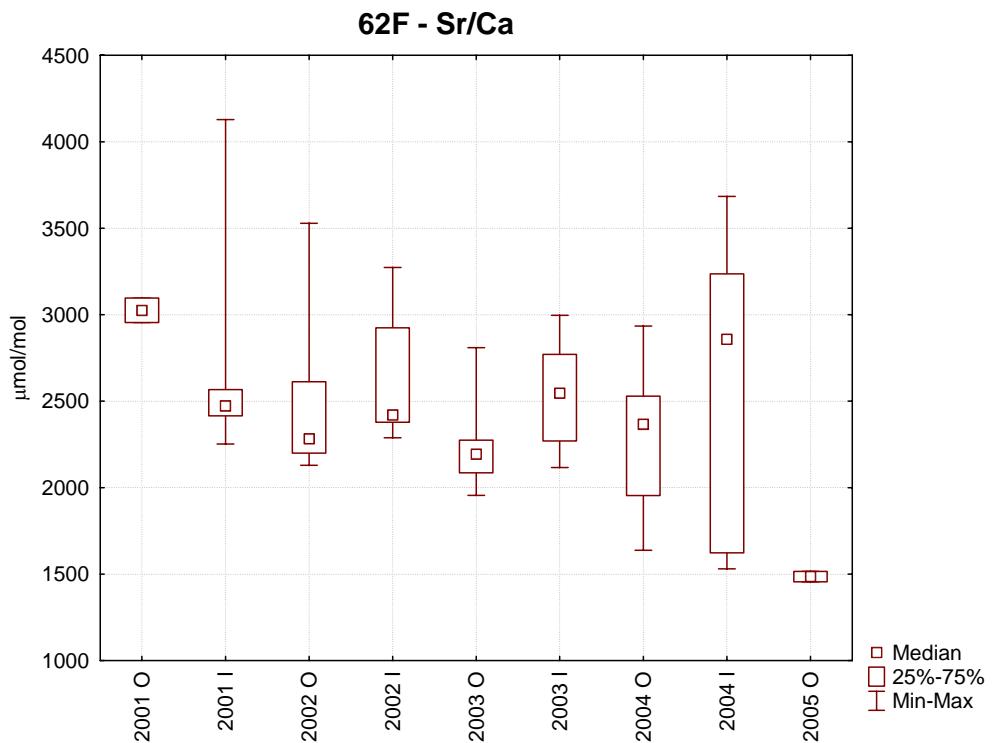


FIG.3.30. Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

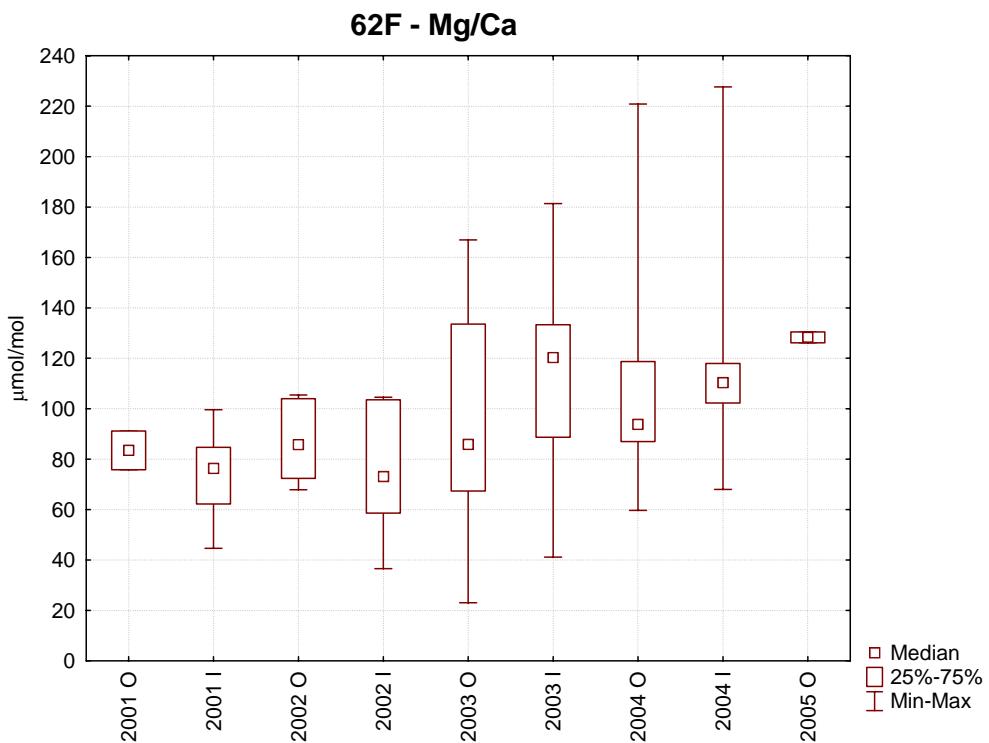


FIG.3.31 Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.8 Otolite 1D

L'otolite 1 D, di 15 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda opaca (anno 1993) alla quindicesima banda ialina (anno 2008) (Fig. 3.32).

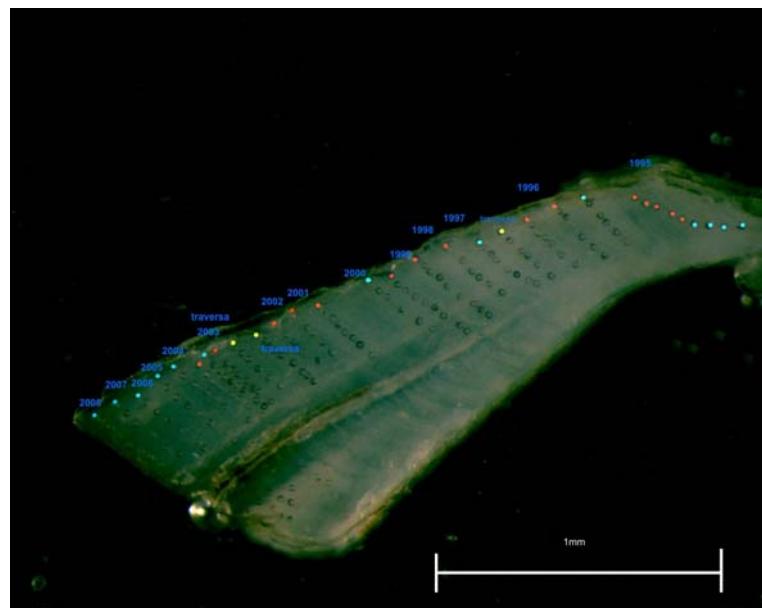


FIG. 3.32. Sezione del campione 1 D con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

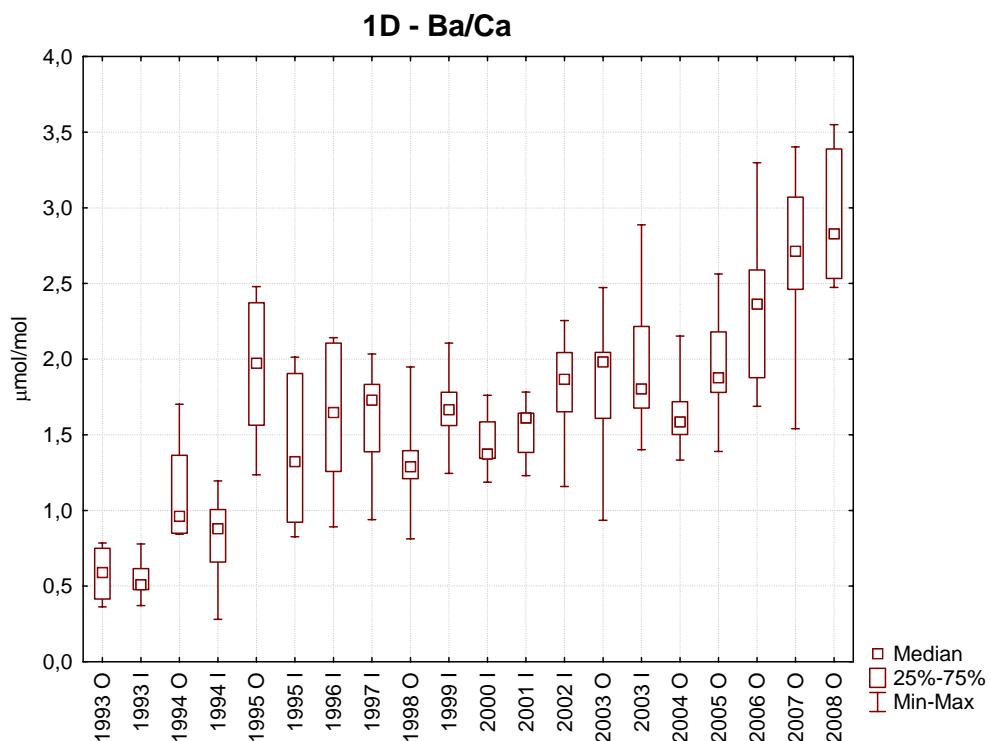
L'analisi del rapporto Ba/Ca mostra un trend di crescita per tutto l'arco della vita con valori compresi fra 0,36 e 3,55 $\mu\text{mol/mol}$, media 1,63 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile pari a 0,4 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.33).

Il rapporto Sr/Ca mostra valori compresi fra 1490 e 3118 $\mu\text{mol/mol}$, media 2150 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile uguale a 215 $\mu\text{mol/mol}$.

Dall'analisi visiva della Fig. 3.39 è possibile distinguere 3 step di accumulo: il primo riguardante il biennio 1993/94 (valori delle mediane comprese fra 1506 e 1606 $\mu\text{mol/mol}$), il secondo step dal 1995 al 1999 (valori delle mediane comprese fra 2448 e 2506 $\mu\text{mol/mol}$) e il terzo in decrescita, dal 2000 al 2008 (valori delle mediane comprese fra 2256 e 2503 $\mu\text{mol/mol}$) (Fig. 3.34).

L'analisi del rapporto Mg/Ca mostra valori compresi fra 18 e 265 $\mu\text{mol/mol}$, media uguale a 112 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile uguale a 26 $\mu\text{mol/mol}$.

In questo caso è possibile notare un rapido trend di crescita tra il 1993/1994, seguito da una continua decrescita fino all'anno di cattura (valore mediano uguale a 85 $\mu\text{mol/mol}$) (Fig.3.35).



GRAF 3.33. Rapporti Ba/Ca. (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

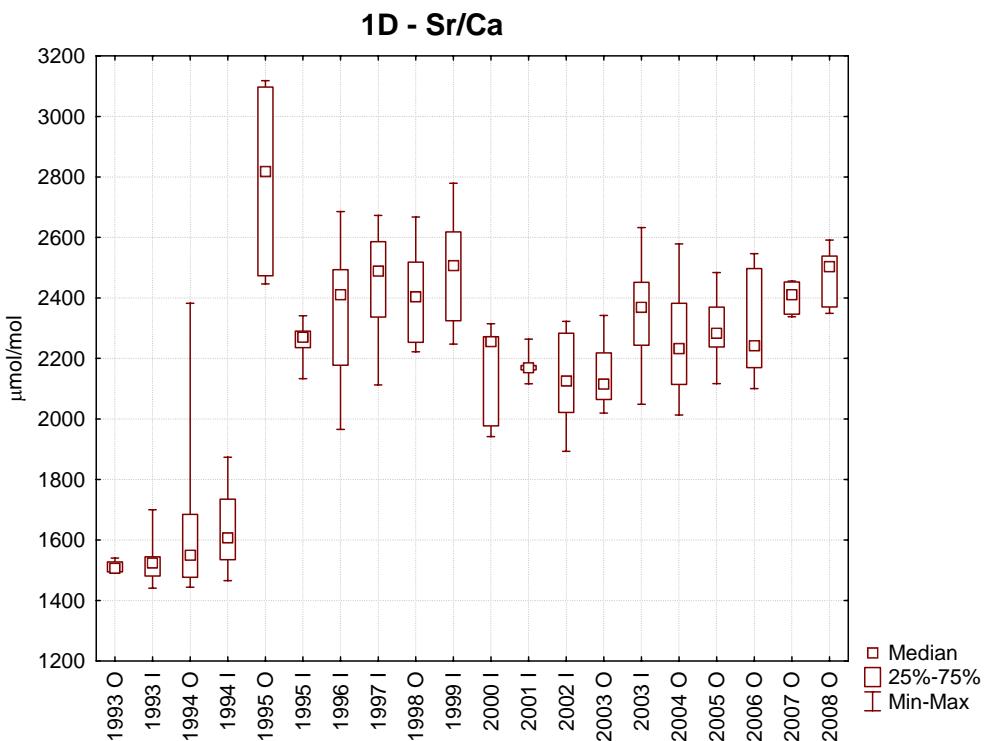


FIG.3.34. Rapporti Sr/Ca. O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite

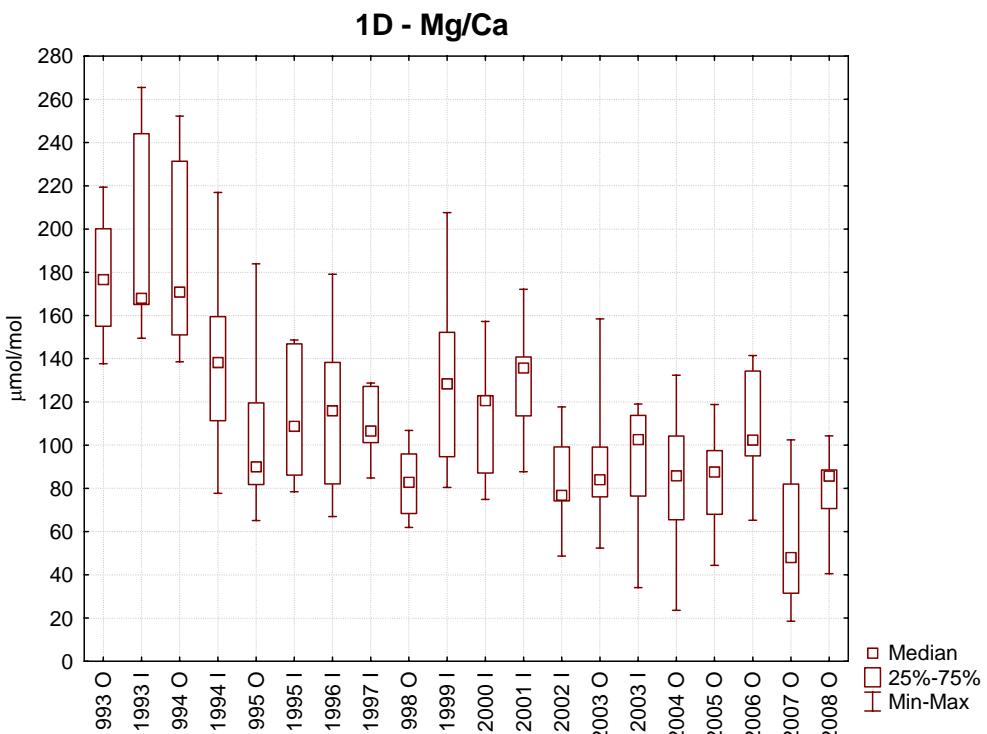


FIG.3.35. Rapporti Mg/Ca. (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.9 Otolite 3D

L'otolite 3D, di 11 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda opaca (anno 1997) all'undicesima banda ialina (anno 2007) (Fig.3.36).

Complessivamente sono state eseguite 69 repliche di cui 22 sull'asse principale e le restanti 47 come repliche di tutte le bande di accrescimento del campione.



FIG 3.36. Sezione del campione 3 D con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

Il rapporto Ba/Ca mostra un trend di crescita con valori compresi fra 0,35 e 3,17 $\mu\text{mol/mol}$, mediana di 1,52 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile di 0,54 $\mu\text{mol/mol}$.

Dall'analisi della Fig. 3.41 è evidente un primo step di crescita dei valori dal 1997 al 2003 (valori delle mediane comprese fra 0,87 e 2,17 $\mu\text{mol/mol}$) e un secondo intervallo fino al 2008 in cui i valori del Ba/Ca diminuiscono (valori delle mediane comprese fra 2,25 e 0,5 $\mu\text{mol/mol}$) (Fig.3.37).

Il rapporto Sr/Ca mostra valori compresi fra 1201 e 2315 $\mu\text{mol/mol}$, media di 1826 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile uguale a 159 $\mu\text{mol/mol}$.

Anche in questo caso, come per il rapporto Ba/Ca, i valori dello Sr/Ca mostrano un aumento durante la prima parte di vita dell'organismo (dall'anno 1997 all'anno 2003) con valori delle mediane comprese fra 1403 e 2025 $\mu\text{mol/mol}$ e, una diminuzione dall'anno 2003 al 2008 con valori mediani compresi fra 1986 e 1603 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.38).

Il rapporto Mg/Ca mostra valori compresi fra 18 e 158 $\mu\text{mol/mol}$, mediana di 63 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile uguale a 17 $\mu\text{mol/mol}$

Dall'analisi della Fig.3.44 è evidente una crescita nella prima parte di vita dell'organismo (dall'anno 1997 all'anno 2001) con valori mediani compresi fra 50 e 93 $\mu\text{mol/mol}$ e, una decrescita fino al momento della cattura dell'individuo (2008) con valori mediani compresi tra 83 e 39 $\mu\text{mol/mol}$.

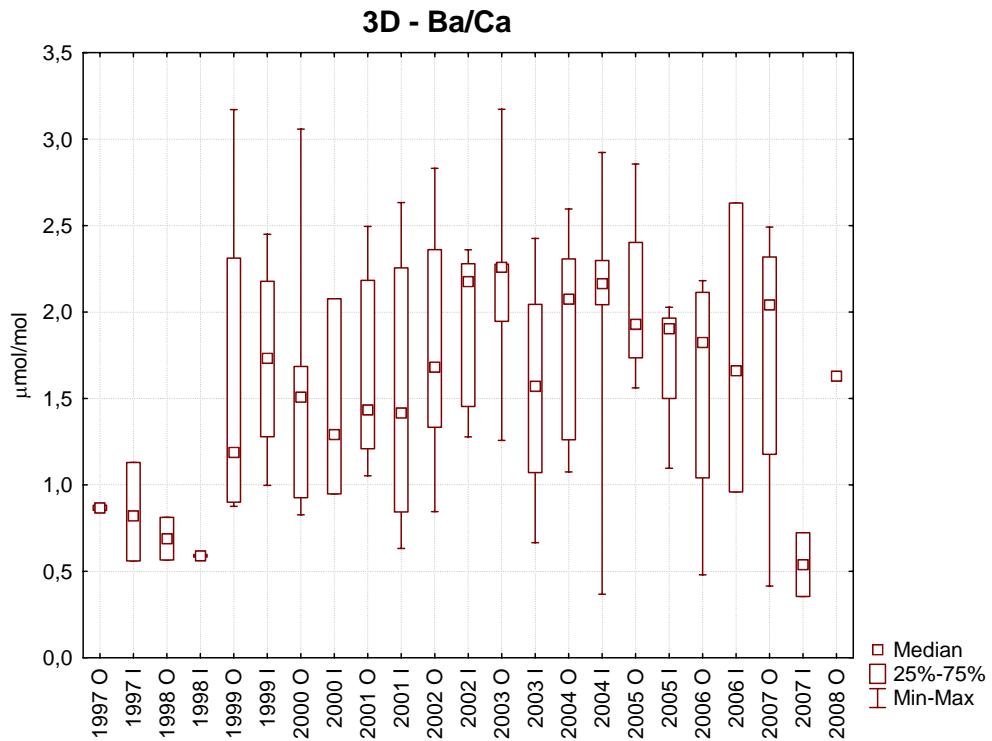


FIG. 3.37. Rapporti Ba/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

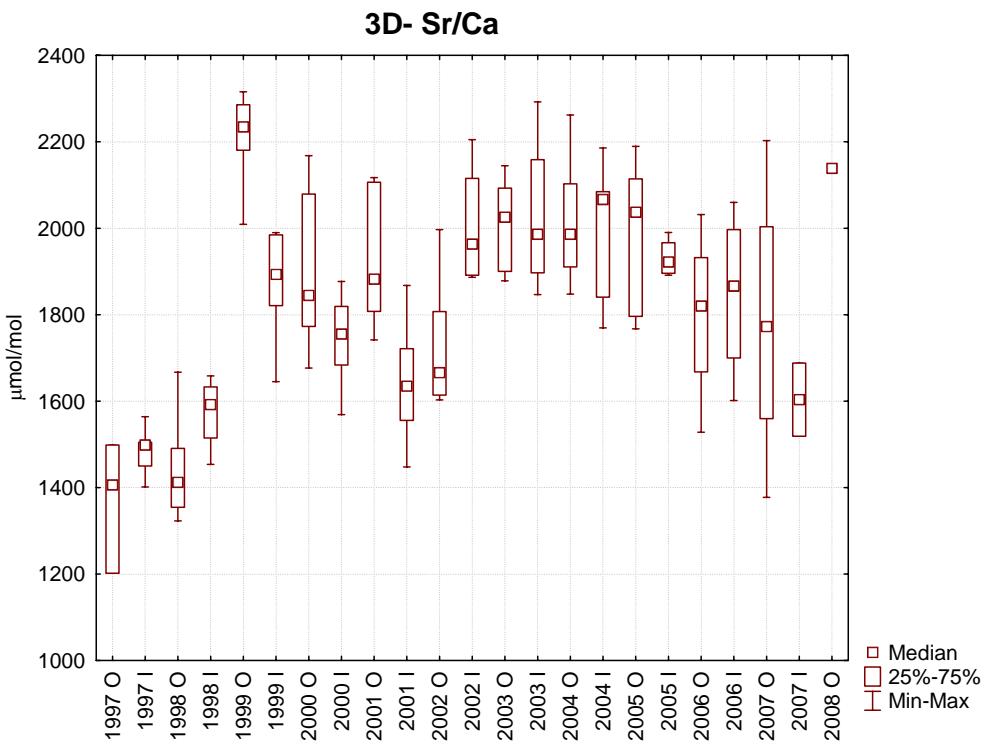


FIG. 3.38 Rapporti Sr/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

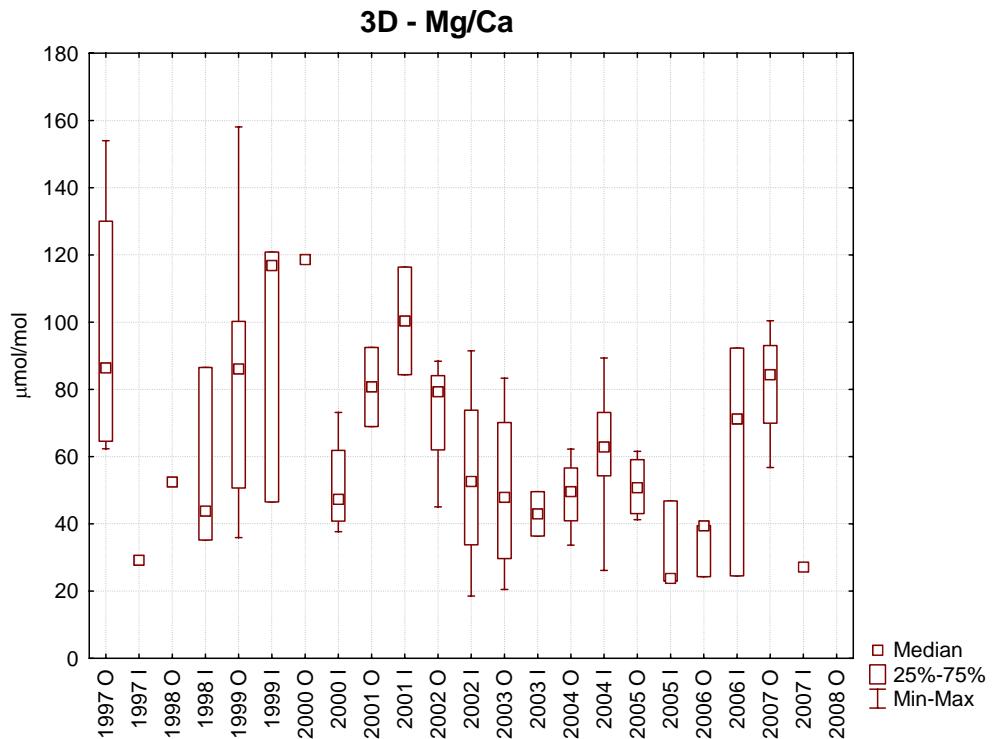


FIG. 3.39. Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.1.10 Otolite 4D

L'otolite 4D, di 12 anni di età, è stato analizzato dalla prima banda opaca (anno 1997) alla dodicesima banda opaca (anno 2008) (Fig. 3.40).

Complessivamente sono state eseguite 79 analisi di cui 18 sull'asse principale (dal core al rostro) e le restanti 61 come repliche di tutte le bande di accrescimento del campione.

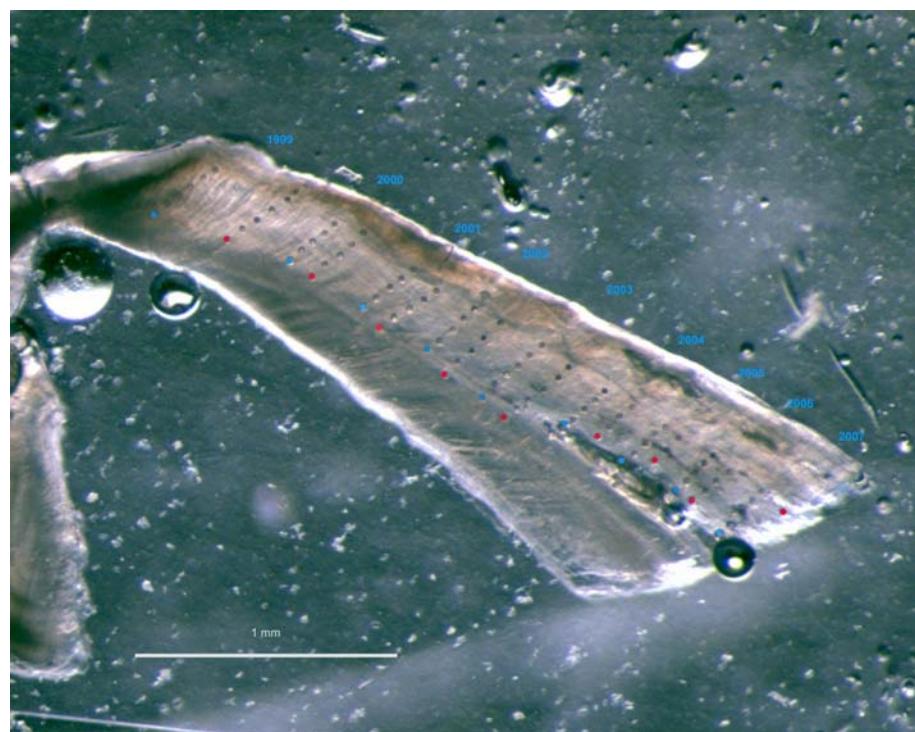


FIG.3.40. Sezione del campione 4 D con identificazione degli anni (in rosso spots sulle bande opache, in blu spots sulle bande ialine).

Il rapporto Ba/Ca mostra un trend di crescita con valori compresi fra 0,39 e 4,24 $\mu\text{mol/mol}$, mediana 1,75 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile pari a 0,7 $\mu\text{mol/mol}$.

L'analisi della Fig. 3.45 mostra andamenti costanti per la prima parte del segnale dell'esemplare dall'anno 1999 al 2003 (valori mediani compresi fra 0,68 e 1,21 $\mu\text{mol/mol}$) e un evidente trend di crescita dal 2003 al 2007 con valori mediani compresi fra 1,24 e 3,00 $\mu\text{mol/mol}$).

Il rapporto Sr/Ca mostra valori compresi tra 1599 e 3420 $\mu\text{mol/mol}$, mediana di 2165 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile pari a 153 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.41).

Anche in questo caso l'analisi della Fig. 3.47 mostra l'esistenza di una crescita (dall'anno 1999 all'anno 2004) con valori mediani compresi tra 1726 a 2367 $\mu\text{mol/mol}$

e, un ultima fase, fino al 2007 dove si nota una decrescita con valori mediani compresi fra 2467 a 2075 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.42).

Il rapporto Mg/Ca mostra valori di accumulo compresi tra 16 e 361 $\mu\text{mol/mol}$, mediana di 94 $\mu\text{mol/mol}$ e scarto interquartile uguale a 32 $\mu\text{mol/mol}$.

Anche in questo caso, dall'analisi della Fig. 3.43 mostra un prima fase dal 1999 al 2002 in cui si ha una decrescita (valori mediani compresi fra 219 e 19 $\mu\text{mol/mol}$), e un ultima fase, fino al 2007, dove si può notare un trend quasi costante con valori mediani compresi tra 98 e 111 $\mu\text{mol/mol}$ con un picco di accumulo (valore mediano di 280 $\mu\text{mol/mol}$) corrispondente alla banda opaca del 2004.

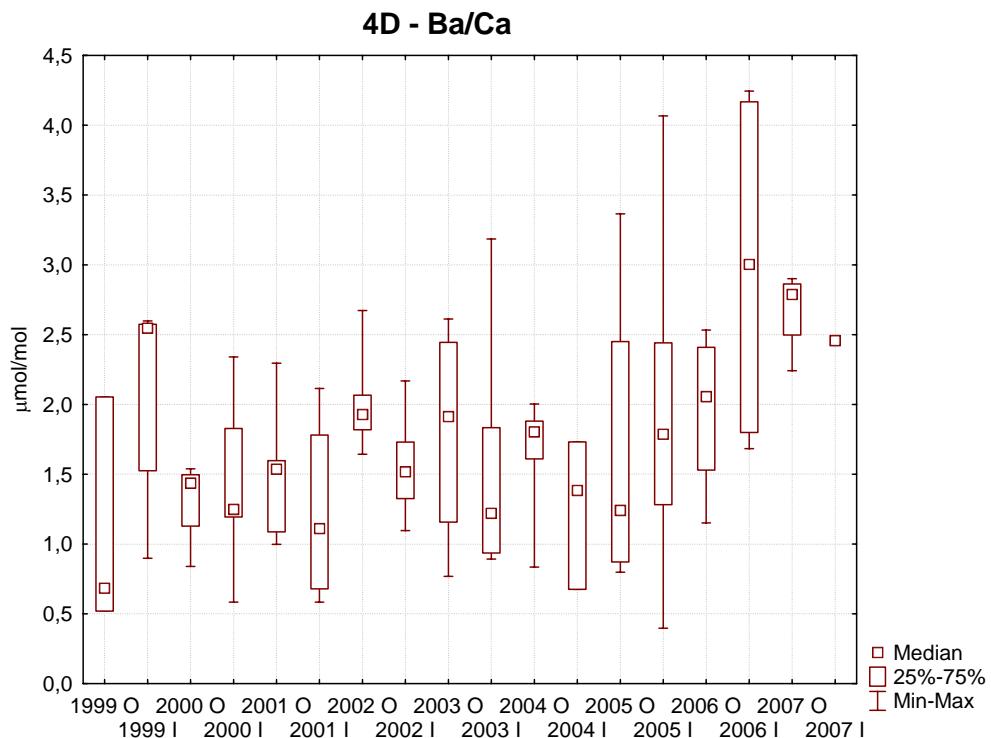


FIG. 3.41 Rapporti Ba/Ca. O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite

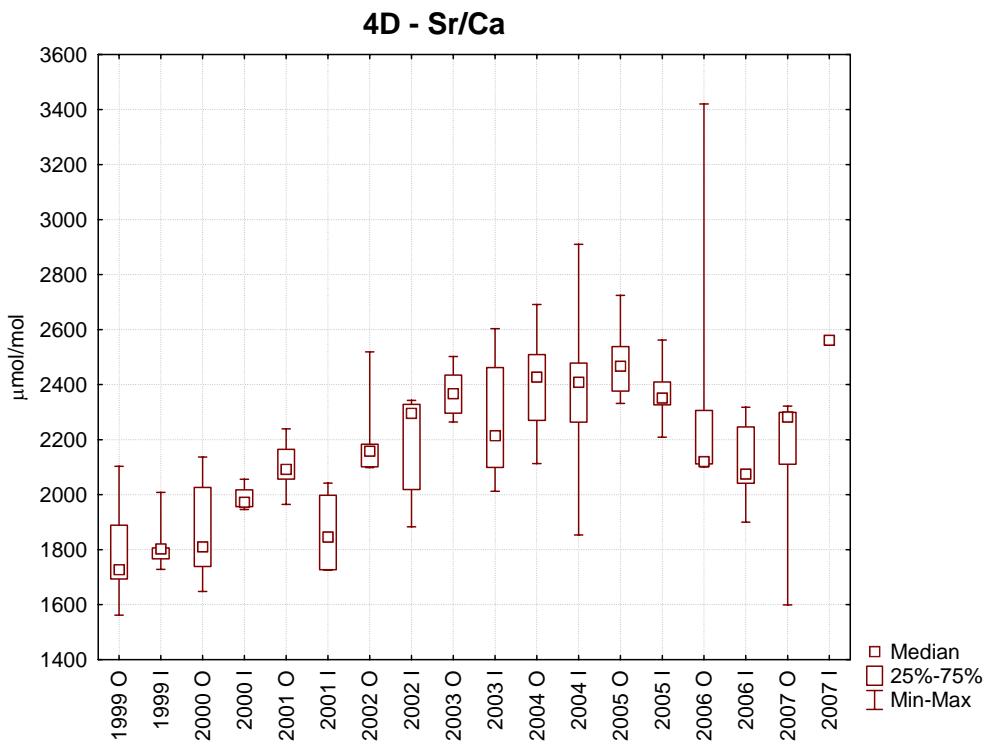


FIG.3.42 Rapporti Sr/Ca. (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

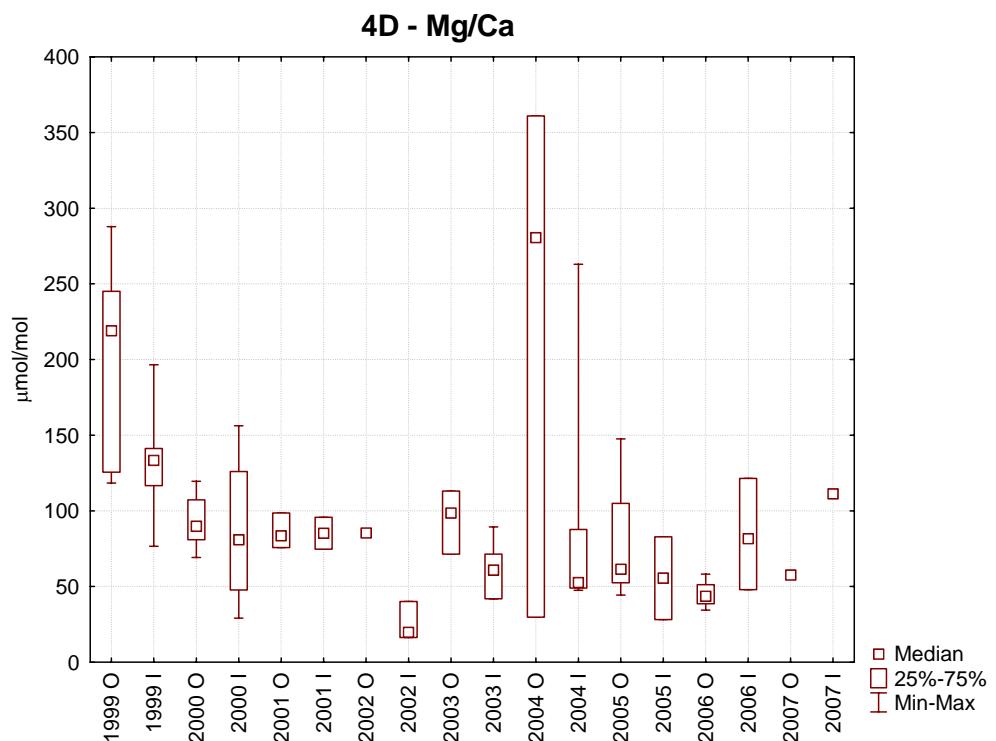


FIG.3.43. Rapporti Mg/Ca (O e I si riferiscono rispettivamente ad analisi effettuate sulle bande opache e ialine dell'otolite).

3.2 Otoliti di organismi di età compresa fra zero e un anno

I rapporti Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca mostrano valori comparabili nei 5 campioni identificati come YOY (*young of the year*) con mediane rispettivamente comprese fra 0,57 e 0,59 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.4), per il rapporto Ba/Ca, tra 1500 e 16110 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig. 3.44) per il rapporto Sr/Ca (Fig. 3.45) e infine tra 109 e 226 $\mu\text{mol/mol}$ per il rapporto Mg/Ca (Fig.3.46).

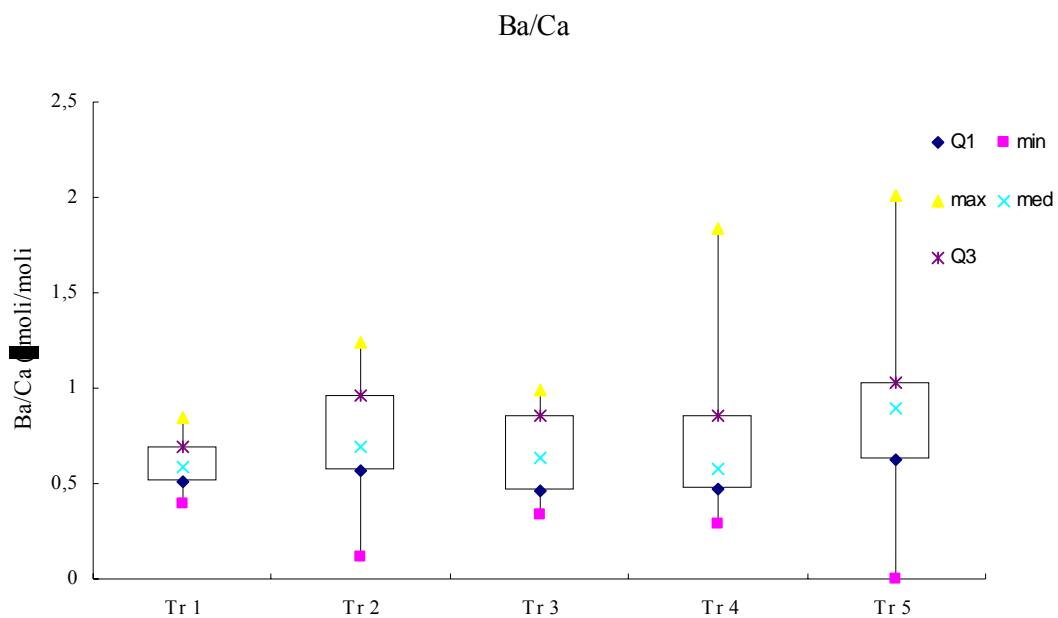


FIG 3.44. Rapporto Ba/Ca relativi ai campioni identificati come 0-1 anno(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%)

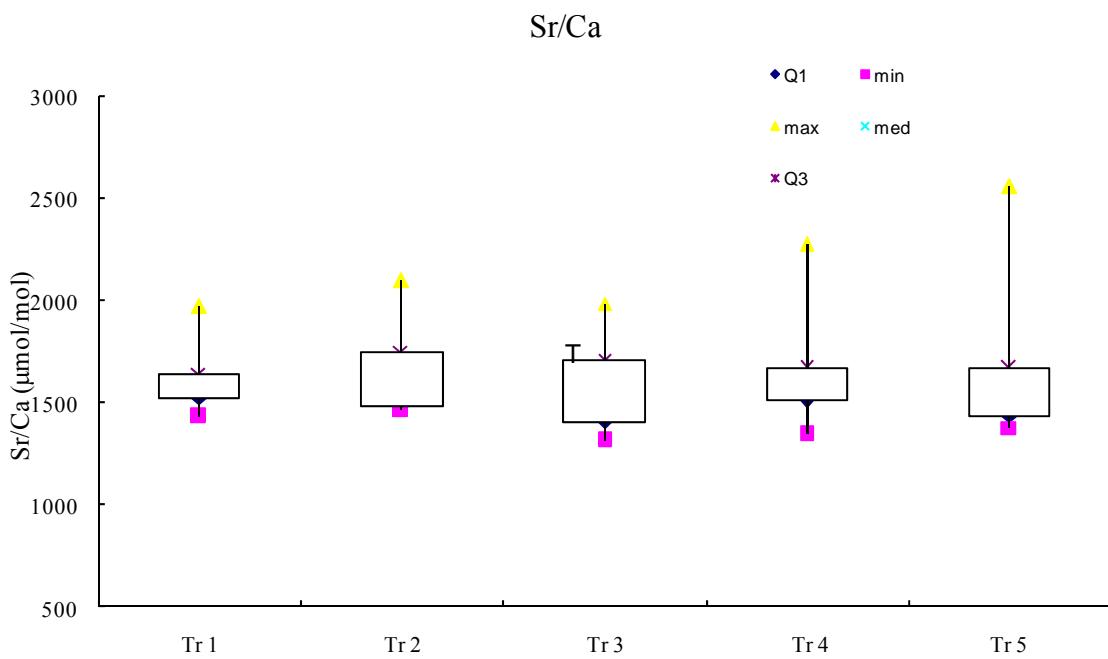


FIG 3.45. Rapporto Sr/Ca relativi ai campioni identificati come 0-1 anno. (q1:quartile al 25%;min: minimo; med: mediana; q3:quartile al 75%)

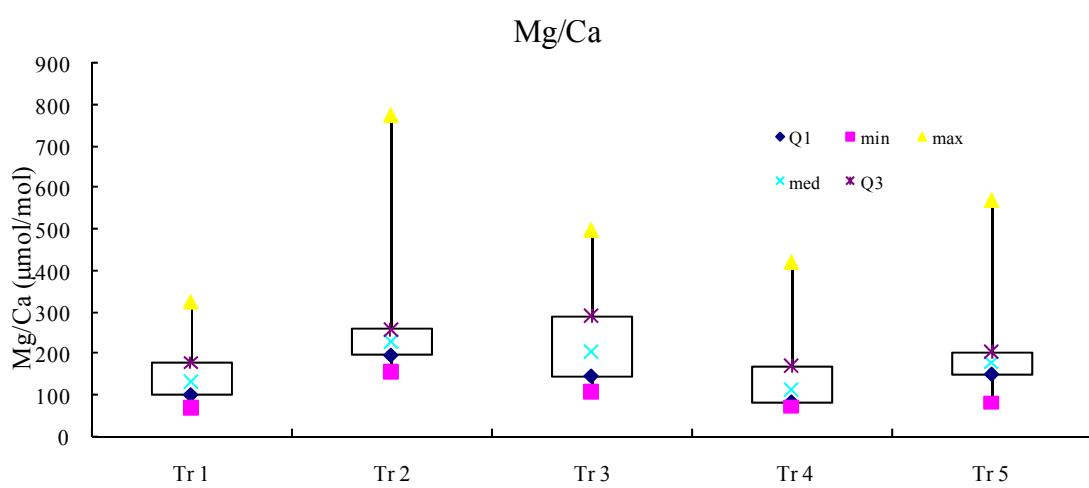


FIG 3.46. Rapporto Mg/Ca relativi ai campioni identificati come 0-1 anno. (q1:quartile al 25%; min: minimo; med: mediana; q3:quartile al 75%)

3.3. Otoliti di larve

Sulle larve analizzate, di età compresa fra 5 e 10 giorni, sono state eseguite analisi singole per ogni campione.

I rapporti Ba/Ca mostrano una variabilità compresa fra 5 e 44 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.47), mentre i rapporti Sr/Ca variano fra 2919 e 4003 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.48) e infine i valori Mg/Ca variano fra 109 e 7066 $\mu\text{mol/mol}$ (Fig.3.49)

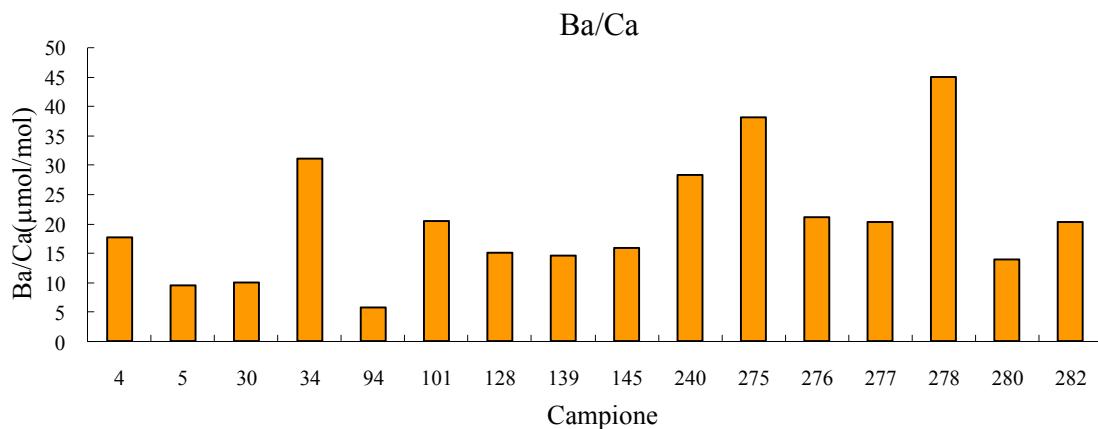


FIG. 3.47. Rapporto Ba/Ca relativi alle larve.

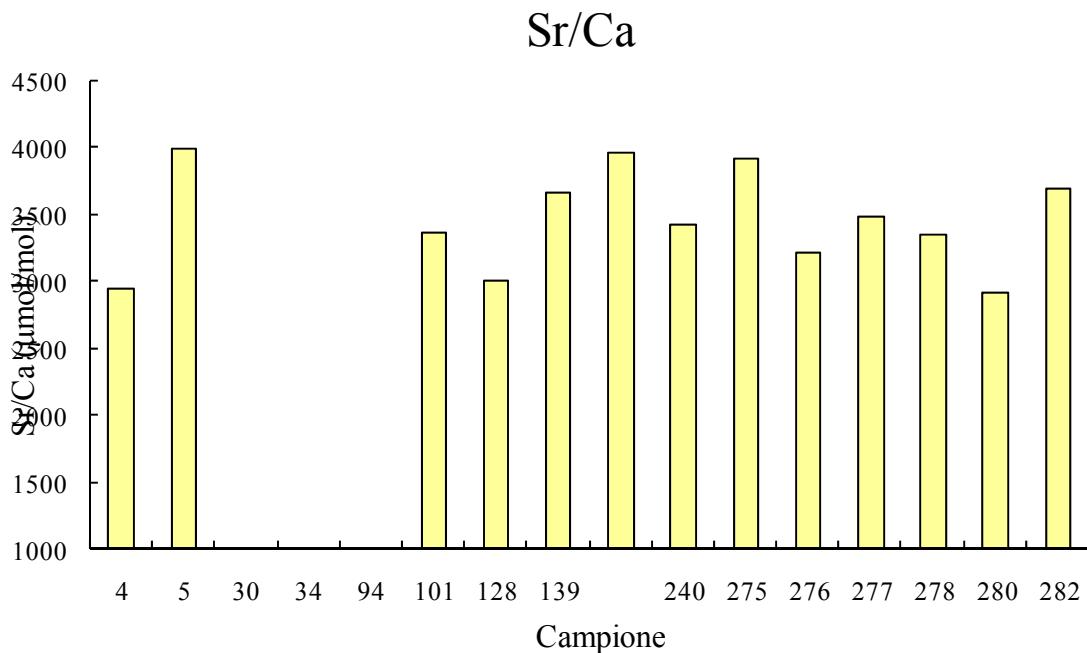


FIG. 3.48. Rapporto Sr/Ca relativi alle larve

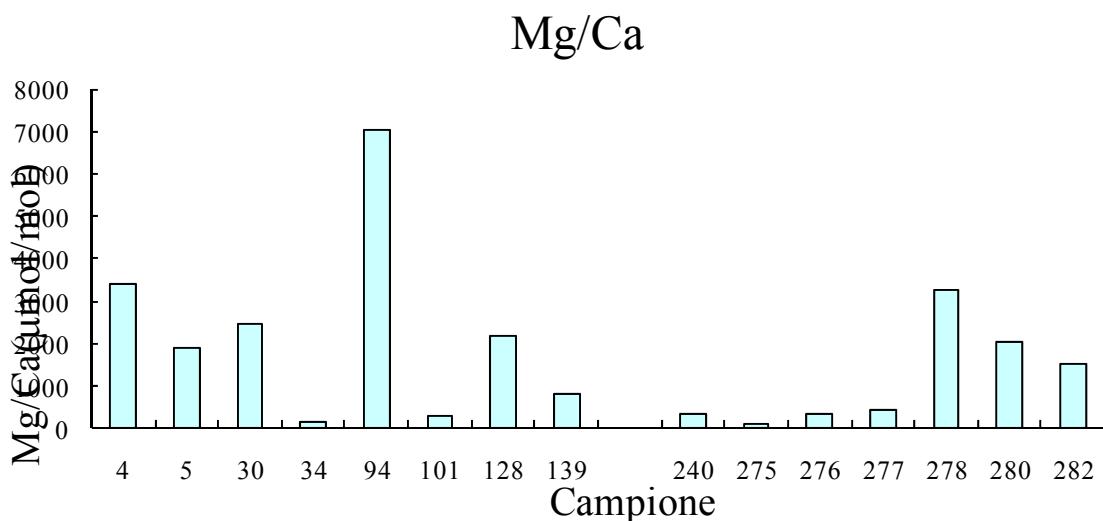


FIG 3.49 Rapporto Mg/Ca relativi alle larve

3.4. Analisi di elementi in traccia misurati tramite spot a $60 \mu\text{m}$ in LA-ICP-MS

Si desidera dedicare questo ultimo paragrafo ad un set di informazione preliminari relative alla distribuzione di una serie di elementi in traccia analizzati su un numero selezionato di campioni a disposizione (1A, 3A, 9F, 12F e 13F) e per spots di analisi di dimensioni di $60 \mu\text{m}$.

Si ritiene che tale dataset, rappresentando il primo del genere, possa essere di aiuto nel guidare studi più approfonditi per i diversi elementi investigati, soprattutto in termini di concentrazioni medie presenti per i diversi analiti nel carbonato degli otoliti di *T.thynnus*.

Sulla base dei valori determinati risulta evidente che una campionatura di maggior dettaglio, come quella utilizzata per la determinazione del Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca necessiti di ulteriori avanzamenti nelle tecnologie legate alla sensibilità analitica del Laser accoppiato ad ICP-MS.

Ovviamente tale conclusione emerge per lo specifico set di campioni analizzati non precludendo diverse interpretazioni per campioni di otoliti di specie differenti.

Nello specifico sono stati analizzati i valori di concentrazioni dei seguenti elementi: Sc, T, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Rb, Y, Zr, Nb, Mo, Cd, Cs e Pb.

I valori di concentrazione sono riportate dalla figura 3.5 alla 1.2 sono relative all'intero otolite (Allegato 2).

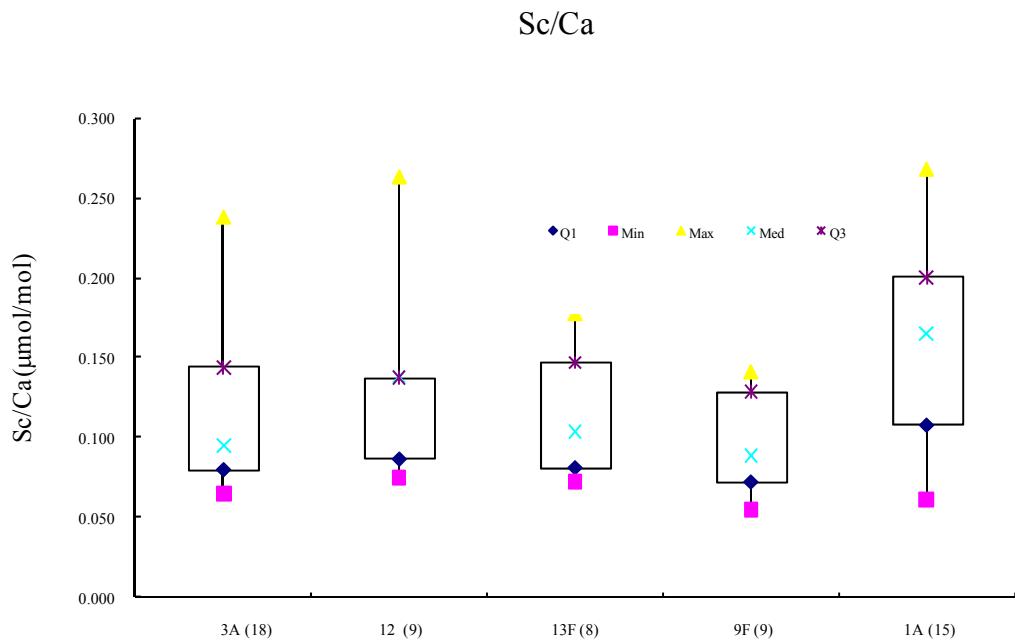


FIG 3.50. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Sc/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento). (q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%)

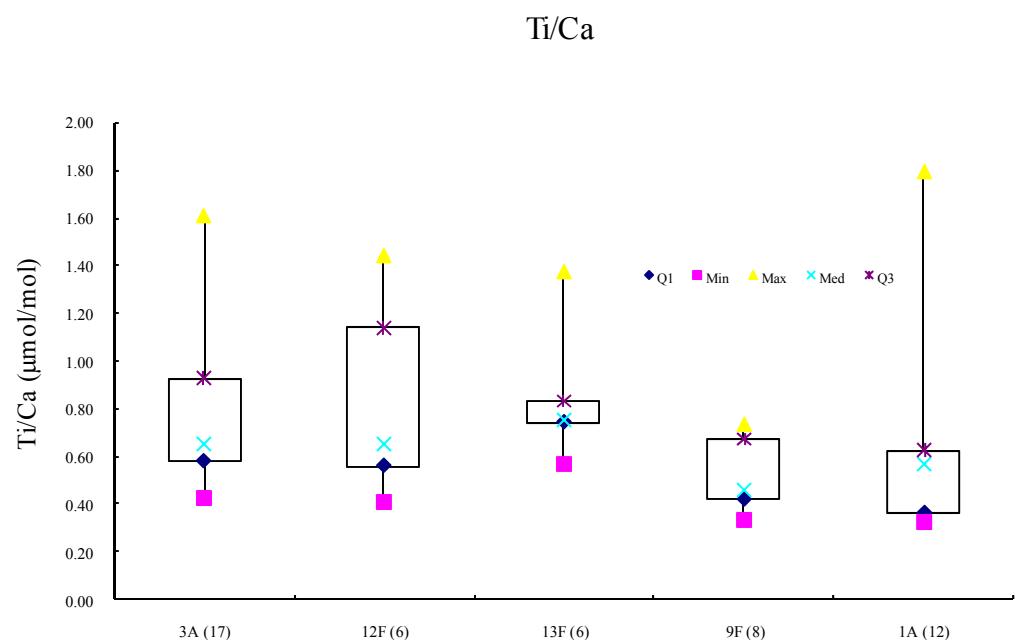


FIG 3.51. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ti/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento)).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

V/Ca

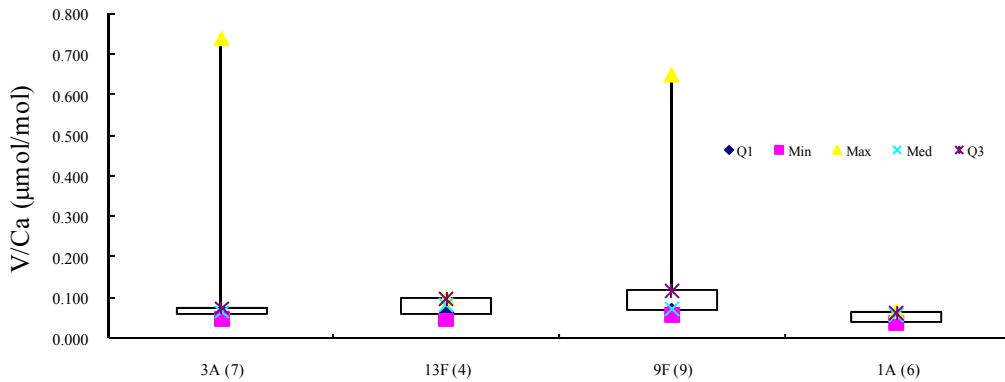


FIG 3.51. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di V/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Cr/Ca

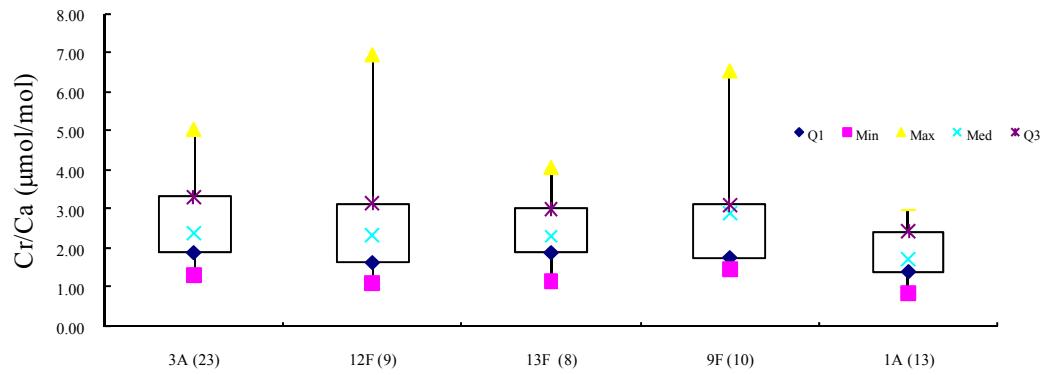


FIG 3.52. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Cr/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

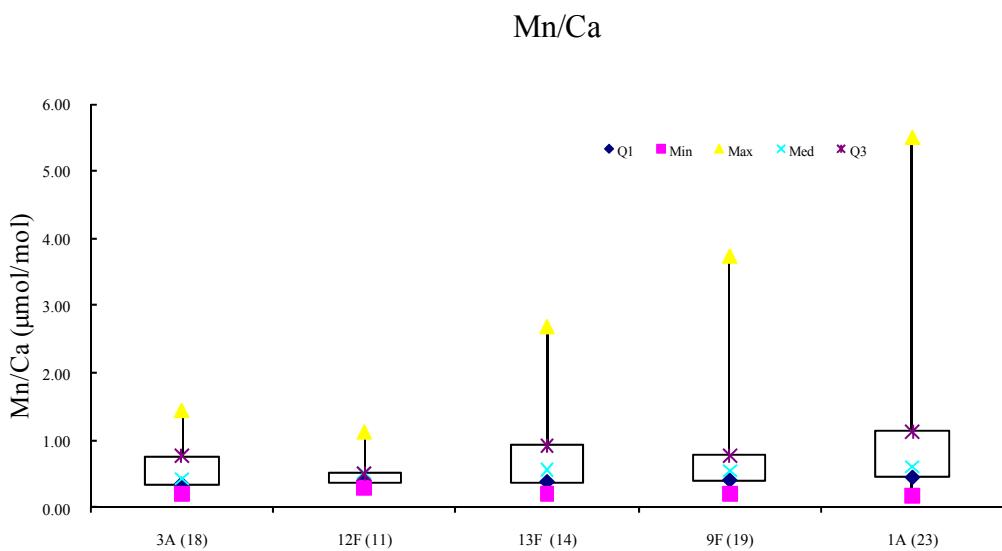


FIG 3.53. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Mn/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

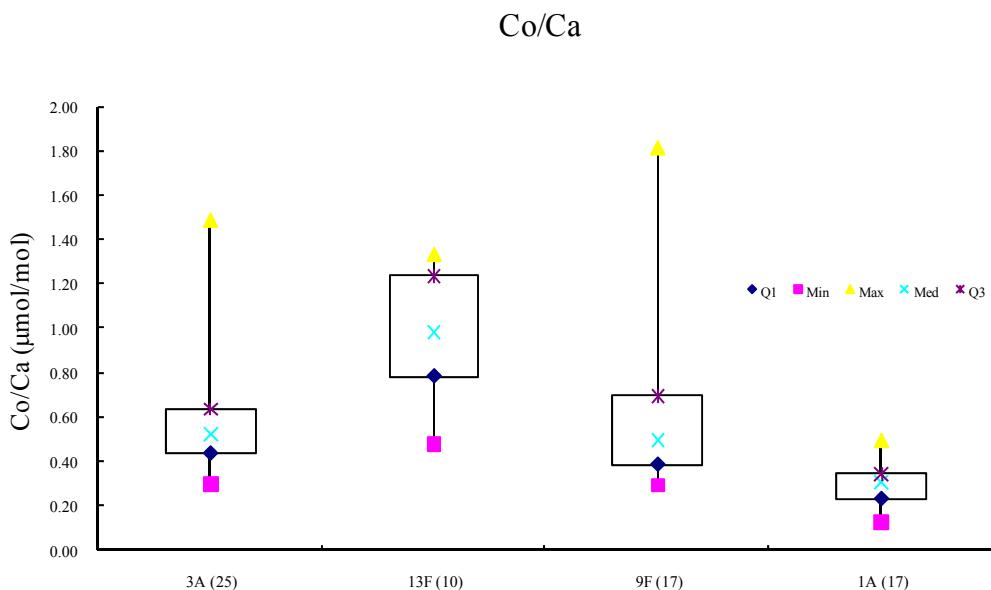


FIG 3.54 Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Co/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Ni/Ca

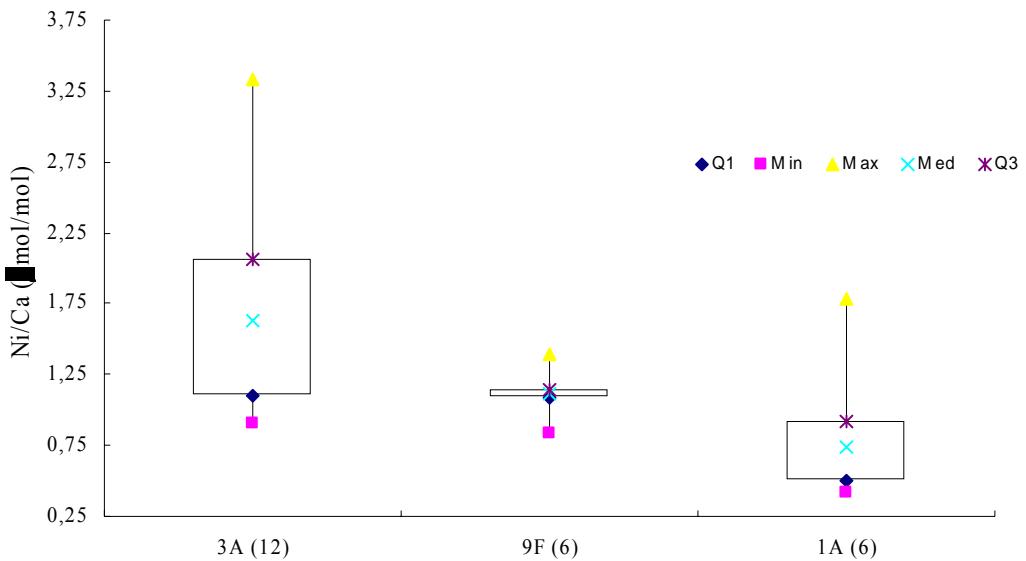


FIG 3.55. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ni/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Cu/Ca

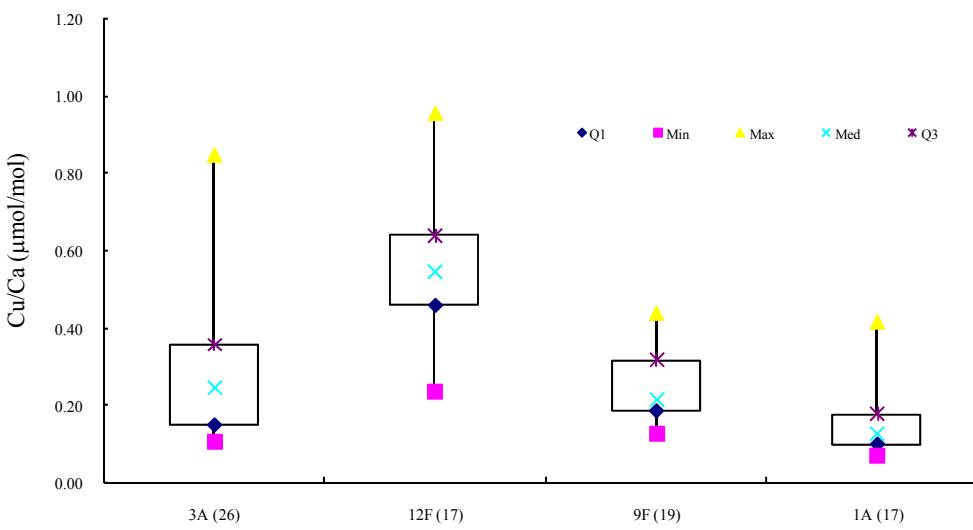


FIG 3.56. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Cu/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Zn/Ca

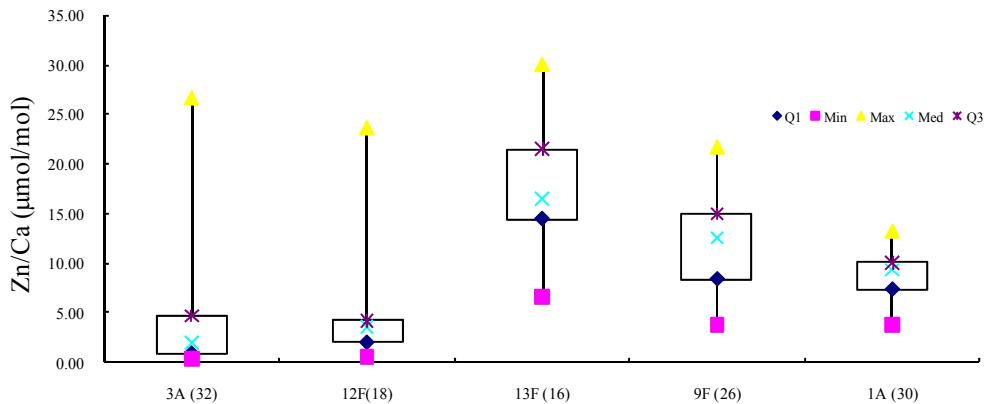


FIG 3.57 Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Zn/Ca Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Rb/Ca

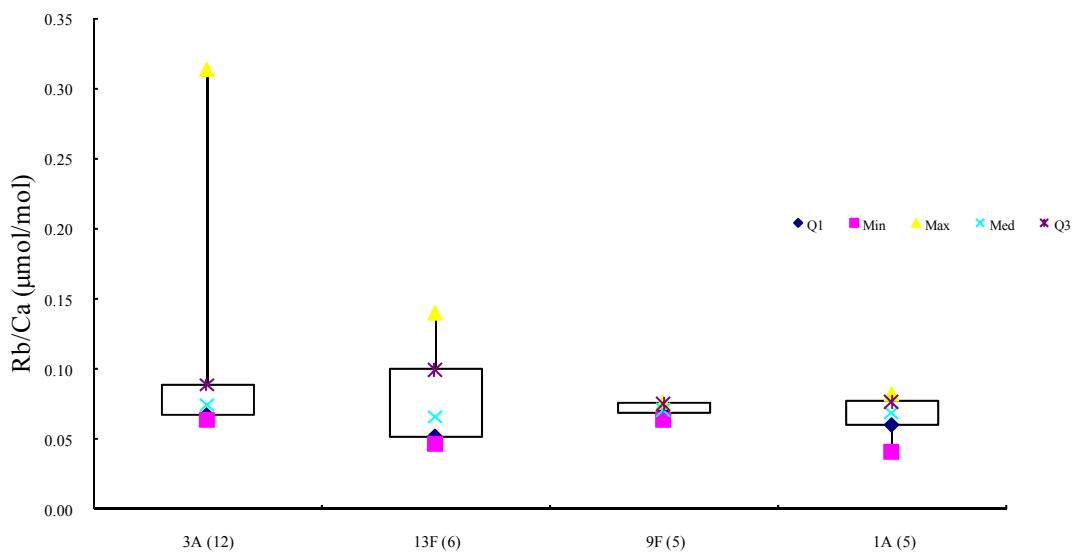


FIG 3.58 Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Rb/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Y/Ca

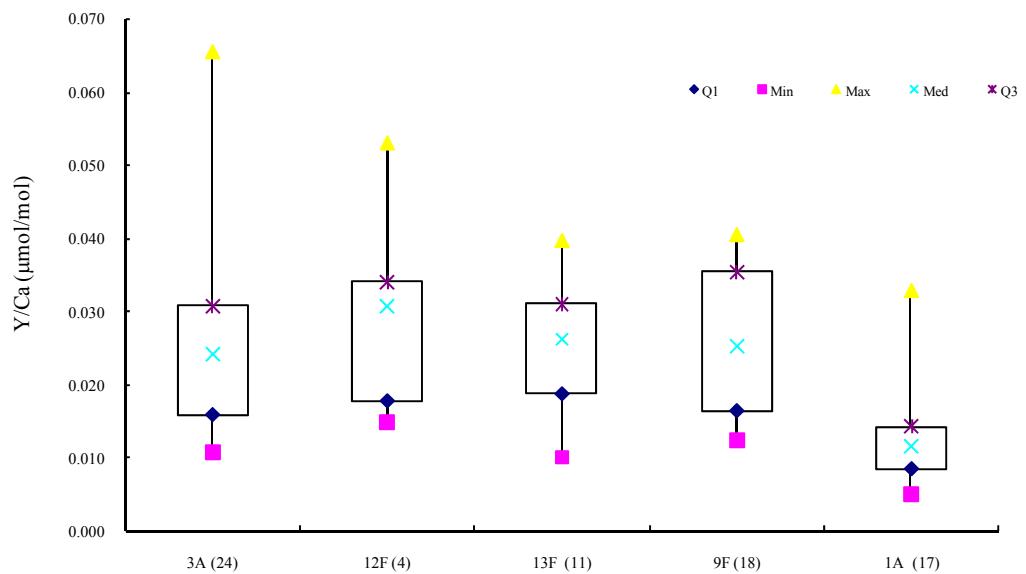


FIG 3.59. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Y/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Zr/Ca

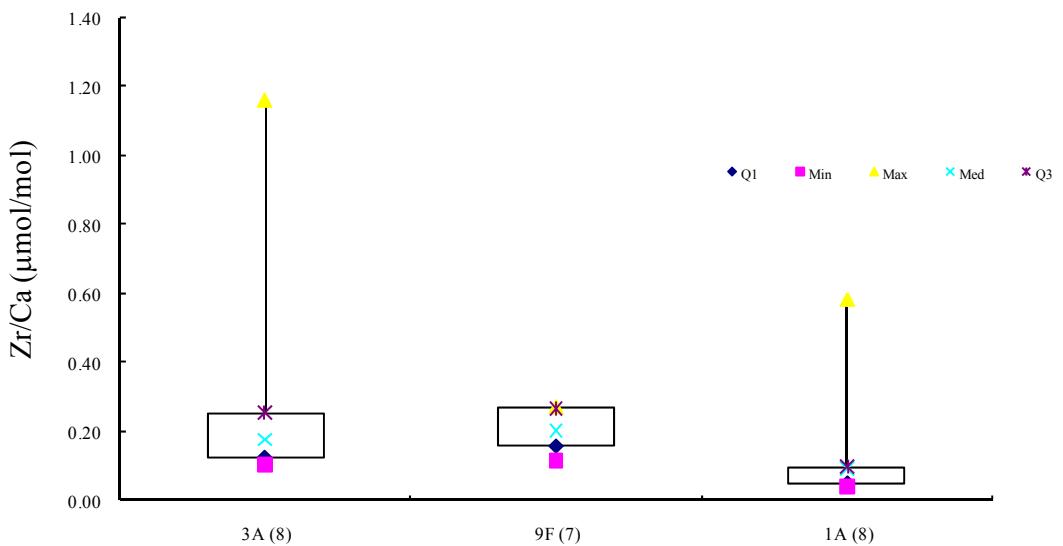


FIG 3.60. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Zr/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Nb/Ca

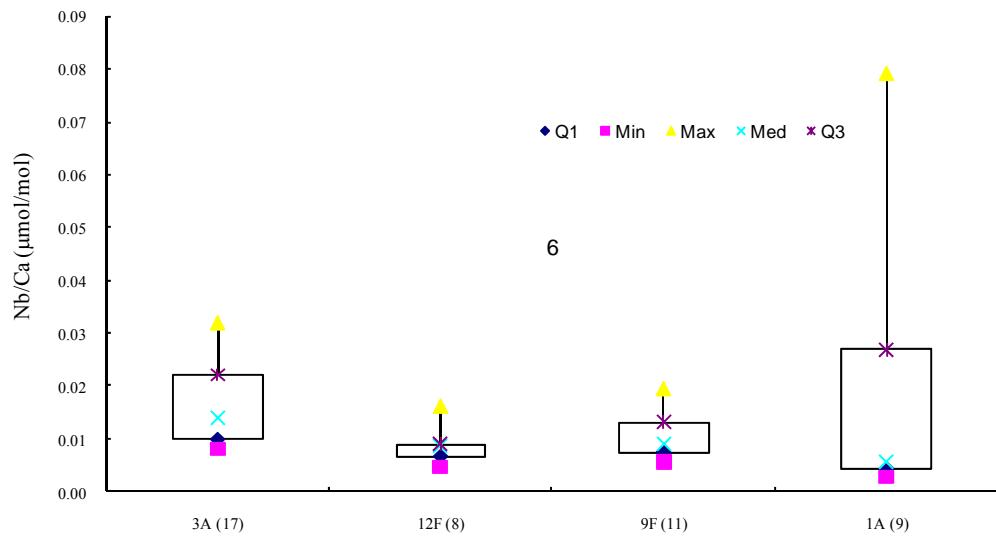


FIG 3.61 Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Nb/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

Mo/Ca

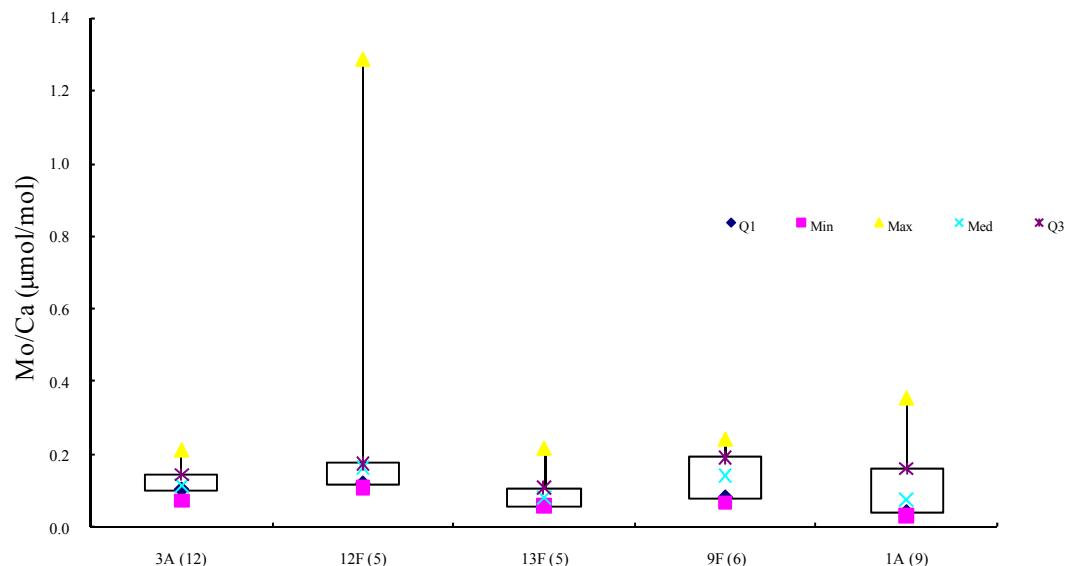


FIG 3.62. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Mo/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

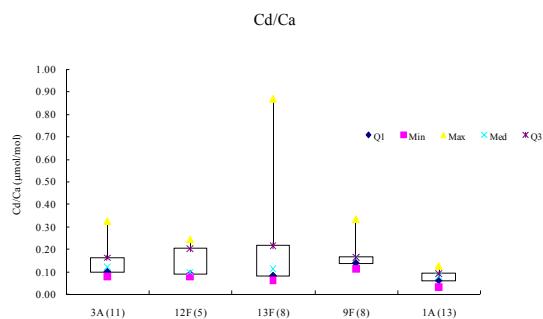


FIG 3.63. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Cd/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

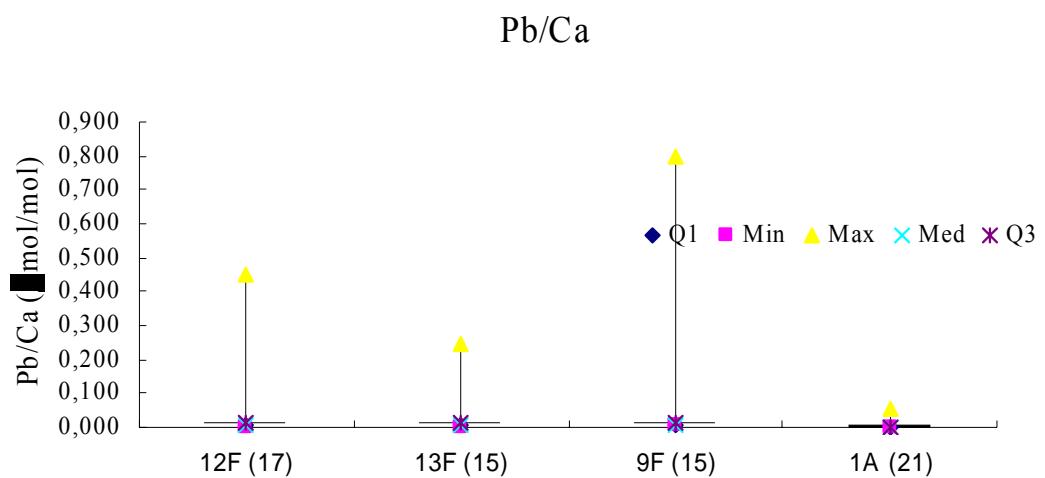


FIG 3.64 Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Pb/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

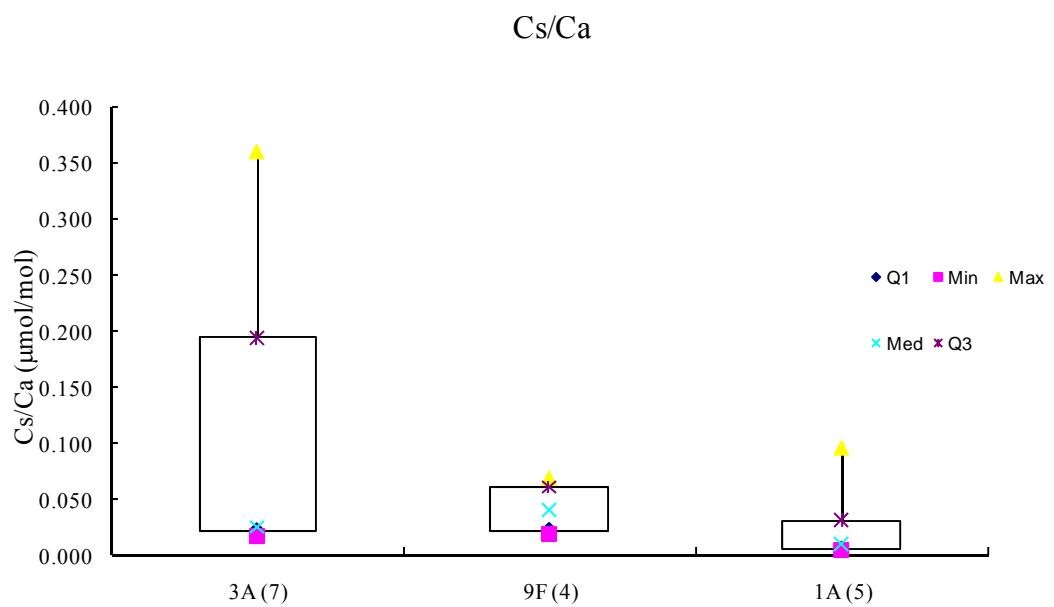


FIG 3.65 Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Cs/Ca (tra parentesi il numero di osservazioni in cui è stato rilevato elemento).).(q1:quartile al 25%;min: minimo;med: mediana; q3:quartile al 75%).

4.DISCUSSIONE

Il dataset acquisito nell’ambito del presente lavoro di ricerca permette di affrontare, con un approccio statistico robusto e appropriato alcuni dei temi di particolare interesse che riguardano il cosiddetto potenziale della “*signature chimica*” degli otoliti della specie *T.thynnus*, come strumento concettuale e sperimentale per indagini di stock discrimination di popolazioni con caratteristiche potenzialmente differenti (Thresher *et al.*, 1999; Campana, 1999).

Nello specifico, in questo capitolo si cercherà di rispondere alle seguenti domande:

- 1) è possibile, sulla base di una statistica adeguata e robusta, discriminare tra chimica delle bande di accrescimento stagionale (opache e ialine) per gli esemplari di *T.thynnus* analizzati?
- 2) è possibile, su base chimica, discriminare tra esemplari provenienti da area atlantica rispetto a organismi pescati in area mediterranea, ovvero, è possibile utilizzare la marcatura chimica degli otoliti di *T. thynnus* per esplorare potenziali origini diverse dei campioni prelevati?
- 3) sono evidenti differenze statisticamente significative nella marcatura chimica degli otoliti analizzati, utili per esplorare tratti del comportamento di *T. thynnus* attualmente poco noti?

Le risposte a tali quesiti ambiziosi si basano certamente sul dataset acquisito ma anche su un ristretto, ma concettualmente significativo, numero di assunzioni che emergono dalla letteratura disponibile e che permettono di approcciare l’interpretazione del dataset su base semi-quantitativa.

Nello specifico, la prima assunzione alla base delle interpretazioni dei dati proposte riguarda il fatto che vi sia una proporzionalità diretta tra composizione chimica dell’acqua di mare all’interno del quale gli individui sono vissuti e la composizione chimica del carbonato degli otoliti.

Nel capitolo dell’Introduzione è stata ampiamente discussa la complessità legata a tale assunzione, ma anche la disponibilità di un ampio spettro di esperimenti in microcosmo (Kalish, 1989; Arai *et al.*, 1995, 1996, Fowler *et al.*, 1995; Limburg 1996; Townsend *et al.*, 1995; Radtke *et al.*, 1990, Sadovy *et al.*, 1992) e ambiente naturale (Secor *et al.*, 1995; Gallahar & Kingsford 1996; Tzeng 1996; Mugiyama *et al.*, 1995) che sostanzialmente dimostrano tale proporzionalità (ovviamente mediata da un controllo di

parametri chimico-fisico quali T, S etc.) soprattutto per lo Sr e il Ba. Tali elementi sembrano, come vicarianti del Ca⁺⁺ nella struttura aragonitica degli otoliti, potenziali marcatori della chimica dell’acqua di mare. Non è scopo di questo lavoro di tesi esplorare tale ambito di ricerca e si rimanda pertanto alla letteratura specializzata e citata nel testo per ulteriori approfondimenti.

Ancora più specificatamente, i lavori di Campana (1999) e Bath, *et al.*, (2000) chiaramente suggeriscono che soprattutto il Ba nel carbonato degli otoliti, e in minor misura lo Sr, sembrano riflettere la chimica delle masse d’acqua all’interno delle quali vivono gli organismi. Rimangono ovviamente ancora da esplorare con maggiore profondità gli effetti di “competizione” ottica tra Sr e Ba nel processo di incorporazione all’interno del carbonato degli otoliti (Melita, 2005; Pingitore, 2006) ma nella sostanza tale processo sembra trascurabile rispetto alla reale proporzionalità diretta, in termini di concentrazioni tra acqua di mare e carbonato dell’otolite.

Una seconda assunzione che sta alla base del processo di interpretazione del dataset raccolto riguarda la kinetica di incorporazione degli elementi analizzati. Il sistema di campionamento impiegato non permette di poter analizzare variazioni giornaliere nella dinamica di spostamento degli organismi. La dimensione dello spot infatti è tale (25 μ m) da investigare intervalli di tempo che variano da 15 giorni (core) a 6 mesi (anelli esterni). Questo limita la possibilità di utilizzare la chimica degli otoliti per lo studio della biologia di *T.thynnus* escludendo a priori la possibilità di esplorare l’alta frequenza nei movimenti sia orizzontali che verticali, che hanno evidenziato i lavori di Block *et al.*, (2001; 2005). I valori di concentrazioni di diversi elementi e il relativo rapporto con il Ca rappresentano pertanto medie di ampi intervalli temporali che sono frazioni di tempo più o meno in relazione alla distanza dal core all’otolite.

*4.1 E’ possibile, sulla base di una statistica adeguata e robusta, discriminare tra chimica delle bande di accrescimento stagionale (opache e ialine) per gli esemplari di *T.thynnus* analizzati?*

Al fine di verificare la potenziale dissomiglianza chimica tra bande ialine e opache dello stesso anno è stato eseguito per ognuno dei rapporti considerati il Mann-Whitney U Test ($p < 0,05$). Si è scelto di “filtrare” le bande in base al numero di osservazioni in modo tale da ottenere un confronto statistico più robusto, essendo evidente una certa variabilità interna alle singole bande stesse.

Si è deciso di utilizzare le sole bande con un numero di osservazioni maggiore o uguale a sei, scegliendo tale limite in modo da mediare tra necessità di mantenere un congruo numero di confronti tra la banda ialina e opaca appartenenti allo stesso anno e necessità di ottenere una sufficiente caratterizzazione della banda stessa.

I risultati ottenuti per tutti i campioni disponibili e per i diversi analiti (Sr e Ba) sono riportati in Tab 4.1.

	Campione	Anno	Ba/Ca	Sr/Ca	N.oss. per bande I-O
1	1A	1997	no	Si	22-14
2		1998	no	no	6-9
3		2000	no	Ob>6	10-10
4		2003	no	no	10-11
5	3A	1991	no	no	6-8
6	12F	1999	no	Si	11-11
7	13F	1998	no	Si	10-6
8		1999	no	no	9-6
9	22F	1997	Si	no	15-7
10		1998	no	Si	8-11
11		2000	no	Si	12-16
12		2001	no	no	12-9
13		2002	no	no	13-10
14		2003	no	no	11-13
15		2004	Ob>6	no	12-8
16	62F	2003	no	no	17-12
17		2004	Si	no	14-13
18	1D	1994	no	no	6-13
19		1995	no	Si	8-6
20	4D	2003	no	Si	9-9
21		2003	Ob>6	no	6-6
22		2005	Ob>6	no	6-6
			2/19	7/21	

TAB 4.1. Dati relativi al test effettuato per verificare eventuali similitudini fra le bande

Come è possibile osservare, per il Ba/Ca risultano significativi soli due confronti su 19, mentre per lo Sr/Ca, ne risultano significativi sette su ventuno. Sinteticamente è possibile quindi stabilire che mediamente per i tre analiti nell'80% dei casi non è possibile discriminare tra marcatura chimica delle 2 bande, suggerendo diverse interpretazioni. La più ovvia è che la dinamica delle popolazioni di *T.thynnus* è tale da

non permettere su base chimica la distinzione di ambienti diversi all'interno dei quali l'organismo vive durante l'anno.

I dati di Block *et al.*, (2001; 2005) mostrano chiaramente un altissima dinamicità per questi organismi che ovviamente rende assai difficile una marcatura chimica chiara. E' pertanto evidente che non risulta possibile scendere al di sotto della scala annuale nella ricerca della dinamica di popolazioni di *T. thynnus* su base di marcature chimica degli otoliti basata sulla tipologia di campionamento adottato in questo lavoro di ricerca.

Rimane comunque evidente che l'ampio spread di variabilità dei rapporti Me/Ca analizzati siano da imputare proprio all'elevata capacità migratoria di tali organismi.

Infine, l'insieme dei risultati disponibili, chiaramente dimostra l'utilità ma soprattutto la necessità di lavorare con ampi numeri di punti (punti di campionamento) per singola banda di accrescimento al fine di identificare opportunamente la corretta "mediana" chimica del periodo di interesse. Risulta pertanto poco affidabile e concettualmente errato un approccio analitico eseguito con singoli punti per banda di accrescimento. Tale approccio potrebbe essere fortemente influenzato dall'ampia variabilità interna delle bande.

4.2 “Chemical signature” e “Stock discrimination” per la specie *T.thynnus*

La seconda domanda a cui si vuole rispondere con il dataset acquisito è relativa alla possibilità di discriminare, sulla base della marcatura chimica di un numero discreto e selezionato di elementi potenziali vicarianti del Ca, nella struttura aragonitica degli otoliti, ambienti e stock di appartenenza di esemplari diversi nella specie *T.thynnus*.

I rapporti Ba/Ca e Sr/Ca che, sulla base della letteratura disponibile, sembrano più controllati in termini di concentrazioni all'interno del carbonato degli otoliti, della chimica della massa d'acqua piuttosto che da fattori chimico-fisici quali S e T.

Come chiaramente evidente già dalle Fig.4.1 e 4.2, in cui la statistica di base per i rapporti Ba/Ca e Sr/Ca dei diversi otoliti è riportata, la differenza tra gli esemplari pescati in area mediterranea rispetto a quelli pescati nel Golfo del Messico non risulta chiara. Ciononostante gli esemplari mediterranei mostrano sostanzialmente valori delle mediane per Ba/Ca e Sr/Ca superiori agli esemplari pescati in area atlantica.

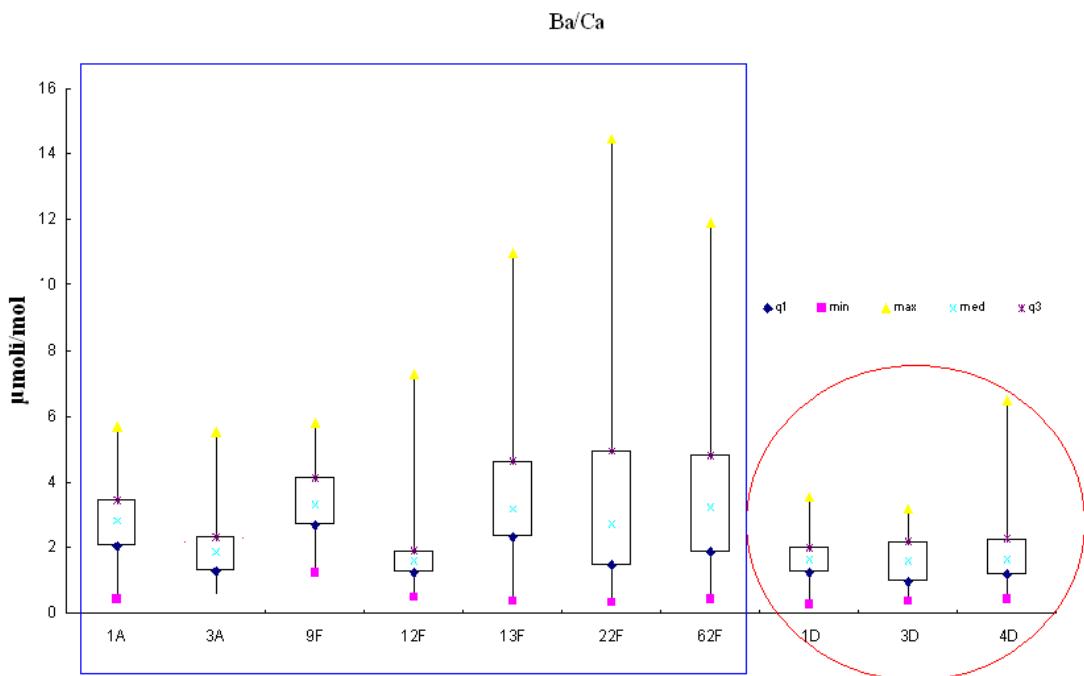


FIG 4.1 Box plot relativi al rapporto Ba/Ca per gli esemplari studiati. I valori riportati sono stati stimati considerando tutti gli spot effettuati per ogni singolo esemplare (in rosso i campioni atlantici, in blu i mediterranei). (q1:quartile al 25%; min: minimo; med: mediana; q3:quartile al 75%).

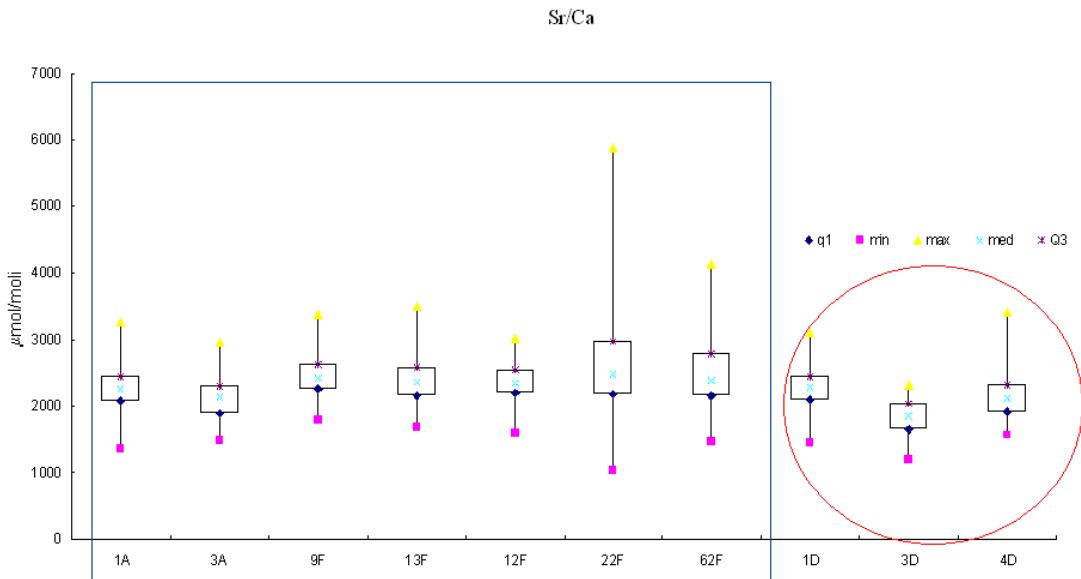


FIG 4.2. Box plot relativi al rapporto Ba/Ca per gli esemplari studiati. I valori riportati sono stati stimati considerando tutti gli spot effettuati per ogni singolo esemplare (in rosso i campioni atlantici, in blu i mediterranei). (q1:quartile al 25%; min: minimo; med: mediana; q3:quartile al 75%).

Al fine di verificare se sia possibile distinguere una “fase Atlantica” da una “fase Mediterranea” si è dovuto individuare in primo luogo un discriminante numerico che potesse permettere di separare le bande appartenenti all’una o all’altra area.

A tale scopo sono stati utilizzati i tre individui catturati in Atlantico, che a differenza degli altri presentano, in termini del rapporto Ba/Ca, valori compresi in un

range piuttosto ristretto, indicativo della permanenza di tali individui in un ambiente omogeneo (Fig 4.3).

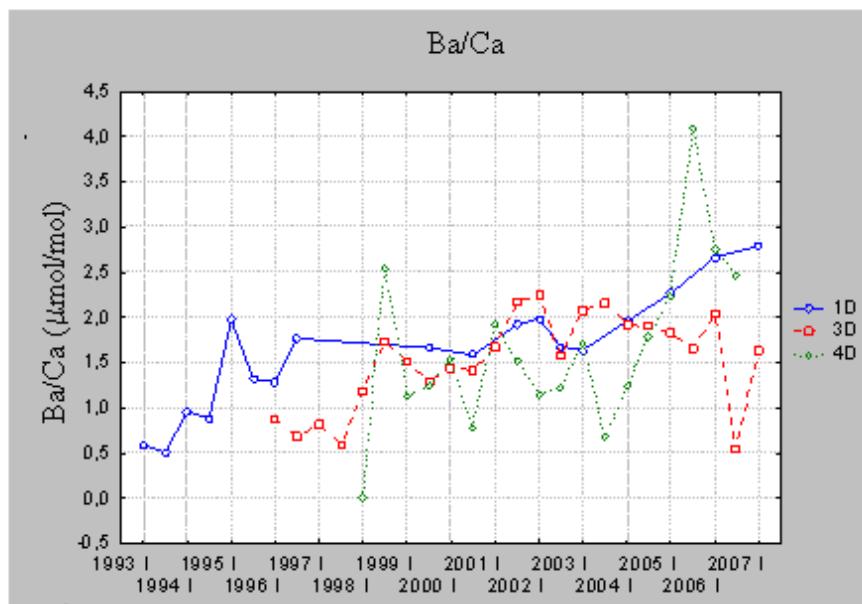


FIG 4.3. Dati relativi all'andamento mediano del rapporto Ba/Ca dei campioni atlantici.

In Figura 4.4 sono invece riportati gli andamenti dei rapporti Ba/Ca per gli individui Mediterranei, i cui valori presentano una maggiore variabilità e certamente valori molto superiori.

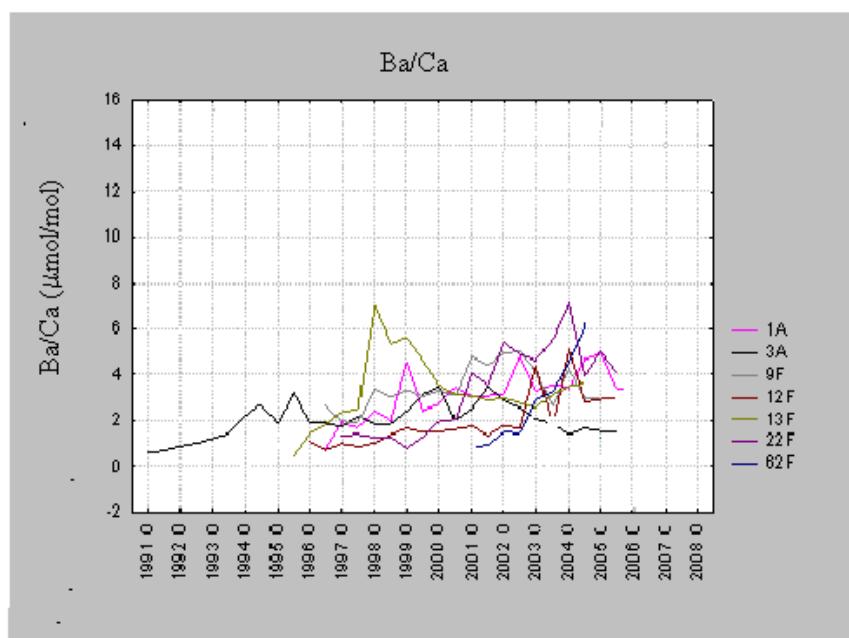


FIG 4.4. Dati relativi all'andamento mediano del rapporto Ba/Ca dei campioni catturati nel bacino Mediterraneo

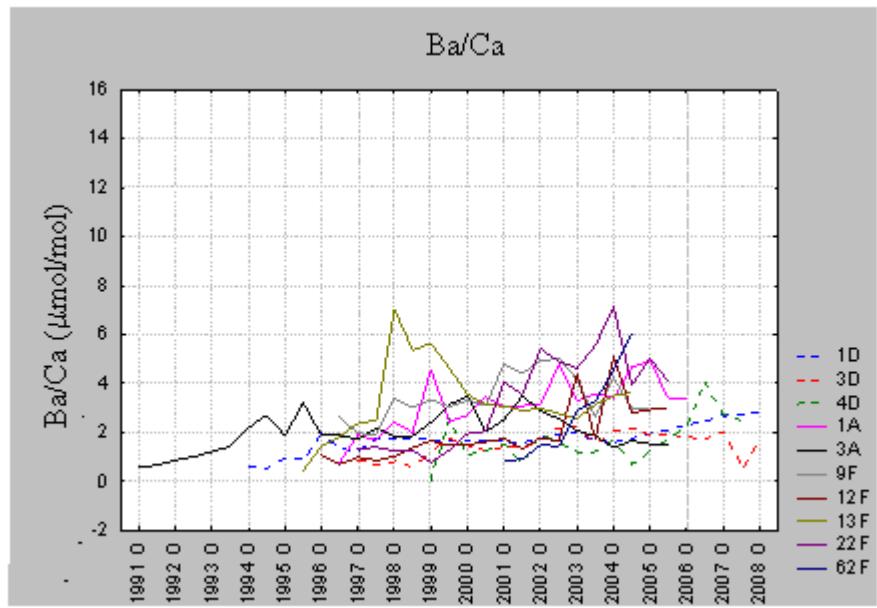


FIG 4.5. Dati relativi all'andamento mediano dei campioni analizzati, atlantici e mediterranei

In primo luogo si è verificato che i tre individui Atlantici non mostrassero differenze significative nel rapporto Ba/Ca attraverso un test ANOVA sui Ranghi. Tale approccio ha permesso di rafforzare l'ipotesi che i tre individui hanno avuto la stessa "storia". Il test mostra infatti, che non esistono differenze significative tra i tre individui ($P < 0,05$).

Un secondo test viene condotto inserendo come elemento di controllo uno degli individui mediterranei (esemplare 1A), al fine verificare se tutti e tre gli individui presentassero una differenza significativa con il controllo. L'ANOVA sui ranghi mostra che effettivamente ognuno degli individui atlantici è significativamente differente ($p < 0,05$) da quello mediterraneo. A seguito di tale risultato è stato possibile procedere all'identificazione del range di valori caratteristico dell'ambiente Atlantico. A tale scopo, sono state considerate tutte le singole bande di ogni individuo calcolando per ognuna di essa la mediana e la rispettiva deviazione assoluta dalla mediana. In seguito, per ogni banda di ciascun individuo è stata calcolata la mediana della mediana e la mediana degli scarti assoluti dalla stessa (mediana).

Lo scarto assoluto dalla mediana (MAD: *median absolute deviation*), può essere considerato una misura di dispersione e viene utilizzato anche come discriminante per la rimozione degli outliers. In quest'ultimo caso vengono eliminati, dalla serie numerica considerata, tutti i valori che non rientrano nell'intervallo risultante dalla somma/sottrazione al valore mediano, del MAD moltiplicato per un fattore k . Come

valore del fattore k si utilizza generalmente tre o quattro, e dalla sua scelta dipende “l’intensità” del filtro che verrà applicato. Concettualmente tale procedura è paragonabile al taglio delle code di una distribuzione gaussiana utilizzando 2σ , anche se il suo significato statistico è profondamente diverso.

La mediana dei tre valori risultati rappresenterà quindi la mediana degli individui atlantici e la loro deviazione dalla mediana, tale che considereremo bande formatesi in atlantico tutte quelle i cui valori di Ba/Ca rientrano nel range mediana \pm (3*mad).

Il range per i rapporti Ba/Ca nelle bande formatesi in atlantico è riportato in Fig.4.2.

In base a tale risultato è stato possibile identificare le fasi mediterranee ed atlantiche di tutti gli individui catturati in Mediterraneo.

La procedura precedentemente descritta è stata applicata anche alle bande relative agli individui mediterranei ottenendo il range di valori tipico delle bande formatesi in Mediterraneo (1,93- 4,81).

	Mediana \pm 3* Mad	Mediana \pm 3* Mad
Range Atlantico (Ba/Ca)	0,76	2,49
Range Mediterraneo (Ba/Ca)	1,93	4,81

TAB. 4.2 Valori relativi al range Atlantico e Mediterraneo

I risultati ottenuti riflettono il fatto che la variabilità del rapporto Ba/Ca in ambiente atlantico è minore di quella in ambiente mediterraneo, peraltro in accordo con i dati oceanografici presenti in bibliografia (Lea *et al.*, 1990).

Viene valutato a questo punto se le bande identificate come atlantiche negli individui mediterranei siano uguali al gruppo di controllo Atlantico. Sono state anche in questo caso utilizzate le sole bande aventi un congruo numero di osservazioni, il limite viene inoltre posto a 10 osservazioni, al fine di ottenere risultati non influenzati dalla variabilità interna delle bande.

Un’ANOVA sui ranghi effettuata unendo per ognuno degli individui le bande con “marcatura” Atlantica e utilizzando come gruppo di controllo i tre individui Atlantici mostra che non esistono differenze significative (Fig.4.6), eccetto che per le fasi Atlantiche degli individui 13F e 62F ($p<0,05$), per i quali però si dispone di un’unica banda Atlantica utile (osservazioni >10).

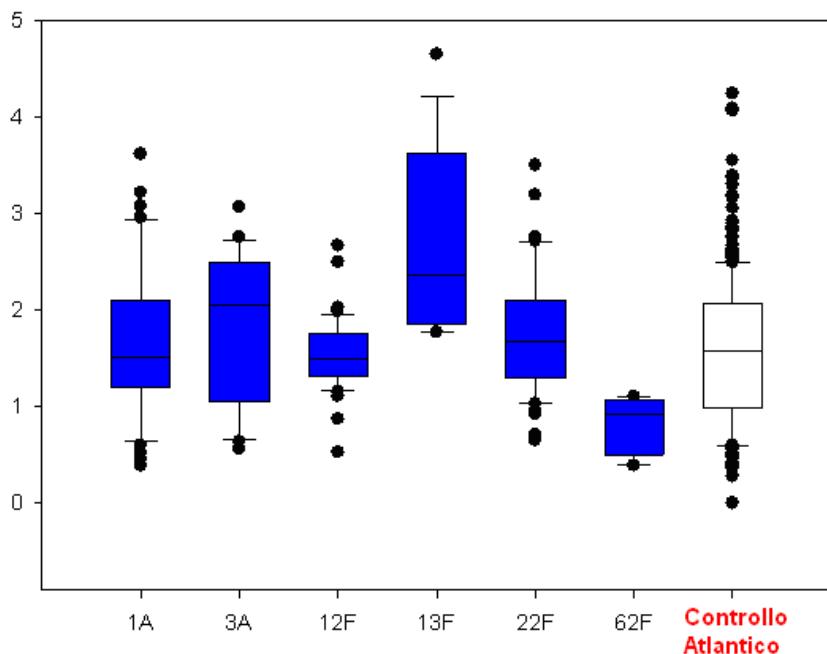


FIG 4.6. Dati relativi alla valutazione della somiglianza della fase Atlantica degli individui mediterranei.

E' stata valutata la significatività delle differenze tra bande atlantiche e mediterranee seguendo la stessa metodica.

Il test effettuato per gli individui 1A, 22F e 62 F (unici di cui si dispone un numero di bande utili) ha riscontrato l'esistenza di una differenza significativa tra individui atlantici e mediterranei. Anche in questo caso, si è usato come elemento di controllo il dataset totale di tutti gli individui atlantici partendo dal presupposto che quest'ultimi non presentavano differenze significative (Fig. 4.6).

Inoltre, un'osservazione più attenta del dataset relativo alla distribuzione di Ba/Ca negli otoliti degli organismi pescati in area mediterranea ha permesso di evidenziare "potenziali fasi" diverse durante l'intero periodo di vita degli organismi. In effetti, assumendo il valore della mediana delle mediane dei rapporti Ba/Ca misurati negli organismi "atlantici" come il valore di riferimento oceanico, è stato possibile discriminare all'interno dei segnali Ba/Ca degli organismi mediterranei fasi con marcatura chimica più prettamente atlantica.

E' pertanto possibile, per ogni esemplare "mediterraneo", identificare periodi di permanenza in acqua atlantica e periodi di permanenza mediterranea.

Un esempio di tale risultato è evidente nella Fig. Fig 4.8 dove con "Med" ed "Atl" vengono indicati rispettivamente periodi a più stretta caratteristica chimica mediterranea e atlantica.

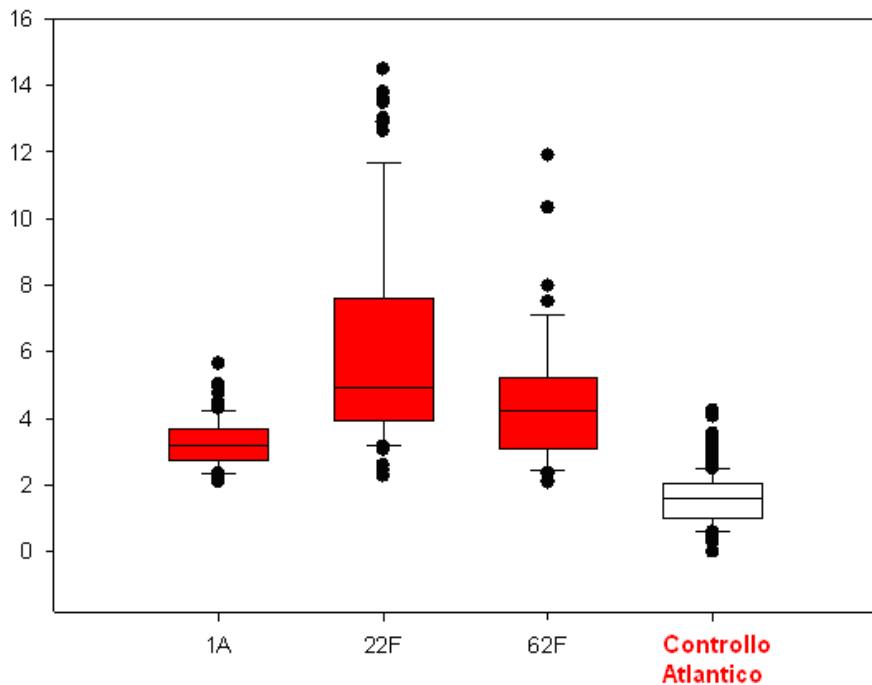


FIG 4.7. Dati relativi al test effettuato sugli individui mediterranei al fine di verificare la somiglianza fra la fase atlantica e mediterranea.

L'analisi della figura mette in evidenza che gli esemplari studiati, pur avendo avuto delle fasi comuni, non si siano spostati sempre contemporaneamente tra l'area atlantica ed il bacino mediterraneo.

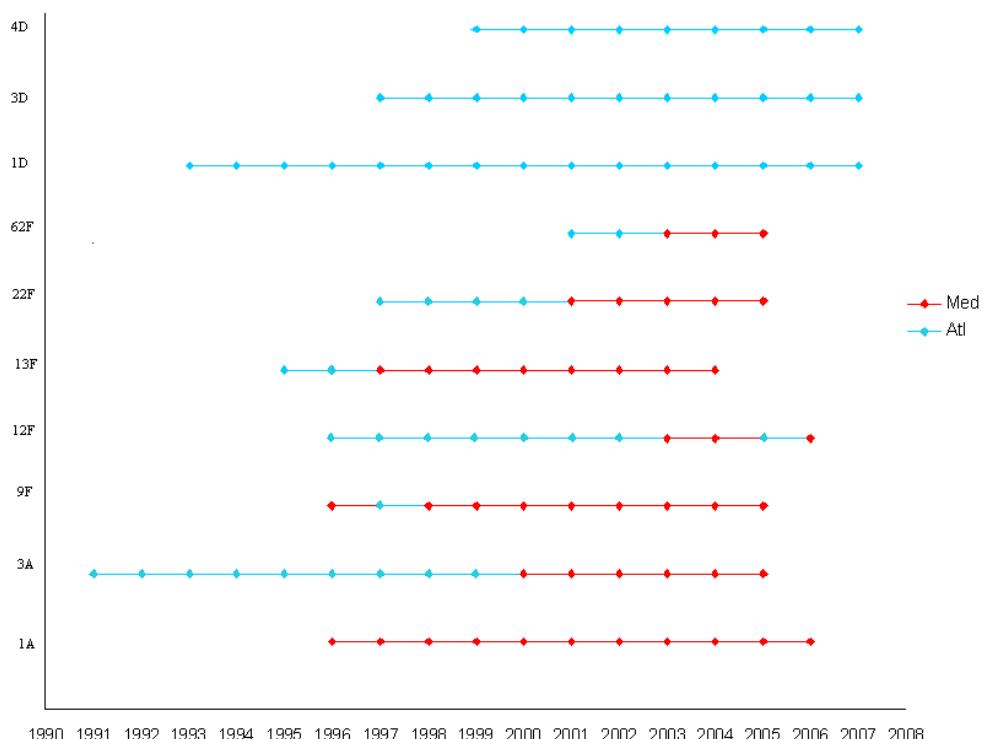


FIG 4.7. Dati relativi alla capacità discriminativa fra individui atlantici e mediterranei del rapporto Ba/Ca.

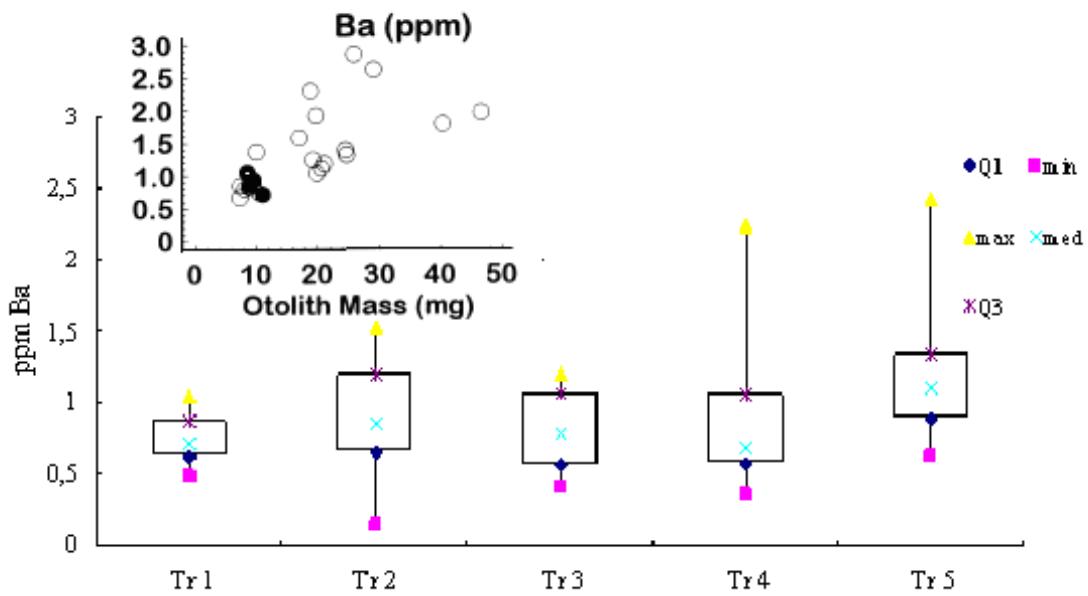


FIG 4.8. Dati relativi alle concentrazioni di Ba degli individui di età compresa fra zero ed un anno paragonati ai dati di Secor *et al.*, (1998). (q1:quartile al 25%;min: minimo; med: mediana; q3:quartile al 75%) (I cerchietti pieni corrispondono alle concentrazioni nell'oceano Pacifico, quelli vuoti quelle del bacino Mediterraneo).

Sulla base di tale schema interpretativo i risultati relativi ai rapporti Ba/Ca e Sr/Ca (Fig.4.8- 4.9) degli otoliti di 1 anno di età (Tr1-Tr5) catturati nell'area del basso Tirreno, collimano con la bibliografia, mostrando una marcatura della suddetta area (Secor *et al.*, 1988).

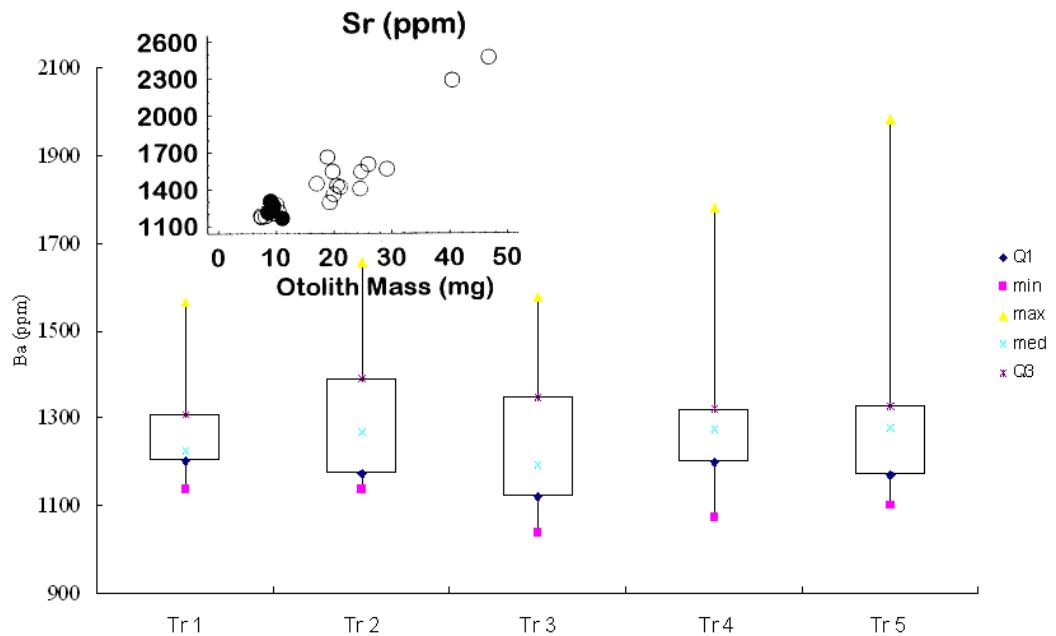


FIG 4.8. Dati relativi alle concentrazioni di Sr degli individui di età compresa fra zero ed un anno paragonati ai dati di Secor *et al.*, (1998). (q1:quartile al 25%;min: minimo; med: mediana; q3:quartile al 75%) (cerchietti pieni corrispondono alle concentrazioni nell'oceano Pacifico, quelli vuoti quelle del bacino Mediterraneo).

Ed ancora, i dati relativi ai campioni di larve (Fig. 4.9) con elevatissimi valori di Ba/Ca dimostrerebbero che l'area di origine degli organismi campionato sia spiccatamente mediterranea. Rimangono comunque da chiarire i meccanismi che producono tali elevati valori nei rapporti Ba/Ca proprio nei campioni di larve. Ulteriori ricerche potranno fornire spiegazioni in merito.

Rimane infine da sottolineare che il dataset relativo ai campioni di larve è il primo a disponibile e rappresenta pertanto un importante riferimento per future ricerche sul campo.

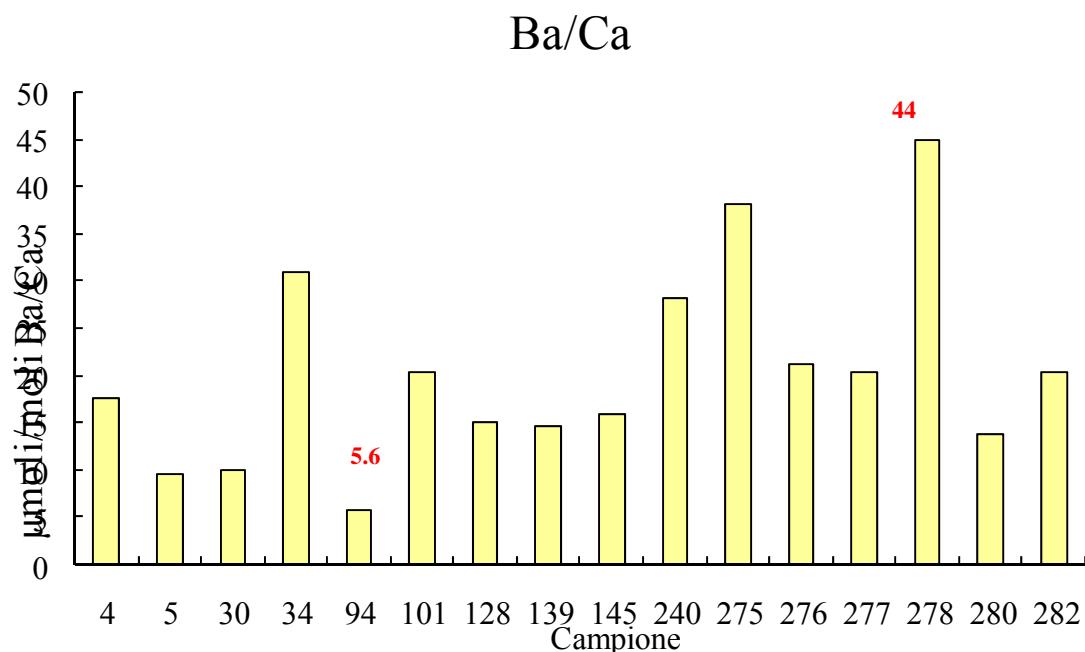


FIG 4.9. Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba delle larve.

Sfortunatamente non sono disponibili dati sperimentali relativi ai coefficienti di distribuzione nel carbonato degli otoliti di *T.thynnus* per gli elementi analizzati.

Non è pertanto possibile verificare, sulla base di tale parametro, la reale concentrazione di Mg, Sr, Ba in acqua a partire dal dato di concentrazione nel carbonato.

Rimane comunque ancora una volta da sottolineare che le comparazioni tra i valori di concentrazione dei diversi elementi ricadono nel range di variabilità riportate da Secor *et al.*, (1998) per il Mediterraneo e per l'oceano globale.

D’altro canto l’ampio range di variabilità mischiato nei diversi strati soprattutto per il Ba suggerisce rapporti non lineari tra concentrazioni nel mezzo acquoso e nel carbonato soprattutto per quanto riguarda la variabilità dell’elemento ai valori più elevati di contenuto.

La possibilità di combinare dati relativi ai rapporti Ba/Ca e Sr/Ca tra i 2 parametri marcatori di masse d’acqua è stata esplorata tramite l’analisi di correlazioni per i diversi campioni.

Il valore dell’indice di correlazione superiore generalmente inferiore a 0,4 ed esclude in prima istanza una risposta sincrona di Ba e Sr al variare del chimismo dell’acqua di mare.

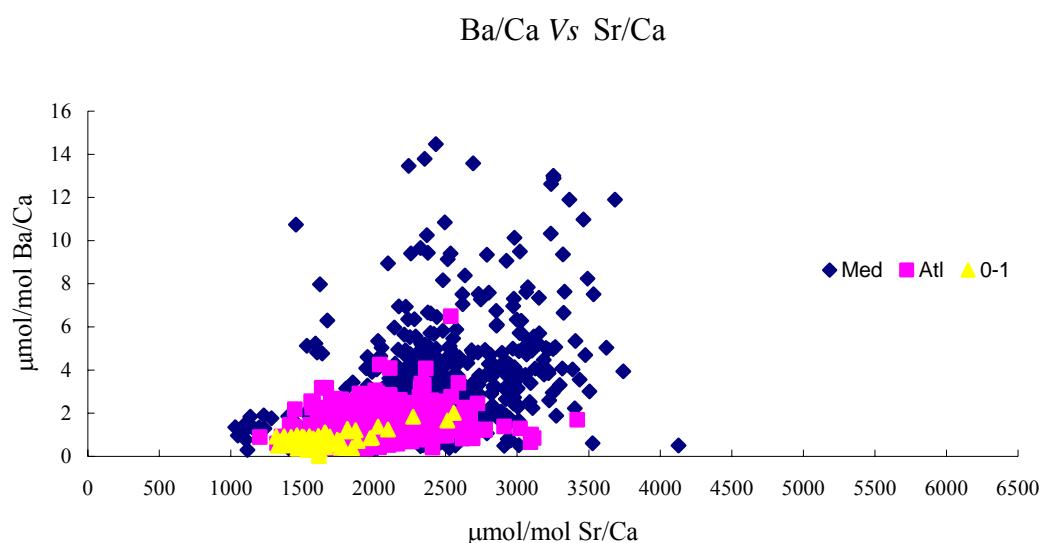


FIG 4.10. Scatter plot relativo ai campioni analizzati.

Pur consapevoli che una più approfondita indagine sia necessaria per definire tale problema, riteniamo che i rapporti Sr/Ca, come chiaramente riportati in letteratura (Kalish 1989; Arai *et al.*, 1995, 1996; Hoff & Fuiman 1995; Limburg 1996; Townsend *et al.*, 1989; 1992, 1995; Radtke *et al.* 1990; Sadovy & Severin 1992, Gallahar & Kingsford 1996, Tzeng 1996) siano probabilmente influenzati da un ampio numero di parametri chimico-fisici della massa d’acqua (T, S, etc.) che non permettono una diretta trasformazione dei valori di concentrazione in termini di chimismo dello Sr del carbonato in quelli dell’acqua di mare. Sulla base di tale considerazione si ritiene che i rapporti Ba/Ca rappresentino davvero il più efficiente parametro per la determinazione di masse d’acqua sulla base del chimismo del carbonato degli otoliti. Nel grafico 4.10 viene lo scatter plot per i rapporti Ba/Ca e Sr/Ca per tutti gli individui analizzati.

5. CONCLUSIONI

I risultati ottenuti dall’analisi delle concentrazioni isotopiche di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca all’interno delle bande di accrescimento degli otoliti di *Thunnus thynnus*, hanno evidenziato la potenzialità di questo approccio metodologico, assolutamente innovativo, allo studio delle migrazioni compiute da *Thunnus thynnus* fra il bacino Mediterraneo e il Golfo del Messico.

I seguenti punti sintetizzano i risultati ottenuti da questa ricerca:

- la metodica di analisi messa a punto ha utilizzato uno strumento geochimico, quale lo studio delle concentrazioni isotopiche di Ca, Sr, Ba e Mg all’interno delle bande di accrescimento di otoliti di *T. thynnus*; l’impiego della strumentazione LA-ICP-MS ha permesso di adottare una procedura di analisi ad alta risoluzione spaziale per studiare le variazioni di concentrazione dei summenzionati elementi dal core al rostro di una sezione dell’otolite;
- il disegno di campionamento impiegato su ciascuno otolite è stato progettato in base alla morfologia delle bande di accrescimento, ed al fine di studiare la variabilità intrabanda delle concentrazioni summenzionate. In tal modo si è attribuito a ciascun rapporto Me/Ca in ogni singola banda un intervallo di variazione, ottenendo così una misura più affidabile delle concentrazioni dei metalli in esame;
- l’identificazione di un range caratteristico del rapporto Ba/Ca dell’area Atlantica e, conseguentemente di quella Mediterranea, ha permesso di distinguere nei campioni analizzati periodi di vita trascorsi nei due siti. E’ noto infatti che le concentrazioni superficiali di Ba in mare sono maggiori nel bacino Mediterraneo piuttosto che nel Golfo del Messico (Bernat *et al.*, 1972; Lea *et al.*, 1990). Il risultato è stato, inoltre, confermato da ulteriori analisi eseguite su esemplari di *T. thynnus* in stadio giovanile e larvale, utilizzati quindi come *marker biologici mediterranei*;
- l’elaborazione del dataset ha permesso di monitorare le migrazioni degli esemplari solo su scala annuale. Infatti, la scelta del disegno di campionamento (spot da 25 μm) è frutto di un compromesso fra la soglia di rilevamento dello strumento e la morfologia delle bande di accrescimento, in quanto lo spessore delle bande di accrescimento risulta minore sul rostro rispetto a quello relativo alla zona del core. Analisi in LA-ICP-MS con diametro dello spot di 60 μm

hanno permesso di stimare concentrazioni relativamente basse di altri metalli presenti nell'otolite, ma non hanno consentito di rilevare tali concentrazioni in bande di accrescimento molto sottili come quelle più prossime al rostro.

Infine, va sottolineato che il numero dei campioni analizzati è stato un giusto compromesso tra il costo dei campioni stessi, quello delle analisi, e il tempo a disposizione in laboratorio.

Il dataset raccolto in questo lavoro di tesi rappresenta un unicum che è stato utilizzato per affrontare al meglio le problematiche sopra riportate ma che potrà rappresentare una valida base di partenza per future ricerche.

Ringraziamenti

Alla fine di questo lavoro di tesi il mio pensiero vola al compianto Professore Raimondo Sarà che è riuscito a trasmettermi la sua nota passione per la biologia sul tonno rosso...

Un affettuoso e sincero ringraziamento va all'Ingegnere A. Bonanno, amico e collega che in questi anni mi ha fatto crescere professionalmente ed umanamente...

Un grazie di cuore al Dr. Salvatore Mazzola, direttore dello IAMC- Cnr per avermi dato la possibilità e la fiducia di intraprendere e concludere questo lavoro di tesi;

Un sincero ed affettuoso ringraziamento va al Dr. Mario Sprovieri che mi ha seguito costantemente e pazientemente in questo appassionante progetto di ricerca;

Al Sig. Salvatore Gancitano, tecnico del laboratorio dello IAMC di Mazara del Vallo per avermi coadiuvato durante la preparazione dei campioni;

Al Dr. M. Tiepolo, Dr. A. Langone e il Sign.re M. Palenzona dell' U.O.S IGG Cnr Pavia che mi hanno accolto con simpatia e disponibilità nel loro laboratorio.....

Al Dr. Gualtiero Basilone "Walter" per avermi trasmesso utili nozioni sulla biologia del tonno rosso....

Al Dr. Marco Barra per le sue fantastiche intuizioni statiche...

A tutti i colleghi del Gruppo Interdisciplinare di Oceanografia dello IAMC –Cnr di Mazara del Vallo, che mi sono stati vicini, ed in particolare Cecilia, Annalisa, Susanna, Nino, Ciccio, Giusi, Gaspare, Antonio e Vincenzo.....

Ed infine, per ultimi ma di certi no per importanza, vorrei ringraziare di cuore Mamma, Papà, Monica e Barbara, Gagà, Chiara, Ciccio e Fabio, la mia famiglia, che mi ha sostenuto nei momenti più difficili con un sorriso... con la loro semplicità.....

BIBLIOGRAFIA

- Arai N, Sakamoto W., Maeda K. (1995). Analysis of trace elements in otoliths of red sea bream (*Pagrus major*). *Fish Sci* **613**, 43-43.
- Arai, N., Sakamoto, W., Maeda K. (1996). Correlation between ambient seawater temperature and strontium-calcium concentration ratios in otoliths of red sea bream (*Pagrus major*). *Fish Sci* **62**, 652-653.
- Baglin, R. E., and Rivas L. R. (1977). Population fecundity of western and eastern North Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*). *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **6**: 361–365.
- Bath G. E., Thorrold S. R., Jones C. M., Campana S. E., McLaren J. W., Lam J. W. H. (2000). Strontium and barium uptake in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. **64**, No. 10, pp. 1705–1714.
- Bernat M., Church T., Allegre C.J. (1972). Barium and Strontium concentrations in Pacific and Mediterranean sea water profiles by direct isotope dilution mass spectrometry. *Earth and planetary science letters* **16**, 75-80. North Holland publishing company.
- Block, B. A., H. Dewar, H., Blackwell, S. B., Williams, T. D., Prince, E. D., Farwell, C. J., Boustany, A., Teo, S. L. H., Seitz, A., Walli, A. and D. Fudge (2001). Migratory movements, depth preferences, and thermal biology of Atlantic bluefin tuna. *Science*, **293**, 1310–1314.
- Block, B. A., Teo S. L. H., Walli, A., Boustany, Stokesbury, A., M. J. W., Farwell, C. J., K. Weng, C., Dewar, H., and T. D. Williams (2005) Electronic tagging and population structure of Atlantic bluefin tuna. *Nature*, **434**, 1121–1127.
- Calaprice, J. R. (1986). Chemical variability and stock variation in northern Atlantic bluefin tuna. *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **24**, 222–254.
- Campana S.E. (1999). Chemistry and composition of fish otoliths: pathway, mechanism and applications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **188**, 263-297.
- Campana, S.E. (1984). Lunar cycles of otolith growth in the juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Mar. Biol.* **80**, 239-246.
- Campana, S.E., Neilson, J.D. (1985). Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **42**, 1014-1032.
- Clay, D. (1991). Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*): A review. *Inter-Amer. Trop. Tuna Comm., Spec. Rep.*, **7**, 89–180.
- Collette B. B. (2001) Systematics of the tuna and mackerels (Scombridae). In: *Tuna: Physiology, Ecology, and Evolution*. (B. A. Block and E. D. Stevens, Eds.). San Diego, CA: Academic Press.

Corriero, A., Desantis, S., Deflorio M., Accone F., Bridges C. R., de la Serna J. M., Megalofonou P., and G. De Metrio (2003). Histological investigation on the ovarian cycle of the bluefin tuna in the western and central Mediterranean. *J. Fish Biol.*, **63**, 108–119.

De Metrio, G., G. P. Arnold, J. M. de la Serna, B. A. Block, P. Megalofonou, M. Lutcavage, I. Oray, and M. Deflorio (2005). Movements of bluefin tuna (*Thunnus thynnus*, L.) tagged in the Mediterranean Sea with pop-up satellite tags. *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **58**, 1337–1340.

Degens, E.T., Deuser, W.G., Haedrich, R.L. (1969). Molecular structure and composition of fish otoliths. *Mar. Biol.* **2**, 105-113.

Dunkelberger, D.G., Dean, J.M., Watabe, N. (1980). The ultrastructure of the otolith membrane and otolith in the juvenile mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *J. Morphol.* **163**, 367-377.

Falini G., Albeck S., Weiner S., and Addadi L. (1996) Control of aragonite or calcite polymorphism by mollusk shell macromolecules. *Science* **271**, 67–69.

Fowler M., Campana S.E., Jones C.M., Thorrold S.R. (1995). Experimental assessment of the effect of temperature and salinity on elemental composition on otoliths using solution- based ICPMS. *Can. J. Fish. Aquat. Sci* **52**, 1421-1430.

Fromentin, J. M., and Powers, J. E. (2005). Atlantic bluefin tuna: Population dynamics, ecology, fisheries, and management. *Fish Fish.*, **6**, 281–306.

G. Sarà and R. Sarà (2007). Feeding habits and trophic levels of bluefin tuna *Thunnus thynnus* of different size classes in the Mediterranean Sea. *J. Appl. Ichthyol.* 1–6.

Gallahar NK, Kingsford MJ (1996). Factors influencing Sr/Ca ratios in otoliths of *Girella elavata*: an experimental investigation. *J. Fish. Biol.* **48**, 174-186.

Garcia, A., Alemany, F., De la Serna, J. M., Oray I., Karakulak, S., Rollandi, L., Arigo, A. and S. Mazzola (2005). Preliminary results of the 2004 bluefin tuna larval surveys off different Mediterranean sites (Balearic Archipelago, Levantine Sea, and the Sicilian Channel). *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **58**, 1420–1428.

Gauldie, R.W. (1993). Continuous and discontinuous growth in the otolith of *Macruronus novaezealandiae* (Merlucciidae: Teleostei). *J. Morphol.* **216**, 271-294.

Gauldie, R.W. (1991). The morphology of periodic structures of the otolith of the chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), and temperature-dependent variation in otolith microscopic growth increment width. *Acta Zoologica* **72** (3), 159-179.

Gauldie, R.W. (1988). Function, form and time-keeping properties of fish otoliths. *Comp. Biochem. Physiol. A* **91** (2), 395-402.

Gauldie, R.W., Nelson, D.G.A. (1988). Aragonite twinning and neuroprotein secretion are the cause of daily growth rings in fish otoliths. *Comp. Biochem. Physiol. A* **97**, 461-474.

Gauldie, R.W., Radtke, R.L. (1990). Microincrementation: facultative and obligatory precipitation of otolith crystal. *Comp. Biochem. Physiol. A* **97**, (2), 137-144.

Gauldie, R.W., Xhie, J. (1995). Atomic force microscopy of the morphology of the matrix and mineral components of the otolith of *Hyperoglyphe antarctica*. *J. Morphol.* **223**, 203-214.

Geffen, A. (1982). Otolith ring deposition in relation to growth rate in herring (*Clupea harengus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. *Mar. Biol.* **71**, 317- 326.

Geffen, A.J. (1992). Validation of otolith increment deposition rate. In: Stevenson, D.K., Campana, S.E. (Eds.), *Otolith Microstructure Examination and Analysis*, pp. 101-113.

Gillanders, B.M., Kingsford, M.J (2003) Spatial variation in elemental composition of otoliths of three species of fish (family Sparidae) *Estuarine- Coastal and Shelf Science* **57**, 1049-1064.

Hanski, I., and M. Gilpin. (1991). Metapopulation dynamics. A brief history and conceptual domain. *Biol. J. Linnean Soc.*, **42**, 3-16.

J.L.Cort (1991) Age and growth of the Bluefin tuna; *Thunnus thynnus* (L.) of the Northeast Atlantic- Col. Vol.Sci.Pap.ICCAT, **35** (2), 213-230.

Kalish J.M. (1991). Determinants of otolith chemistry: seasonal variation in composition of blood plasma, endolymph and otoliths of bearded rock cod *Pseudophycis barbatus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* Vol **74**, 137-159.

Kalish JM (1989). Otolith microchemistry: validation of the effects of physiology, age and environment on otolith composition. *J Exp Mar Biol Ecol* vol. **132**, 151-178.

Karakulak, S., Oray I., Corriero A., Aprea A., Spedicato D., Zubani D., Santamaria N., and De Metrio G. (2004) (a) First information the reproductive biology of the bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) in the Eastern Mediterranean. *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **56**, 1158-1162.

Karakulak, S., Oray I., Corriero A., Deflorio M., Santamaria N., Desantis S., and De Metrio G. (2004) (b). Evidence of a spawning area for the bluefin tuna (*Thunnus thynnus L.*) in the Eastern Mediterranean. *J. Appl. Ichthyol.*, **20**, 318-320.

Kraus R.T., Prince E.D., Rodriguez-Marin E., Secor D.H.(2007). Life History and Stock Structure of Atlantic Bluefin Tuna (*Thunnus thynnus*). *Reviews in Fisheries Science*, **15**, 265-310.

Lea D.W., Boyle E.A. (1990). Foraminiferal reconstruction of Barium distributions in sea water masses of the glacial oceans. *Paleoceanography*, vol. 5, no. 5, pages 719-742.

Limburg K.E. (1996). Growth and migration of 0-year American shad (*Alosa sapidissima*) in the Hudson River estuary. otolith microstructural analysis. Can J Fish Aquat Sci **53**, 220-238.

Lowenstein, O. (1971). The labyrinth. Fish Physiol. **5**, 207-240.

Lutcavage, M. E., R.W. Brill, G. B. Skomal, B. C. Chase, and P.W. Howey. (1999). Results of pop-up satellite tagging of spawning size class fish in the Gulf of Maine: Do North Atlantic bluefin tuna spawn in the mid-Atlantic? Can. J. Fish. Aquat. Sci., **56**, 173–177.

Magnuson, J. J., Block B. A., Deriso R. B., Gold J. R., Grant W. S, Quinn T. J.,. Saila, S.B., Shapiro, L., and. Stevens E. D. (1994). An assessment of Atlantic bluefin tuna. Washington D.C.: National Academy Press.

Mann, S., Webb, J., Williams, R.J.P. (1989). Biomineralization Chemical and Biochemical Perspective. VCH, Weinheim, 297 pp.

Mason B., and Moore C. B. (1982). Principles of Geochemistry. Wiley.

Mather F.J.(2004). Historical Document: Life history and fisheries of Atlantic Bluefin Tuna. Nooa Technical Memorandum NMFS-SEFSC-370.

Medina, A., F. J. Abascal, C. Megina, and A. Garcia (2002). Stereological assessment of the reproductive status of female Atlantic northern bluefin tuna during migration to Mediterranean spawning grounds through the Strait of Gibraltar. J. Fish Biol., **60**, 203–217.

Melita C. D. V., Gillanders B. M., Elsdon T.V. (2005). Facilitation of barium uptake into fish otoliths: Influence of strontium concentration and salinity. Geochimica et Cosmochimica Acta, Vol. 69, No. **16**, pp. 4061–4072.

Morales-Nin B. (2000) Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. Fish. Res. **46**; 53-67.

Morales-Nin, B. (1986). Chemical composition of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Pisces: Serranidae) otoliths. Cybium **10** (2), 115-120.

Morse J. W. and Bender M. L. (1990). Partition coefficients in calcite: examination of factors influencing the validity of experimental results and their application to natural systems. Chem. Geol. **82**,265–277.

Mosegaard, H., Svedang, H., Taberman, K. (1988). Uncoupling of somatic and otolith growth rates in Arctic char (*Salvelinus alpinus*) as an effect of differences in temperature response. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **45**, 1514-1524.

Mucci, A. and Morse J. W. (1983) The incorporation of Mg and Sr into calcite overgrowths: influences of growth rate and solution composition. Geochim. Cosmochim. Acta **47**, 217–233.

- Mugiya, Y. (1966). Calcification on fish and shellfish. XI. Seasonal changes in calcium and magnesium concentration of the otolith fluid in some fish, with special reference to the zone formation of their otoliths. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* **32**, 549-557.
- Mugiya, Y. (1987). Phase difference between calcification and organic matrix formation in the diurnal growth of otoliths in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish. Bull. US* **85**, 395- 401.
- Mugiya, Y., Yoshida, M. (1995). Effects of calcium antagonists and other metabolic modulators on in vitro calcium deposition on otoliths in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish. Sci. (Tokyo)* **61**, 1026-1030.
- Nishida, T., S. Tsuji, and K. Segawa. (1998). Spatial data analyses of Atlantic bluefin tuna larval surveys in the 1994 ICCAT BYP. *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **48**, 107-110.
- Panfili J., de Pontual H., Wright P.J.(2002). Manual of fish sclerochronology. Brest, France: Ifremer – IRD coedition, 464 p.
- Piccinetti, C., and G. P. Manfrin (1970). Osservazioni sulla biologia dei primi stadi giovanili del tonno (*Thunnus thynnus* L.). *Boll. Pesca Piscic. Idrobiol.*, **25**, 223-247.
- Pingitore N. E. (1996). Modes of coprecipitation of Ba^+ and Sr^+ with calcite. In *Geochemical Processes at Mineral Surfaces* (ed. J. A. Davis and K. F. Hayes), pp. 574-586, American Chemical Society Symposium 323.
- Platt, C., Popper, A.N. (1981). Fine structure and function of the ear. In: Tavolga, W.N., Popper, A.N., Fay, R.N. (Eds.), *Hearing and Communication in Fishes*. Springer, New York, pp. 3-36.
- Radtke R.L, Townsend D.W, Folsom S.D., Morrison M.A. (1990). Strontium, calcium concentration ratios in otoliths of herring larvae as indicators of environmental histories. *Environ Biol Fish* **27**, 51-61.
- Radtke, R.L., Dean, J.M (1982). Increment formation in the embryos, larvae and juveniles of the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Fish Bull. US* **80**, 41- 45
- Rauch, S. (1963). Arguments for the permeability of Reissner's membrane. *Laryngoscope*, **73**, 135-146.
- ReÂ, R., Rosa, H.C., Dinis, M.T. (1985). Diel rhythms in *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) larvae under controlled conditions: swim bladder inflation, feeding and otolith growth. *Invest. Pesq.* **49**, 418-441.
- Romanek C.S, Gauldie R.W.(1996). A predictive model of otolith growth in fish based on the chemistry of the endolymph. *Comp Biochem Physiol* **114A**:71-79.
- Rooker, J. R., D. H. Secor, G. De Metrio, and E. Rodriguez-Marin (2006). Evaluation of population structure and mixing rates of Atlantic bluefin tuna from chemical signatures in otoliths. *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **59**, 813-818.

Rooker, J. R., Secor, D. H., Zdanowicz, V. S., and Itoh, T. (2001). Discrimination of northern bluefin tuna from nursery areas in the Pacific Ocean using otolith chemistry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **218**, 275–282.

Sadovy Y., Severin K.P. (1992). Trace elements in biogenic aragonite: correlation of body growth rate and strontium levels in the otoliths of the white grunt, *Haemulon plumieri* (Pisces: Haemulidae). *Bull Mar Sci* **50**, 237-257.

Secor D. H., and V. S. Zdanowicz. (1998). Otolith microconstituent analysis of juvenile bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from the Mediterranean Sea and Pacific Ocean. *Fish. Res.*, **3**, 251–256

Secor D.,H, Dean J.M., Campana S.E. (1995). Recent developments in fish otolith research. University of South Carolina Press, Columbia, SC.

Secor D.H., Dean, J.M., Laban, E.H. (1991) Otolith removal and preparation for Microstructural examination: A user manual. Electric Power Research Institute and the Belle W. Baruch Institute for Marine Biology and Coastal Research

Teo, S. L. H., Boustany, A., Dewar, H., Stokesbury, M., Weng, K., Beemer S., Seitz, A., Farwell C., Prince, E. D., and B. A. Block. (2007). Annual migrations, diving behaviour and thermal biology of Atlantic bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, to breeding grounds in the Gulf of Mexico. *Mar. Biol.*, **151**, 1–18.

Thresher R. (1999). Elemental composition of otolith as a stock delineator in fishes. *Fisheries Research* Vol. **43** 165-204.

Townsend D.W., Radtke R.L., Corwin S., Libby D.A. (1992). Strontium: calcium ratios in juvenile Atlantic herring *Clupea harengus* otoliths as a function of water temperature. *J Exp Mar Biol Ecol* **160**, 131-140.

Townsend D.W., Radtke R.L., Malone D.P., Wallinga J.P. (1995). Use of otolith strontium:calcium ratios for hindcasting larval cod distributions relative to water masses on Georges Bank. *Mar Ecol Prog Ser* **119**:37-44.

Turner, S. C., and J. E. Powers. (1995). Review of information related to Atlantic bluefin tuna east-west movement. *ICCAT Col. Vol. Sci. Pap.*, **44**, 191–197

Tzeng W.N. (1996). Effects of salinity and ontogenetic movements on strontium: calcium ratios in the otoliths of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *J Exp Mar Biol Ecol* **199**: 111-122.

Tzeng, W.N., Severin K.P., Wickström, H. and Wang1,C.H. (1999). Strontium Bands in Relation to Age Marks in Otoliths of European Eel *Anguilla anguilla*.

Van Achterbergh E., C.G.Ryan S. Jackson and W.L. Griffin (2001) Data reduction software for LA-ICP-MS in the Earth Sciences. P. Sylvester ed. Mineralogical Association of Canada. Vol. **29**, 239-243.

Wright, P.J. (1991). Calcium binding by soluble matrix of the otoliths of Atlantic salmon *Salmo salar* L. *J. Fish Biol.* **38**, 625-627.

Wright, P.J., Talbot, C., Thorpe, J.E. (1992). Otolith calcification in *Atlantic salmon parr*, *Salmo salar L.* and its relation to photoperiod and calcium metabolism. *J. Fish Biol.* **40**, 779- 790.

Zhang, Z. (1992). Relationship of saccular ultrastructure to otolith growth in the teleost *Oreochromis niloticus*. *J. Morphol.* **21**, 1-10. *Zoological Studies* 38 (4): 452-45

Allegato I

CAMPIONE 1A

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1996 Ialino</i>	11	0,78	0,46	1515	158	105	66
<i>1997 Opaco</i>	14	1,9	0,59	2557	289	114	94
<i>1997 Ialino</i>	22	1,69	0,82	1956	337	121	81
<i>1998 Opaco</i>	9	2,42	1	2265	379	112	46
<i>1998 Ialino</i>	6	2	0,6	2123	267	124	23
<i>1999 Opaco</i>	3	4,59	1,16	2595	324	137	5
<i>1999 Ialino</i>	9	2,44	0,65	2275	146	140	179
<i>2000 Opaco</i>	10	2,71	0,55	2082	80	165	464
<i>2000 Ialino</i>	11	3,46	0,79	2352	177	156	144
<i>2001 Opaco</i>	11	3,04	0,59	2244	165	132	124
<i>2001 Ialino</i>	12	3,73		2539		128	
<i>2002 Opaco</i>	1	3,15	0,57	2436	134	152	174
<i>2002 Ialino</i>	11	4,78		2570		123	
<i>2003 Opaco</i>	1	3,27	0,79	2483	156	122	243
<i>2003 Ialino</i>	11	3,6	0,9	2219	149	108	271
<i>2004 Opaco</i>	10	3,41		2335		76	
<i>2004 Ialino</i>	9	4,68		2294		149	
<i>2005 Opaco</i>	10	4,92		2434		167	
<i>2005 Ialino</i>	9	3,4	0,33				
<i>2006 Opaco</i>	1						

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 1A per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 3A

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1991 Opaco</i>	8	0,57	0,11	1641	89	141	60
<i>1991 Ialino</i>	10	0,67	0,32	1656	75	88	17
<i>1992 Opaco</i>	3	0,88	0,26	1955	225	67	16
<i>1992 Ialino</i>	12	1,02	0,34	1908	288	125	32
<i>1993 Opaco</i>	10	1,22	0,23	2441	405	124	19
<i>1993 Ialino</i>	1	1,44		1951		83	
<i>1994 Opaco</i>	2	2,2	0,14	2386	132	85	1
<i>1994 Ialino</i>	1	2,72		2224		90	
<i>1995 Opaco</i>	2	1,86	0,37	1991	33	83	11
<i>1995 Ialino</i>	1	3,22		2611		84	
<i>1996 Opaco</i>	3	1,88	0,24	2029	137	84	26
<i>1996 Ialino</i>	2	1,89	0,05	1991	38	86	20
<i>1997 Opaco</i>	8	1,72	0,22	2611	236	84	65
<i>1997 Ialino</i>	3	2,19	0,15	2029	117	49	12
<i>1998 Opaco</i>	7	1,84	0,15	1901	112	80	40
<i>1998 Ialino</i>	2	1,86	0,06	2389	60	51	4
<i>1999 Opaco</i>	13	2,41	0,31	2147	140	137	50
<i>1999 Ialino</i>	2	3,14	0,27	2293	147	60	5
<i>2000 Opaco</i>	6	3,5		2168	81	116	57
<i>2000 Ialino</i>	2	2,05			91	76	18
<i>2001 Opaco</i>	3	2,53		2157	213	102	14
<i>2001 Ialino</i>	2	3,5		2267	113	122	4
<i>2002 Opaco</i>	3	2,88		2206	8	94	24
<i>2002 Ialino</i>	2	2,56		2064	100	101	3
<i>2003 Opaco</i>	3	2,07		2155	32	64	29
<i>2003 Ialino</i>	3	1,86		2034	79	107	34
<i>2004 Opaco</i>	2	1,39		2114	27	95	8
<i>2004 Ialino</i>	2	1,67		2168	21	97	16
<i>2005 Opaco</i>	3	1,54		1915	41	125	5
<i>2005 Ialino</i>	3	1,52		1831	88	125	391

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 3A per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 9F

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1996 Ialino</i>	2	2,64	0,08	1951	222	129	7
<i>1997 Opaco</i>	5	1,97	0,9	2511	185	157	61
<i>1997 Ialino</i>	6	1,92	0,33	2129	110	165	36
<i>1998 Opaco</i>	4	3,4	0,75	2424	203	221	76
<i>1998 Ialino</i>	12	3,04	1,13	2224	137	335	123
<i>1999 Opaco</i>	8	3,35	0,78	2995	295	421	140
<i>1999 Ialino</i>	3	3,05	0,26	2437	43	214	102
<i>2000 Opaco</i>	9	3,32	0,59	2365	89	283	212
<i>2000 Ialino</i>	2	3,1	0,83	2360	104	225	8
<i>2001 Opaco</i>	9	4,81	0,44	2789	135	303	94
<i>2001 Ialino</i>	1	4,41		2556	91	261	
<i>2002 Opaco</i>	2	4,93	0,82	2498	24	286	14
<i>2002 Ialino</i>	3	5,03	1,16	2410	34	287	67
<i>2003 Opaco</i>	3	4,15	0,39	2413		265	20
<i>2003 Ialino</i>	1	2,65		2183	23	258	
<i>2004 Opaco</i>	2	4,24	1,5	2180		297	5
<i>2004 Ialino</i>	1	2,99				414	
<i>2005 Opaco</i>	1	2,96				422	

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 9F per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 12F

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1996 Opaco</i>	1	1,08		2177		120	
<i>1996 Ialino</i>	3	0,71	0,2	1687	180	90	30
<i>1997 Opaco</i>	4	0,098	0,43	2341	313	107	17
<i>1997 Ialino</i>	4	0,87	0,3	2070	36	134	17
<i>1998 Opaco</i>	5	1,03	0,67	2341	175	159	33
<i>1998 Ialino</i>	11	1,39	0,23	2384	120	140	19
<i>1999 Opaco</i>	11	1,65	0,41	2635	301	238	55
<i>1999 Ialino</i>	11	1,48	0,4	2540	231	186	28
<i>2000 Opaco</i>	11	1,5	0,43	2598	197	195	46
<i>2001 Opaco</i>	6	1,35		2398	165	239	
<i>2001 Ialino</i>	1	1,75	0,24	2100		134	32
<i>2002 Opaco</i>	2	1,65		2379	54	182	
<i>2002 Ialino</i>	1	1,8	0,17	1983		244	42
<i>2003 Opaco</i>	2	1,76		2278		192	
<i>2003 Ialino</i>	1	4,42		2160	122	175	
<i>2004 Opaco</i>	2	2,81	0,25	2590	546	215	34
<i>2004 Ialino</i>	4	3,12	2,19	2236	16	233	106
<i>2005 Opaco</i>	1	2,93		2285		279	5
<i>2005 Ialino</i>	2	2,41	0,12	2281	28	264	

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 12F per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 13F

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1995 Ialino</i>	2	0,44	0,08	1851	243	92	6
<i>1996 Opaco</i>	4	1,44	0,69	1928	265	155	54
<i>1996 Ialino</i>	5	1,84	0,23	1989	310	136	93
<i>1997 Opaco</i>	15	2,37	0,93	2495	455	187	206
<i>1997 Ialino</i>	2	2,49	0,69	2448	93	171	118
<i>1998 Opaco</i>	6	7,06	3,1	3100	428	359	197
<i>1998 Ialino</i>	10	5,35	1,51	2382	200	172	79
<i>1999 Opaco</i>	6	5,65	2,88	2536	428	219	88
<i>1999 Ialino</i>	9	4,64	2,14	2457	263	216	86
<i>2000 Opaco</i>	1	3,56		2217	169	291	
<i>2000 Ialino</i>	1	3,13		2060		269	
<i>2001 Opaco</i>	1	3,09		2189	49	306	2
<i>2001 Ialino</i>	2	2,91	0,11	2189		314	
<i>2002 Opaco</i>	1	2,97		2120	22	331	23
<i>2002 Ialino</i>	2	2,78	0,39	2348		283	
<i>2003 Opaco</i>	1	2,59		2397	674	245	35
<i>2003 Ialino</i>	3	3,15	0,54	2962		280	
<i>2004 Opaco</i>	1	3,5		2259		312	
<i>2004 Ialino</i>	1	3,62					

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 13F per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 22F

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1997 Opaco</i>	15	0,88	0,42	1167	238	195	119
<i>1997 Ialino</i>	7	1,41	0,3	1259	177		31
<i>1998 Opaco</i>	8	1,29	0,42	2184	300		70
<i>1998 Ialino</i>	11	1,26	0,41	2407	299		66
<i>1999 Opaco</i>	5	0,79	0,27	2131	80		16
<i>1999 Ialino</i>	15	1,3	0,37	2152	173		71
<i>2000 Opaco</i>	13	1,95	0,67	2669	211		75
<i>2000 Ialino</i>	16	2,05	0,46	2262	174		62
<i>2001 Opaco</i>	12	4,06	0,75	2504	250		126
<i>2001 Ialino</i>	9	3,56	3,32	2413	427		110
<i>2002 Opaco</i>	14	5,42	4,31	2528	275		58
<i>2002 Ialino</i>	10	4,9	2,01	2694	238		70
<i>2003 Opaco</i>	12	4,62	3,23	2933	354		192
<i>2003 Ialino</i>	13	5,56	1,97	3154	269		65
<i>2004 Opaco</i>	12	7,12	3,31	3047	159		43
<i>2004 Ialino</i>	4	3,92	1,75	3259	290		233
<i>2005 Opaco</i>	5	5,04	0,95	3487	1052		102
<i>2005 Ialino</i>	1	4,08		3347			

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 22F per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 62F

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>2001 Opaco</i>	2	0,8	0,1	2972	100	84	11
<i>2001 Ialino</i>	10	0,93	0,29	2417	554	76	17
<i>2002 Opaco</i>	7	1,5	1,07	2239	488	86	15
<i>2002 Ialino</i>	5	1,44	0,26	2379	424	73	29
<i>2003 Opaco</i>	17	2,89	1,52	2120	215	86	42
<i>2003 Ialino</i>	12	3,27	0,63	2460	284	120	41
<i>2004 Opaco</i>	14	4,56	1,01	2160	413	94	44
<i>2004 Ialino</i>	13	6,07	2,65	2895	799	110	42
<i>2005 Opaco</i>	2	14	5,14	1471	42	128	3

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 62F per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 1D

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1993 Opaco</i>	4	0,59	0,2	1506	22	177	34
<i>1993 Ialino</i>	5	0,51	0,15	1524	99	168	53
<i>1994 Opaco</i>	6	0,96	0,35	1550	354	171	46
<i>1994 Ialino</i>	13	0,88	0,26	1607	138	138	40
<i>T</i>	6	1,32	0,38	1844	331	122	41
<i>1995 Opaco</i>	8	1,97	0,46	2448	362	90	40
<i>1995 Ialino</i>	6	1,32	0,49	2410	243	109	32
<i>1996 Ialino</i>	10	1,65	0,49	2459	174	116	37
<i>1997 Ialino</i>	9	1,73	0,41	2404	174	101	23
<i>1998 Opaco</i>	6	1,29	0,37	2507	193	98	21
<i>1999 Ialino</i>	9	1,67	0,27	2256	178	128	48
<i>2000 Ialino</i>	5	1,37	0,22	2169	54	121	28
<i>2001 Ialino</i>	5	1,61	0,22	2258	170	136	32
<i>T₁</i>	9	1,74	0,4	2161	93	113	41
<i>T₂</i>	7	1,98	0,41	2125	147	110	30
<i>2002 Ialino</i>	9	1,87	0,34	22130	115	77	40
<i>2003 Opaco</i>	9	1,98	0,48	2369	169	79	18
<i>2003 Ialino</i>	9	1,8	0,47	2233	175	104	36
<i>2004 Opaco</i>	10	1,59	0,26	2283	135	101	34
<i>2005 Opaco</i>	8	1,88	0,36	2411	51	86	22
<i>2006 Opaco</i>	7	2,36	0,53	2504	106	102	27
<i>2007 Opaco</i>	6	2,71	0,64			46	29
<i>2008 Ialino</i>	5	2,83	0,49			86	24

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 1D per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 3D

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1997 Opaco</i>	2	0,87	0,02	1404	125	76	43
<i>1997 Ialino</i>	2	0,69	0,18	1502	47	29	
<i>1998 Opaco</i>	3	0,81	0,28	1412	137	52	
<i>1998 Ialino</i>	4	0,59	0,01	1592	87	42	27
<i>1999 Opaco</i>	5	1,19	1,08	2234	121	68	48
<i>1999 Ialino</i>	3	1,73	0,61	1893	142	99	42
<i>2000 Opaco</i>	6	1,51	0,89	1845	208	119	
<i>2000 Ialino</i>	5	1,29	0,58	1755	109	45	15
<i>2001 Opaco</i>	6	1,43	0,58	1883	156	78	17
<i>2001 Ialino</i>	5	1,42	0,87	1635	160	96	23
<i>2002 Opaco</i>	5	1,68	0,72	1666	143	75	19
<i>2002 Ialino</i>	4	2,18	0,5	1964	142	47	30
<i>2003 Opaco</i>	5	2,26	0,69	2026	117	41	27
<i>2003 Ialino</i>	4	1,57	0,72	1986	191	41	9
<i>2004 Opaco</i>	5	2,07	0,66	1986	165	47	12
<i>2004 Ialino</i>	5	2,16	0,95	2066	176	59	24
<i>2005 Opaco</i>	4	1,93	0,55	2037	190	47	10
<i>2005 Ialino</i>	4	1,9	0,43	1922	45	24	14
<i>2006 Opaco</i>	4	1,82	0,77	1820	207	36	9
<i>2006 Ialino</i>	3	1,66	0,84	1866	196	60	35
<i>2007 Opaco</i>	4	2,04	0,92	1773	338	80	18
<i>2007 Ialino</i>	2	0,54	0,26	1604	120	27	
<i>2008 Opaco</i>	1	1,63		2139			

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 3D per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

CAMPIONE 4D

<i>Anno</i>	<i>N° di osservazioni</i>	<i>Med Ba/Ca</i>	<i>Dev St Ba/Ca</i>	<i>Med Sr/Ca</i>	<i>Dev St Sr/Ca</i>	<i>Med Mg/Ca</i>	<i>Dev St Mg/Ca</i>
<i>1991 Opaco</i>	3	0,68	0,84	1727	180	219	68
<i>1999 Ialina</i>	5	2,55	0,78	1802	109	133	43
<i>2000 Opaco</i>	4	1,44	0,32	1810	185	90	20
<i>2000 Ialina</i>	5	1,25	0,67	1973	48	81	54
<i>2001 Opaco</i>	5	1,54	0,52	2092	105	83	12
<i>2001 Ialino</i>	4	1,11	0,7	1846	148	85	15
<i>2002 Opaco</i>	5	1,93	0,39	2158	175	85	
<i>2002 Ialina</i>	5	1,52	0,41	2295	210	20	13
<i>2003 Opaco</i>	5	1,91	0,82	2367	88	99	21
<i>2003 Ialina</i>	4	1,22	0,88	2215	224	61	19
<i>2004 Opaco</i>	5	1,8	0,47	2428	201	281	173
<i>2004 Ialina</i>	3	1,38	0,54	2408	382	53	93
<i>2005 Opaco</i>	4	1,24	1,18	2467	139	61	47
<i>2005 Ialina</i>	6	1,79	1,24	2351	116	55	39
<i>2006 Opaco</i>	5	2,06	0,59	2120	524	44	10
<i>2006 Ialina</i>	4	3	1,37	2075	167	82	37
<i>2007 Opaco</i>	4	2,79	0,3	2283	304	58	
<i>2007 Ialina</i>	1	2,45					

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni di Ba/Ca, Sr/Ca e Mg/Ca al campione 4D per banda di accrescimento (in $\mu\text{mol/mol}$).

Allegato II

CAMPIONE 1A

<i>Elemento</i>	<i>Dev. Stad E/Ca</i>	<i>Mediana E/Ca</i>
<i>Sc</i>	0,16	0,07
<i>Ti</i>	0,57	0,49
<i>V</i>	0,05	0,01
<i>Cr</i>	1,73	0,74
<i>Mn</i>	0,61	1,45
<i>Co</i>	0,3	0,1
<i>Ni</i>	0,74	0,5
<i>Cu</i>	0,12	0,08
<i>Zn</i>	9,27	2,68
<i>Rb</i>	0,07	0,02
<i>Y</i>	0,01	0,01
<i>Zr</i>	0,09	0,18
<i>Nb</i>	0,01	0,03
<i>Mo</i>	0,07	0,13
<i>Cd</i>	0,08	0,03
<i>Cs</i>	0,01	0,4

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni ($\mu\text{mol/mol}$) del campione.

CAMPIONE 3A

<i>Elemento</i>	<i>Dev. Stad E/Ca</i>	<i>Mediana E/Ca</i>
<i>Sc</i>	0,09	0,05
<i>Ti</i>	0,65	0,33
<i>V</i>	0,06	0,26
<i>Cr</i>	2,39	0,97
<i>Mn</i>	0,44	0,37
<i>Co</i>	0,52	0,25
<i>Ni</i>	1,63	0,78
<i>Cu</i>	0,24	0,16
<i>Zn</i>	1,88	7,8
<i>Rb</i>	0,07	0,07
<i>Y</i>	0,02	0,01
<i>Zr</i>	0,18	0,35
<i>Nb</i>	0,01	0,01
<i>Mo</i>	0,11	0,04
<i>Cd</i>	0,12	0,07
<i>Cs</i>	0,02	0,13

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni ($\mu\text{mol/mol}$) del campione 3°

CAMPIONE 9F

<i>Elemento</i>	<i>Dev. Stad E/Ca</i>	<i>Mediana E/Ca</i>
Sc	0,09	0,03
Ti	0,46	0,15
V	0,07	0,19
Cr	2,92	1,52
Mn	0,55	0,79
Co	0,5	0,39
Ni	1,11	0,18
Cu	0,21	0,09
Zn	12,5	5,32
Rb	0,07	
Y	0,03	0,01
Zr	0,2	0,06
Nb	0,01	
Mo	0,014	0,08
Cd	0,16	0,07
Cs	0,04	0,02

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni (μmol/mol) del campione 9F

CAMPIONE 12F

<i>Elemento</i>	<i>Dev. Stand E/Ca</i>	<i>Mediana E/Ca</i>
Sc	0,14	0,07
Ti	0,65	0,43
V		
Cr	2,35	1,81
Mn	0,52	0,25
Co		
Ni		
Cu	0,55	0,37
Zn	3,56	8,71
Rb		
Y	0,03	0,01
Zr		
Nb	0,01	
Mo	0,16	0,51
Cd	0,1	0,08

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni (μmol/mol) del campione 12F

CAMPIONE 13F

<i>Elemento</i>	<i>Dev. Stand E/Ca</i>	<i>Mediana E/Ca</i>
<i>Sc</i>	0,1	
<i>Ti</i>	0,75	
<i>V</i>	0,08	
<i>Cr</i>	2,32	
<i>Mn</i>	0,57	
<i>Co</i>	0,98	
<i>Ni</i>		
<i>Cu</i>		
<i>Zn</i>	16,49	6,65
<i>Rb</i>	0,07	0,04
<i>Y</i>		
<i>Zr</i>		
<i>Nb</i>	0,03	0,01
<i>Mo</i>	0,08	0,07
<i>Cd</i>	0,11	0,27

Dati relativi ai rapporti delle concentrazioni ($\mu\text{mol/mol}$) del campione 13F