Reproduktivna biologija ženki kostelja (Squalus acanthias, Linnaeus 1758) u istočnom Jadranu

Arbanas, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2009

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:320170

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-23**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Lucija Arbanas

Reproduktivna biologija ženki kostelja (*Squalus acanthias*, Linnaeus 1758) u istočnom Jadranu

Diplomski rad

Zagreb, 2009. godina

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zoologijskom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Gordane Lacković-Venturin, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja dipl. ing. biologije.

ZAHVALA

Prije svega, zahvaljujem se mojoj mentorici, prof. dr. sc. Gordana Lacković – Venturin, što mi je omogućila izradu ovog diplomskog rada i pomogla oko njegove realizacije. Veliko hvala i asistentci, dipl. ing. Romani Gračan, koja me usmjeravala i savjetovala tijekom izrade rada i neumorno ispravljala sve moje pogreške. Također, zahvaljujem i tehničarki Zrinki Benčini, koja mi je otkrila sve tajne izrade histoloških preparata.

Mojim roditeljima i cijeloj obitelji jedno veliko hvala što su mi bili velika podrška, neiscrpna motivacija i izvor ljubavi u svakom trenutku mog školovanja i životu općenito. Uvijek su nastojali u mene usaditi prave vrijednosti i usmjeriti me na najbolji životni put, na čemu sam im neizmjerno zahvalna.

Hvala mome Tomislavu i svim prijateljima koji su strpljivo bili uz mene i ohrabrivali me kad je bilo teško, ali i veselili se zajedno samnom svakom uspjehu. Na kraju, ne i najmanje važno, hvala dragome Bogu bez čije prisutnosti i pomoći sve ovo ne bi bilo moguće.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek Diplomski rad

Reproduktivna biologija ženki kostelja (*Squalus acanthias,* Linnaeus 1758) u istočnom Jadranu

Lucija Arbanas

Biološki odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu
Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U istočnom Jadranu u razdoblju od 2005. do 2007. godine prikupljane su jedinke ženki morskog psa kostelja (*Squalus acanthias L.*). Istraživano područje je obuhvaćalo istočni dio Jadrana, odnosno Lošinjski akvatorij između 44°32' i 43°44' sjeverno, te 15°05' i 14°40' istočno, a životinje su prikupljane na ribarskim brodovima, koćaricama. Morfometrijski je obrađeno 100 životinja, te su prikupljeni uzorci za daljnju laboratorijsku obradu.

Cilj istraživanja je bio doznati pojedinosti o reproduktivnoj biologiji ženki kostelja u istočnom Jadranu, vrsti koja se intenzivno izlovljava, a čiji životni ciklus još nije poznat. Rezultati pokazuju da se veličina ulovljenih ženki kretala u rasponu od 26.10 do 112.00 cm (srednja vrijednost 58.45 ± 22.59). Na temelju morfometrije gonada pretpostavlja se da ženke dostižu spolnu zrelost kod veličina od oko 65 cm dužine. Iz jajnika je u prosjeku izolirano od 5 do 28 jaja (srednja vrijednost 16.80 ± 6.45, N=21), a promjer jaja se kretao od 1.78 do 35.98 mm. Embriji su pronađeni u uterusu 7 ženki. Najveći zabilježeni broj embrija po ženki je 18, a najmanji 6 (srednja vrijednost 10.14 ± 4.22), a raspon dužina embrija se kretao između 12.20 i 21.50 cm (srednja vrijednost 15.85 ± 2.56). Odnos spolova embrija je više u korist ženki (1.3:1).

Na temelju ovog istraživanja teško je donijeti detaljne zaključke o reproduktivnom ciklusu ženki, budući da podaci za usporedbu o toj vrsti u Jadranu uopće ne postoje. Stoga su nužna daljnja istraživanja, pogotovo za juvenilne i odrasle jedinke. Njihov opstanak je posebice ugrožen ribolovnim aktivnostima, a osnova su održanja populacije i potrebno ih je primjereno zaštititi.

(40 stranica, 31 slika, 10 tablica, 30 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta
Ključne riječi: *Squalus acanthias*, kostelj, reproduktivna biologija, istočni Jadran

Voditelj: Prof. dr. sc. Gordana Lacković – Venturin, izvanredni profesor
Ocjenitelji: Prof. dr. sc. Gordana Lacković – Venturin, izvanredni profesor
Doc. dr. sc. Zoran Tadić
Doc. dr. sc. Božena Mitić

Rad prihvaćen: 9. rujna 2009.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Graduation Thesis

Reproductive biology of the female spiny dogfish (*Squalus acanthias*, Linnaeus 1758) in the Eastern Adriatic Sea

Lucija Arbanas

Department of Biology, Faculty of Science, University of Zagreb
Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Croatia

Female specimens of spiny dogfish (*Squalus acanthias L.*) have been caught in the period between 2005 and 2007 in the Eastern Adriatic Sea by on-board observers on five commercial bottom trawls. Fishing vessels were operating in area between 44°32' and 43°44' N, and 15°05' and 14°40' E. We sampled 100 sharks, and collected material for laboratory analysis.

The purpose of this investigation was to find out some new features about reproductive biology of a female spiny dogfish in the Eastern Adriatic Sea, a species who is commercially fished without knowing its biology and life cycle.

Results showed that length of females were ranging from 26.10 to 112.00 cm (average 58.45 ± 22.59). Based on gonad morphometry we can suppose that females reach sexual maturity at about 65 cm length. We isolated between 5 - 28 eggs from the ovary (average (16.80 ± 6.45, N=21), with egg diameter ranging from 1.78 to 35.98 mm. Embryos were sampled from 7 females. Litter size ranged between 6 - 18, (average 10.14 ± 4.22), while lengths of embryos ranged from 12.20 to 21.50 cm (average 15.85 ± 2.56). The sex ratio of embryos was biased towards females (1.3 : 1).

Based on these results we can not establish all details on reproductive biology of females, especially because we have no previous data for comparison. Therefore, further investigation of subadult and adult females need to be encouraged. These stages are mostly exposed to fishing activities, they represent the basis of the sustainable population, and need to be properly protected.

(40 pages, 31 figures, 10 tables, 30 references, original in: Croatian)
Thesis deposited in Central biological library, Faculty of Science, University of Zagreb
Key words: *Squalus acanthias*, spiny dogfish, reproductive biology, east Adriatic Sea

Supervisor: Assoc. Prof. Gordana Lacković – Venturin, PhD
Reviewers: Assoc. Prof. Gordana Lacković – Venturin, PhD
Asst. Prof. Zoran Tadić, PhD
Asst. Prof. Božena Mitić, PhD

Thesis accepted: 9th September 2009

SADRŽAJ

1. UVOD……...1

1.1. Biologija morskih pasa…….....1

1.1.1. Taksonomija i podrijetlo morskih pasa……....1

1.1.2. Opće karakteristike kostelja……...…..2

1.1.3. Strategije razmnožavanja……..2

1.1.4. Građa ženskog reproduktivnog sustava……....4

1.1.5. Životni ciklus i spolno sazrijevanje kostelja……6

1.1.6. Plodnost……8

1.1.7. Razvoj mladih……...9

1.2. Morski psi u Jadranskom moru…….....10

1.3. Ugroženost i zaštita morskih pasa…….....10

1.4. Ciljevi istraživanja…….....12

2. MATERIJAL I METODE…….....13

2.1. Područje istraživanja…….....13

2.2. Terenska istraživanja…….....14

2.3. Laboratorijska istraživanja…….....16

3. REZULTATI…….....21

3.1. Područje istraživanja i sezona ulova životinja.....21

3.2. Morfometrijska mjerenja.....21

3.2.1. Mjerenja ženki kostelja i njihovih gonada…….....21

3.2.2. Mjerenja jaja iz jajnika…….....24

3.2.3. Mjerenja embrija i određivanje spola…….....26

3.2.4. Mjerenje jajnih folikula na histološkim preparatima…….....28

4. RASPRAVA…….31

5. ZAKLJUČAK……..36

6. LITERATURA…….....37

7. DODATAK

1. UVOD

1.1. Biologija morskih pasa

1.1 1.Taksonomija i podrijetlo morskih pasa

Razred hrskavičnjača (Chondrichthyes) pripada skupini riba. Dijeli se na dva podrazreda: prečnouste (Elasmobranchii) i cjeloglavke (Holocephali). Skupini prečnouste pripadaju dva reda: morski psi (Selachii) i raže (Batoidea), dok podrazredu cjeloglavki pripada samo jedan red himere (Chimaeriformes). Zajednička karakteristika ovih skupina je kostur izgrađen od hrskavice. U tijelu morskog psa jedino koštano tkivo predstavljaju specijalizirani zubi i ljuske koje prekrivaju kožu.

Prve hrskavičnjače su se pojavile prije 400 milijuna godina i od tada su doživjele samo manje promjene. Širom svijeta je pronađen veliki broj fosilnih ostataka morskih pasa iz tog razdoblja, no zbog hrskavičnog kostura fosili su dobro očuvani samo u rijetkim slučajevima. Iz njih se procjenjuje da je postojalo oko 3000 fosilnih vrsta morskih pasa i njihovih srodnika. Danas je opisano oko 500 vrsta morskih pasa, a za njih 453 postoje detaljni opisi i ključevi za determinaciju (Compagno i sur. 2005).

Sistematika vrste *Squalus acanthias* (Linnaeus, 1758)

- CARSTVO: Animalia
- KOLJENO: Chordata
- POTKOLJENO: Vertebrata
- NADRAZRED: Gnathostomata
- RAZRED: Chondrichthyes
- PODRAZRED: Elasmobranchii
- RED: Selachii
- PODRED: Squaloidea
- PORODICA: Squalidae
- ROD: Squalus

1.1.2. Opće karakteristike kostelja

Kostelj (*Squalus acanthias*) (Slika 1) je naziv dobio prema dvjema bodljama na leđnim perajama, koje su raspoređene po jedna iza svake peraje. Ima karakteristične bijele točke po gornjoj tamnijoj strani tijela, prema kojima se razlikuje od bliskih srodnika. Može narasti do maksimalne dužine od oko 160 cm i pri tome su ženke veće od mužjaka (Nemmack i sur., 1985). Prema načinu ishrane je oportunist i hrani se većinom koštunjačama, a najčešće zabilježene vrste u ishrani su *Maena vulgaris*, *Cepola rubescens*, *Gadus capelanus* i *Sardina pilchardus*. Manje zastupljene skupine u ishrani su glavonošci, dekapodni rakovi, mnogočetinaši, morski krastavci i meduze (Jardas, 1972.).

Ova vrsta morskog psa je široko rasprostranjena u cijelome svijetu, iznimka su tropska i polarna područja (Compagno, 1984). Vrlo su aktivni i pojavljuju se pojedinačno ili u vrlo velikim grupama, plašljivi su i za ljude potpuno bezopasni.

Slika 1. *Squalus acanthias* (kostelj).

1.1.3. Strategije razmnožavanja

Za sve prečnouste je karakteristična unutarnja oplodnja i stvaranje relativno malog broja velikih jaja. Prije parenja mužjaci mnogih vrsta morskih pasa pokazuju prekopulatorne aktivnosti, kao što je hvatanje ženke zubima za peraje ili tijelo. Time mužjaci pridržavaju ženku i daju joj znak o svojim namjerama. Ugrizi nikada nisu intenzivni kao kod hranjenja i ne uključuju potpunu primjenu sile čeljusti.

Prema reproduktivnim strategijama morski psi se dijele na aplacentalno viviparne, oviparne i placentalno viviparne vrste (Wourms, 1977). Postoji više razvojnih oblika unutar kategorije

aplacentalne viviparne vrste, a podijeljeni su u 3 skupine: 1. oni koji se hrane jajima (oofagija) ili drugim embrijima (adelofagija ili intrauterini kanibalizam), 2. oni koji posjeduju placentalne analoge i 3. oni koji u potpunosti ovise o rezervama žumanjka (lecitotrofija). Vrste koje pripadaju prvim dvijema skupinama se smatraju matrotrofnim, jer se embrij hrani ovuliranim jajima ili uterinim mlijekom (histotrofija). Kod oofagije embriji, koji su nakon nekoliko mjeseci izašli iz jajne kapsule, se hrane ostalim ovuliranim jajima. Adelofagija ili intrauterini kanibalizam predstavlja strategiju kod koje najrazvijeniji embrij u uterusu pojede sve ostale prisutne embrije, kao i dodatno ovulirana jaja (Gilmore i sur., 1983). Ova strategija olakšava razvoj vrlo velikih embrija i priprema ih za predatorski način života (Wourms, 1977). Placentalni analozi se javljaju kod nekih raža. Njih predstavljaju vilozni produžeci uterinog epitela (trofonemata), koji luče histotrof ili uterino mlijeko. Trofonemata obavijaju embrij i mogu ulaziti u sam embrij kroz škržne pukotine. Kako se smanjuju zalihe žumanjka, trofonemata se produžuju i izlučuju uterini sekret bogat proteinima i lipidima (histotrof) (Wourms, 1981).

Kostelj prema svim karakteristikama svoje reproduktivne biologije pripada **aplacentalno viviparnim** vrstama (3. skupina), čiji mladi imaju žumanjčanu vreću i razvijaju se unutar majčinog uterusa (Wourms, 1977), ali se ne formira placentalna veza između embrija i majke već im je za potpuni razvitak neophodan žumanjak. Ovakav tip razvoja je najrasprostranjenija reproduktivna strategija u morskih pasa i nudi zaštitu od predatora kroz duži vremenski period, nego što je to kod oviparnih vrsta.

Oviparne vrste imaju jaja obavijena jajnom ovojnicom, koja odlažu u okoliš. Utvrđena su 2 tipa oviparnosti: produžena (*extended*) i zadržana (*retained*). Gotovo sve vrste imaju produženi oblik viviparnosti, kod kojeg su velika jaja oplođena, obavijena jajnom ovojnicom, odložena u okoliš, a mladi iz njih izlaze i do 15 mjeseci kasnije, što ovisi o vanjskim temperaturama. Gotovo se cijeli reproduktivni razvoj događa izvan majčina tijela. Za drugi tip oviparnosti je specifično da se jaja s ovojnicom zadržavaju u jajovodu i razvoj im se produžuje prije nego što se otpuštaju u okoliš. Jajna ovojnica obično ima posebne nastavke i ljepljive filamente, koji pomažu prihvaćanju za supstrate na kojima se jaja inkubiraju. Ona također i otvrdne nakon što se jaja odlože i štite embrije od predatora. Oviparni embriji su obično manji od viviparnih.

Placentalna viviparnost je treća velika reproduktivna strategija kod morskih pasa. Javlja se tijekom embrionalnog razvoja kada se žumanjčana vreća pričvrsti za zid maternice i s njom formira placentu, a držak žumanjčane vreće formira pupak. Ova se strategija javlja kod 30% vrsta morskih pasa (Hamlett, 1997). Nakon ovulacije, placentalne vrste određeno vrijeme

ovise samo o žumanjku prije nego se formira placenta.

1.1.4. Građa ženskog reproduktivnog sustava

Ženski reproduktivni sustav kostelja sastoji se od parnih ili jednostrukih jajnika i jajovoda, koji su naborom potrbušnice, mezovarijem i mezotubarijem, pričvršćeni za trbušnu šupljinu (Slika 2). Jajnici (Slika 3) su smješteni na prednjem kraju tjelesne šupljine, leđno od jetre. Jajovodi su cjevaste strukture koje su smještene s obje strane kralješnice i protežu se duž tijela. Diferenciraju se u prednji dio (otvor jajovoda ili ostium), oviduktalnu (nidamentalnu ili lupinsku) žlijezdu, te suženi dio (isthmus). Na isthmus se nastavlja maternica (uterus), slijedi vrat maternice (cerviks) i na kraju cijeli sustav završava urogenitalnim sinusom (Hamlett i Koob, 1999). Jajnik i jajovod su smješteni vrlo blizu jedan drugome, ali nisu kontinuirani.

Reproduktivni sustav ženke započinje parnim jajnicima i jajovodima, no kod mnogih odraslih jedinki reproduktivni trakt postaje asimetričan kako se životinja razvija, tj. dolazi do atrofije jedne strane. Uobičajeno je da se kod mnogih viviparnih vrsta morskih pasa u potpunosti razvije samo desni jajnik. Ako postoje oba jajovoda, na svom prednjem kraju se spajaju u ostium. Funkcija jajnika je stvaranje jajnih stanica, te sekrecija hormona. Jajnik se sastoji od jajnih folikula s oocitama i vezivnog tkiva. Kod većine prečnousta je uz jajnik pričvršćen i podupire ga epigonalni organ, no kod kostelja nije zabilježen.

Ostium je prednji ljevkasti otvor jajovoda, čija funkcija je prihvaćanje ovuliranih jajnih stanica iz jajnika.

Oviduktalna žlijezda je specijalizirani dio jajovoda, u kojem se formira ovojnica koja obavija jaja. Također je mjesto moguće oplodnje, iako se ona može dogoditi i u gornjem dijelu jajovoda (Hamlett i sur., 1998). Kod zrelih životinja je promjer ove žlijezde nekoliko puta veći od promjera jajovoda. Pratt (1993) je otkrio da se spremanje sperme u oviduktalnu žlijezdu ženki pojavljuje kod barem 9 vrsta morskih pasa u zapadnom dijelu Sjevernog Atlantika. Smatra se da se spremanje sperme u oviduktalnoj žlijezdi javlja u vrsta kod kojih postoji vremenska razlika između parenja i ovulacije.

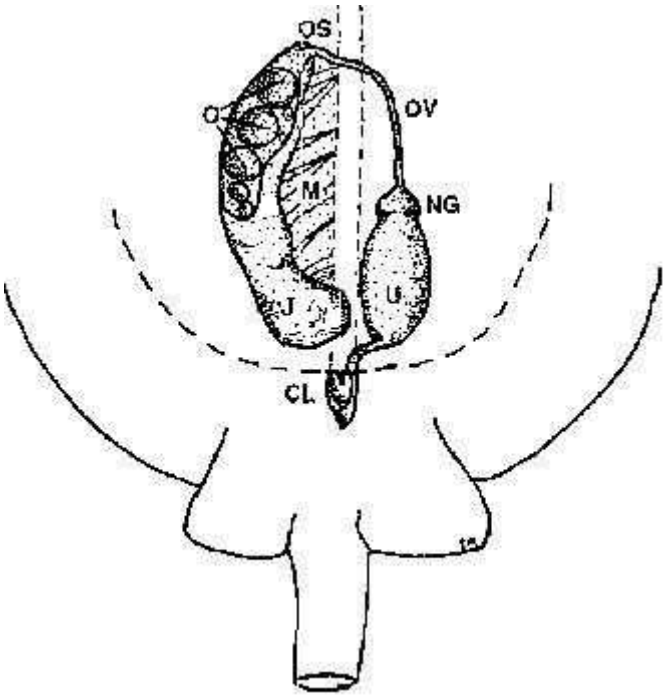
Isthmus se može pojaviti prije proširenja jajovoda u posteriorni dio ili uterus, a moguća funkcija mu je izoliranje sadržaja uterusa od ostatka jajovoda.

Kod viviparnih vrsta, kakvima pripada i kostelj, uterus je dobro razvijen, te je prilagođen zadržavanju jaja i razvoju embrija, dok je kod oviparnih vrsta specijaliziran za stvaranje jajnih

ovojnica (kapsula) i modificiran je za kretanje jajnih kapsula kroz lumen uterusa (Koob i Hamlett, 1998).

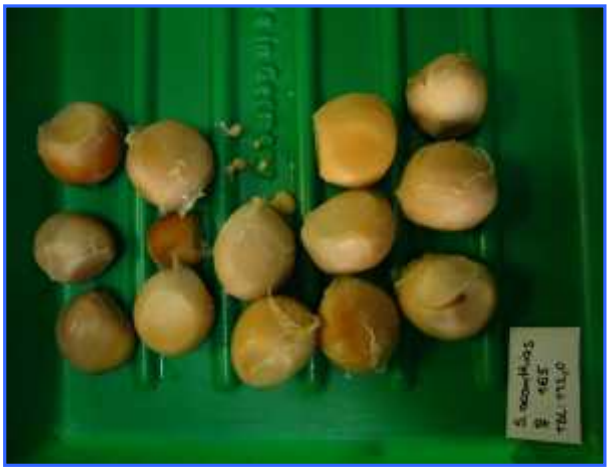
Cerviks se javlja kao suženje na spoju uterusa sa urogenitalnim sinusom. Uterusi, ako su parni, zasebno ulaze u urogenitalni sinus (Hamlett i Koob, 1999). Na spoju dvaju uterusa nastaje proširena komorica, vagina, koja se otvara velikim otvorom u urogenitalni sinus. Kod juvenilnih jedinki vagina je odvojena membranom (himenom), koja postanje tanja i puca kako ženka dostiže spolnu zrelost.

Jaja prečnousta su uglavnom velika i sadrže ogromnu količinu žumanjka, zbog čega je broj proizvedenih jaja relativno malen (Slika 4). Kod viviparnih vrsta jajna ovojnica je vrlo tanka, jer nema potrebe da se zaštiti embrio od predatora. Zbog svoje veličine, jaja prečnousta su telolecitelna i dijeli se samo maleni disk stanica na animalnom polu. Dioba je meroblastička, a dio jaja koji ne sudjeluje u diobi postaje žumanjčana vreća (Slika 5).



Slika 2. Građa ženskog reproduktivnog sustava kostelja: J (jajnik), O (oocite različitog promjera), M (mezovarij), OS (ostium), OV (*oviductus*, jajovod), NG (*nidamental gland*, nidamentalna žlijezda), U (uterus), CL (*cloaca*, kloaka).

Slika 3. Jajnik spolno zrele ženke.



Slika 4. Jaja iste ženke različitih veličina.

Slika 5. Žumanjčane vreće mladih.

1.1.5. Životni ciklus i spolno sazrijevanje kostelja

Tijekom života kostelj najčešće obitava na kontinentalnim i otočnim šelfovima na dubinama od 0 do 900 m. Mužjaci se češće zadržavaju u plitkim predjelima nego ženke, no one mogu rađati u plitkoj vodi. Ova vrsta spada u jednu od najmigratornijih vrsta morskih pasa koja seli u veće dubine kako raste (Jones i Ugland, 2001) ili migrira dalje od obale u vrijeme parenja (Fahy,1989). Mladi ostaju u stupcu vode blizu površine i ne postaju ciljani ribolovni plijen sve dok ne porastu (Beamish i sur., 1982), a jedinke većih dužina i blizu spolne zrelosti odlaze prema dnu i postaju dio bentosa. Životni vijek kostelja je do 40 godina. Spolnu zrelosti

ovi morski psi dostižu kod dužine tijela od 76-88 cm (Jones i Ugland, 2001), kada su stari između 12 i 26 godina.

Reproduktivni ciklus svih prečnousta je vrlo složen i do sada nije do kraja razjašnjen. Uključuje ciklus jajnika (ovarijski ciklus) i gestacijski period. Ovarijski ciklus objašnjava koliko često ženka stvara određeni broj zrelih oocita, a zatim dolazi do ovulacije jaja. Parenje se događa jednom u dvije godine i to vjerojatno zimi, nakon čega slijedi dijapauza do proljeća kada nastupaju povoljniji okolišni uvjeti, ovulacija i oplodnja. Za to vrijeme je sperma smještena u oviduktalnoj žlijezdi.

Gestacijski period se objašnjava kao vrijeme proteklo između oplodnje i poroda. Kod ženki kostelja je zabilježen gestacijski period u trajanju od gotovo 2 godine (18-24 mjeseca, prema nekim autorima 22-23 mjeseca), što je najduže vrijeme trajanja trudnoće ikada zabilježeno među svim vrstama morskih pasa (Ketchen, 1972; Nammack i sur., 1985). Jones i Green (1977) pišu da se ovulacija i gestacijski period ženki kostelja zbivaju istovremeno, tj. jaja u jajniku se razvijaju u isto vrijeme kada i mladi u uterusu.

Smatra se da se porod odvija u estuarijima i zaljevima (Richards, MSc Thesis, 2004) ili u srednje dubokim vodama, dubina 90-200 m (Ketchen, 1986). Veličina mladih kod poroda je 20-33 cm (Jones i Ugland, 2001).

Ženke prečnousta se smatraju **spolno zrelima** ako postoje vidljivi znaci trenutne ili prijašnje trudnoće ili dokaz da će ženka biti spremna za parenje unutar kratkog vremenskog perioda.

Kod ženki koje prethodno nisu bile trudne, spolna zrelost se može utvrditi proučavanjem stupnja razvoja jaja u jajniku i veličine jajovoda. Zrele ženke će u jajniku imati dobro razvijena jaja bogata žumanjkom, a jajovod im se počinje širiti i odvajati od zida trbušne šupljine. Ženke koje su prethodno bile trudne će imati prošireni jajovod s proširenom oviduktalnom žlijezdom i dobro razvijeni uterus. Bass i sur. (1973) definiraju zrele ženke morskih pasa kao one koje imaju jasno vidljiva jaja u jajniku i prošireni uterus.

Jones i Green (1977) su u svojim reproduktivnim studijama vrste *Squalus acanthias* definirali **3 stadija zrelosti ženki**: 1) nezrele ženke (*immature*)- uterusi nitasti, nema vidljivih jaja u razvoju unutar uterusa, malene oocite, 2) ženke u fazi sazrijevanja (*maturing*) uterusi suženi, slabo vaskularizirani, više-manje vidljiva jaja u razvoju i 3) zrele ženke (*mature*)- prisutni embriji (osim u periodu neposredno nakon poroda), uterusi plosnati i dobro vaskularizirani. Oni su također definirali i 3 stadija zrelih ženki: 1) one između dviju trudnoća, 2) one s jajima u uterusu obavijenim ovojnicom (*candles*) i 3) one sa slobodnim embrijima u uterusu.

Obično se koristi veličina oviduktalne žlijezde ili drugih struktura ženskog reproduktivnog sustava da bi se utvrdila veličina kod koje životinja postaje spolno zrela. Uspoređuje se

veličina ili težina jajnika ili veličina oviduktalne žlijezde, uterusa ili drugih reproduktivnih struktura s dužinom tijela životinje (TBL-*total body length*) da bi se utvrdilo postoji li raspon veličina kod kojeg se spomenute strukture počinju ubrzano razvijati.

Postoji vrlo ograničena količina podataka o razmnožavanju kostelju u Atlantiku (Jones i Ugland, 2001; Henderson i sur., 2002), Pacifiku (Ketchen, 1972), Crnom moru (Demirhan i Seyhan, 2005; Avsar, 2000) i istočnom dijelu Sredozemnog mora (Chatzispyrou i Megalofonou , 2005).

1.1.6. Plodnost

Plodnost prečnousta obično se određuje jednostavnim brojanjem embrija (Slika 6) i velikih jaja (Slika 7) unutar uterusa viviparnih vrsta.

Kod mnogih vrsta prečnousta postoji pozitivan odnos između plodnosti i veličine ženke. Kako ženke postaju veće u dužinu i širinu, to povećava i prostor unutar tjelesne šupljine i tu se smještaju mladi. Takav pozitivni linearni odnos je zabilježen kod mnogih vrsta morskih pasa, uključujući i kostelja (Chen i sur., 1988; Hanchet, 1988; Peres i Vooren, 1991). Prema Lipeju i sur. (2004) morski psi u Jadranskom moru mogu imati između 1 i 135 mladih, iako većina ima 2-20 mladih.

Slika 6. Mladi iz uterusa jedne ženke.

Slika 7. Zrela jaja iz jajnika jedne ženke.

1.1.7. Razvoj mladih

Johnes (2001) je razvoj embrija u uterusu podijelio u 3 stadija :

1. stadij (*candled embryos*)- oplođena jaja u uterusu, okružena zaštitnom ovojnicom.

2. stadij (*free-living*)- zaštitna ovojnica se raspukla, u uterusu se nalaze slobodni, vrlo maleni embriji s velikom žumanjčanom vrećom.

3. stadij (*full term embryos*)- potpuno razvijeni embriji vidljivi u uterusu, žumanjčana vreća je u potpunosti apsorbirana, a pupak (umbilikalna pukotina) je više-manje zatvoren.

Embriji kostelja dok rastu troše žumanjak iz svoje žumanjčane vreće i ona s vremenom postaje sve manja (Slike 8 i 9).

Slika 8. Embrij u ranoj fazi razvoja s većom žumanjčanom vrećom.

Slika 9. Embrij u kasnijoj fazi razvoja s manjom žumanjčanom vrećom.

Slika 10. Pupak embrija (označen strelicom).

Prije samog poroda sadržaj žumanjčane vreće je potrošen, a mladi su spremni za samostalan život. Pupak vidljiv na trbuhu jednog od embrija, nakon što se u potpunosti potrošila žumanjčana vreća, prikazan je na slici 10.

1.2. Morski psi u Jadranskom moru

U Jadranu je zabilježeno 28 vrsta morskih pasa, a raspoređeni su unutar 5 redova, 14 porodica i 25 rodova. Danas su najčešće vrste: *Squalus acanthias, Galeus melastomus, Scylorhinus canicula, S. stellaris, Mustelus mustelus, M. asterias, Etmopterus spinax* i *Prionace glauca.*
Morski psi Jadranskog mora su općenito manjih dužina i dostižu spolnu zrelost kod manjih dužina tijela nego što je to zabilježeno u studijama provedenim u drugim područjima. Tijekom 20. st. brojnost mnogih vrsta morskih pasa u Jadranu se značajno smanjila, budući da su gotovo izlovljene ili same vrste ili njihov plijen (Soldo, 2003).
Kostelj (*Squalus acanthias*) je jedna od najzastupljenijih vrsta u Jadranskom moru. Prema Jardasu (1996), češći je u sjevernom i srednjem Jadranu. Postoji mogućnost da ga se zamijeni s drugom srodnom vrstom, *Squalus blainvillei*, koji ima veću glavu i nedostaju mu bijele točke na gornjem dijelu tijela. Kostelje ribari uglavnom love mrežama ili parangalima kao ciljani ili usputni ulov uz ciljane koštunjače. U Jadranskom moru do sada nisu rađena detaljna istraživanja o reproduktivnoj biologiji kostelja. Jedini podaci o biologiji vrste postoje u radu od Županovića (1961), dok je detaljnije obrađena ishrana kostelja u radu od Jardasa (1972). U novije vrijeme su sva istraživanja o biologiji hrskavičnjača zasjenjena proučavanjem komercijalno važnijih koštunjača.

1.3. Ugroženost i zaštita morskih pasa

Brojnost morskih pasa se drastično smanjuje, što je posljedica raznih antropogenih utjecaja. Negativni utjecaji pretjeranog izlovljavanja i uništavanja morskih staništa doveli su do smanjenja brojnosti populacija, promjena u demografskih strukturama populacija i biološkim ulogama morskih pasa u ekosistemu mora. Stoga je razvijen akcijski plan za zaštitu hrskavičnjača u Sredozemnom moru, u kojem se posebice naglašava potreba za zaštitom i primjerenim upravljanjem preostalih populacija (UNEP MAP RAC/SPA 2003).

Podaci od IUCN-a (*International Union for Conservation of Nature*) o statusu morskog psa kostelja ukazuju na smanjenje njegove ukupne biomase u Zapadnom Atlantiku za čak 95%. Populacije u Sredozemnom i Crnom moru su također ugrožene. Za Crno More je u periodu 1981-1992 zabilježen pad populacije za više od 60%. Kostelj je globalno klasificiran kao osjetljiva vrsta (VU-*vulnerable*) i vrsta vrlo osjetljiva na prelov, dok je sredozemna subpopulacija označena kao ugrožena (EN-*endangered*) (IUCN 2009). U Crvenoj knjizi morskih riba Hrvatske kostelj je opisan unutar kategorije NT (*Near Threatened Species*), gotovo ugrožene svojte (Jardas i sur., 2008). Podaci za Jadransko more su dosta zastarjeli i potrebno je ponovno provesti istraživanja i prikupiti podatke o fluktuacijama populacija i ugroženosti kostelja.

Najveću antropogenu opasnost za morske pse predstavlja ribolov. Morski psi su osjetljiviji na izlov nego koštunjače budući da imaju dulji period spolnog sazrijevanja, nisku plodnost, produljeni gestacijski period i nisku stopu reprodukcije. Mnoge vrste morskih pasa se odvajaju prema spolu i veličini u skupine, te je zbog toga njihovo iskorištavanje posebno štetno u područjima gdje se rađaju mladi. Lovi ih se zbog mesa, kože, hrskavice, ulja i drugih produkata. Osim toga, smanjen ulov koštunjača ribari danas kompenziraju povećanim ulovom morskih pasa. Dosta česta, morski psi nisu ciljane vrste ulova, pa se oko 50% morskih pasa ulovi slučajno tijekom lova na druge vrste, kao što su tune i sabljarke. U svijetu je kostelj komercijalno najzastupljenija vrsta kod ulova.

Morske pse osim izlova ugrožava i onečišćenje okoliša, globalno zatopljenje, te uništavanje i nestanak pogodnih staništa. Toksične kemikalije mogu biti posebno opasne budući da ih životinje unose u svoj organizam i prenose ih duž hranidbenog lanca. Toksini se akumuliraju u svakom pojedinom organizmu u hranidbenom lancu i tako dostižu svoj maksimum koncentracije na vrhu hranidbenog lanca. Primjer za to je živa, koja se akumulira u mišićnome tkivu dugoživućih vršnih predatora, kao što su morski psi, tune i sabljarke.

Ugrožene vrste morskih pasa u Jadranu su: *Echinorhinus brucus, Oxynotus centrina, Squatina oculata, S. squatina, Carcharias taurus, Odontaspis ferox, Carcharodon carcharias, Lamna nasus, Carcharhinus plumbeus, Sphyrna zygaena* (Lipej i sur. 2004).

1.4. Ciljevi istraživanja

Cijeli Jadran, pogotovo njegov sjeverni dio je područje koje se intenzivno izlovljava, a kostelj je jedna od najčešće izlovljavanih vrsta ribe. Unatoč tome, nisu poznati podaci o biologiji i ekologiji vrste, populacijskom statusu, ukupnom ulovu i održivim razinama iskorištavanja kostelja. Jedino preliminarno istraživanje o ulovu kostelja u koćarice (Lazar i sur. 2008) pokazuje da se love velike odrasle životinje, većinom ženke, dok se preko 54% ulova odbacuje i vraća u more. Da bi se primjereno zaštitile postojeće populacije u Jadranu potrebno je poznavati osnovne biološke karakteristike vrste, posebice razvojnu biologiju ženki koje se najviše love i koje su osnova održanja populacije.

Iz navedenog proizlazi da je cilj ovog istraživanja prikupljanje podataka o reproduktivnoj biologiji ženki vrste *Squalus acanthias* u istočnom Jadranu. Pomoću morfometrijskih i histoloških metoda pokušat će se doći do jasnijih saznanja o njihovom životnom ciklusu, veličini pri kojoj postaju spolno zrele i njihovoj plodnosti.

2. MATERIJAL I METODE

2.1 Područje istraživanja

Jadransko more je poluzatvoreni bazen Sredozemnog mora s kojim je povezan Otranskim vratima širokim 40 NM i dubokim 741 m. Dijeli se na sjeverni, srednji i južni Jadran, a proteže se na oko 800 km geografske dužine, te 100 do 200 km geografske širine (Fonda, Umani i sur., 1990).

Površina Jadranskog mora, uključujući otoke, iznosi 138 595 km^2 , što je oko 4,6 % ukupne površine Sredozemnog mora (Buljan i Zore-Armanda, 1971).

Jadran spada u plitka mora. Većina dna, 102 415 km^2 ili 73% površine, je pliće od 200 m. Dubina postupno opada od juga prema sjeveru. Jabučka kotlina (273 m) i južna Jadranska kotlina (1330 m) su najdublja područja, dok je sve ostalo pliće od 200 m, u prosijeku 231 m. Stoga je većina dna smještena na kontinentalnom šelfu, a značajno manji dio dna pripada kontinentalnoj padini (morsko dno ispod 200 m dubine) (Buljan i Zore-Armanda, 1971).

Muljeviti i pjeskoviti sedimenti prekrivaju većinu morskog dna, tj. prisutni su gotovo na cijelom južnom i sjevernom dijelu, manjim područjima srednjeg Jadrana, kao i u Tršćanskom zaljevu i uskom pojasu duž sjeveroistočne strane talijanske obale (Peres i Gamulin-Brida, 1973).

Salinitet jadranskog bazena je prilično visok, s prosječnom vrijednošću od 38,6‰, koja opada od juga prema sjeveru i od otvorenog mora prema obali. Ta vrijednost je niža od one u istočnom dijelu Sredozemnog mora (39‰), a viša od vrijednosti u zapadnom dijelu Sredozemnog mora (37‰). Varijacije saliniteta javljaju se tijekom godine, a također postoje i varijabilnosti koje traju i po nekoliko godina. Uzrok tome je izmjena vodenih masa između Jadranskog i istočnog Sredozemnog mora. Ta specifičnost vjerojatno uzrokuje pojavljivanje nekih rijetkih vrsta u Jadranu (Buljan i Zore-Armanda, 1971; Peres i Gamulin-Brida, 1973).

Jadran je relativno toplo more. Najdublja područja su gotovo uvijek toplija od 11-12°C. Ljeti temperatura površinske vode iznosi između 22-25°C, padajući u blizini dna do 11.2°C (Jabučka kotlina) ili 12°C. Zimi razlika u temperaturi između sjevernog i južnog Jadrana iznosi 8-10°C. U nekim obalnim područjima sjevernog i zapadnog Jadrana voda može biti hladnija od 11°C (Buljan i Zore-Armanda, 1971).

Gibanje površinskih voda je kružno i teče u smjeru obrnutom od kazaljke na satu. Vodene mase ulaze iz istočnog dijela Sredozemnog mora, teku duž istočne obale (sjeverozapadni tok),

a vraćaju se zapadnom obalom (jugoistočni tok). Postoje i transverzalni ogranci, koji se odvajaju od sjeverozapadnog toka i priključuju ostalom dijelu toka. Javljaju se zbog velikih sezonskih razlika u temperaturi i salinitetu.

S obzirom na primarnu produkciju, Jadransko more je niskoproduktivno (oligotrofno), produktivnije uz obalnu nego u području otvorenog mora. Godišnja produkcija ugljika iznosi 9 milijuna tona. Niska razina organske produkcije posljedica je manje koncentracije hranjivih soli u morskoj vodi, posebno fosfata i nitrata. Samo sjeverno područje je visokoproduktivno i smatra se najproduktivnijim dijelom Sredozemnog mora. Najviša primara produkcija zabilježena je u proljeće zahvaljujući većem priljevu vode s kopna, obogaćenom mineralnim tvarima.

Prema vrlo grubim procjenama u Jadranu obitava između 6000 i 7000 biljnih i životinjskih vrsta, što ga svrstava u vrstama vrlo bogata mora. Na beskralješnjake otpada 50-70% od ukupnog broja vrsta. Ribljih vrsta i podvrsta je zabilježeno oko 430, što je oko 70% poznatih vrsta riba u Sredozemnom moru. Prevladavaju koštunjače, a manjim dijelom su prisutne hrskavičnjače (54 vrste) (Jardas, 1996). Većina ribljih vrsta i podvrsta pripada Mediteranskoj i Mediteransko-atlantskoj biogeografskoj regiji. Prisutne su također i kozmopolitske vrste, koje su široko rasprostranjene u toplim i umjereno toplim morima. Takvim vrstama pripadaju epi- i mezopelagički morski psi i tune. U ovome biosustavu najveći dio biomase čine malene pelagičke vrste riba: srdela, inćun, papalina, skuša.

Ako se uzmu u obzir endemične biljne i životinjske vrste, Jadransko more predstavlja specifičnu biogeografsku jedinicu Sredozemnog mora.

2.2 Terenska istraživanja

Terenska istraživanja su provedena u istočnom Jadranu na području Lošinjskog akvatorija (Slika 11). Ribarske koće su kretale iz matične luke Mali Lošinj, a istraživano područje na kojem se ribarilo se nalazi između 44°32’ i 43°44’ sjeverno, te 15°05’ i 14°40’ istočno, na dubinama 45-84 m.

Istraživači su boravili na ribarskim brodovima koćaricama i uzimali uzorke tijekom cijele godine, u periodu od 2005. do 2007. godine, za vrijeme profesionalnog ribarenja. Životinje su lovljene koćarskim mrežama na ukupno 5 brodova: Troskot, Fortuna, Adriana, Calypso i

Maestrale. Mreže su potezane uvijek na istom području, svakih 5-6 sati, u ovisnosti o vremenskim uvjetima, te brzinom od 1.9 – 2.5 čvorova.

Slika 11. Karta istraživanog područja.

Kostelji su determinirani i izdvojeni od ostalih vrsta ulovljenih riba (Slika 12). Na brodu su izvršena morfometrijska mjerenja životinja (Slika 13), te im je određen spol.

Slika 12. Izdvajanje kostelja od ostale ribe.

Slika 13. Morfometrijska obrada životinja. na brodu.

Ženkama kostelja su izolirane gonade i mladi, ako su bili prisutni.

Uzorci tkiva su fiksirani u 10% formaldehidu, označeni rednim brojevima i maksimalnim dužinama tijela životinje, te pospremljeni do daljnje obrade u laboratoriju.

2.3 Laboratorijska istraživanja

U laboratoriju je izvršena morfometrijska i histološka obrada gonada i jaja u njima, te prikupljenih embrija.

Od morfometrijskih mjerenja izmjerena je dužina (Slika 14), širina i težina jajnika. Iz jajnika su izolirana sva jaja vidljiva okom, koja su zatim izbrojana i izmjeren je njihov promjer. Promjer jaja je mjeren pomičnom mjerkom (Slika 15). Embriji, ako su bili prisutni, su izbrojani, određen im je spol i izmjerena dužina (Slika 16) i težina.

Slika 14. Mjerenje dužine jajnika.

Slika 15. Mjerenje promjera jaja pomičnom mjerkom.

Slika 16. Mjerenje dužine embrija.

Spol embrija određen je prema vanjskim spolnim karakteristikama životinja, odnosno prisutnosti/odsutnosti muških kopulatornih organa (klaspera) (Slika 17 i 18).

Slika 17. Mladi mužjak s vidljivim muški kopulatornim organima (klasperima).

Slika 18. Mlada ženka bez klaspera.

Drugi dio laboratorijskih istraživanja se odnosio na histološku obradu gonada. Kod manjih gonada, koje nisu imale velika razvijena jaja, uzet je komadić tkiva i uklopljen u paraplast.

Paraplast je materijal koji se sastoji od parafina pomiješanog s plastičnom masom. Sam parafin je mješavina ugljikovodika koja se koristi kao materijal za prožimanje i uklapanje tkiva prilikom izrade histoloških preparata.

Tkivo se prije uklapanja u paraplast priprema na slijedeći način:

- 70% alkohol – dva dana
- 80% alkohol – pola sata
- 96% alkohol – jedan sat
- 100% alkohol – dva puta po jedan sat

Tkivo u jednoj od koncentracija alkohola prikazano je na slici 19.

Slika 19. Uzorci tkiva u jednoj od koncentracija alkohola.

Na ovaj način je iz tkiva izdvojena voda, odnosno dehidrirano je. Tkivo se preko noći ostavi u kloroformu. Sljedeći dan se tkivo uklapa u paraplast pomoću papirnatih lađica . Da bi se tkivo što bolje uklopilo, cijeli postupak se odvija u termostatu pri temperaturi od oko 60°C, pri kojoj je paraplast u tekućem stanju. Prilikom uklapanja tkivo prolazi slijedeće otopine:

- kloroform-paraplast u omjeru 1:1 – pola sata
- paraplast I – pola sata
- paraplast II – pola sata

Nakon toga tkivo se uklapa u čisti paraplast i stavlja u papirnate lađice (Slika 20), koje služe kao kalup. Tako dobiveni blokovi se hlade do drugog dana, vade iz lađica i lijepe na drvene dašćice, na kojima se označava broj uzorka. Gotovi parafinski blokovi (Slika 21) se režu pomoću rotacijskog mikrotoma na debljinu 8-10 µm. Prerezi se stavljaju na vodenu kupelj zagrijanu na oko 30°C kako bi se izravnali, a zatim se pomoću kista prebacuju na predmetno stakalce prethodno namazano glicerin-bjelanjkom (kako bi se prerez bolje zalijepio za

podlogu). Za svaki uzorak se radi po nekoliko prereza, a zatim se odabire stakalce s boljim prerezom, nakon čega slijedi bojanje histološkom bojom.

Slika 20. Papirnate lađice s uklopljenim tkivom u paraplast.

Slika 21. Blokovi paraplasta s uklopljenim tkivom.

Prerezi dobiveni na mikrotomu prije bojanja se moraju deparafinirati i rehidrirati. Stakalca sa prerezima se provlače kroz slijedeće otopine:

- ksilol I – 15 minuta
- ksilol II – 15 minuta
- 100% alkohol – 5 minuta
- 96% alkohol – 5 minuta
- 70% alkohol – 5 minuta
- destilirana voda – dva puta po 5 minuta

Nakon deparafiniranja i dehidriranja slijedi bojanje preparata. Hemalaun eozin je najčešće primjenjivana kiselo-bazična boja za bojenje histoloških preparata. Hemalaun boji plavo-ljubičasto kisele strukture u stanici, dok eozin boji crveno-ružičasto bazične strukture u stanici. Bojenje hemalaun eozinom se izvodilo na slijedeći način:

- hemalaun – 8 minuta
- tekuća voda – dva puta po 5-10 minuta

- eozin – 2-4 minute
- destilirana voda – dva puta po 5 minuta

Obojani preparati se moraju ponovno dehidrirati prije uklapanja u kanada balzam. Postupak je sljedeći:

- 70% alkohol – 5 minuta
- 80% alkohol – 5 minuta
- 96% alkohol – 5 minuta
- 100% alkohol – 5 minuta
- ksilol III – 5 minuta
- ksilol IV – 5 minuta

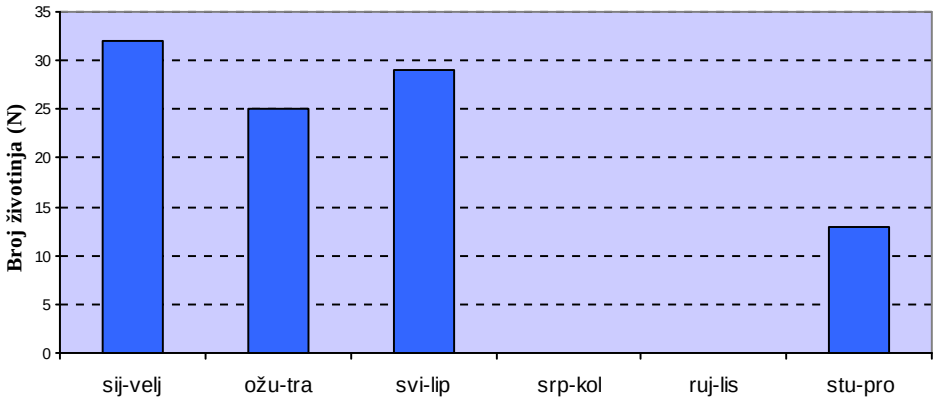
Dehidrirani preparati se uklapaju u kanadski balzam i prekrivaju pokrovnim stakalcem. Nakon sušenja od nekoliko dana, preparati su trajni i spremni za mikroskopiranje.
Trajni preparati su pregledani pod svjetlosnim mikroskopom u programu Lucia G 4.80 i fotografirani kamerom Nikon DXM1200. Izmjeren je i zabilježen promjer svih jajnih folikula, koji su vidljivi na jednom histološkom prerezu.

3. REZULTATI

3.1 Područje istraživanja i sezona ulova životinja

Tijekom cijele godine koćaricama su lovljene životinje vrste *Squalus acanthias*, u razdoblju od 2005. do 2007. godine. Iz ulova su izdvajane samo ženke, a ukupno je obrađeno 100 životinja.

Iako su promatrači na brodovima prikupljali životinje tijekom svih mjeseci u godini, ulov kostelja tijekom ljetnih mjeseci (srpanj – listopad) je izostao (Slika 22). Najveći broj životinja je uhvaćen u periodu od siječnja do lipnja, a najmanji od studenog do prosinca.



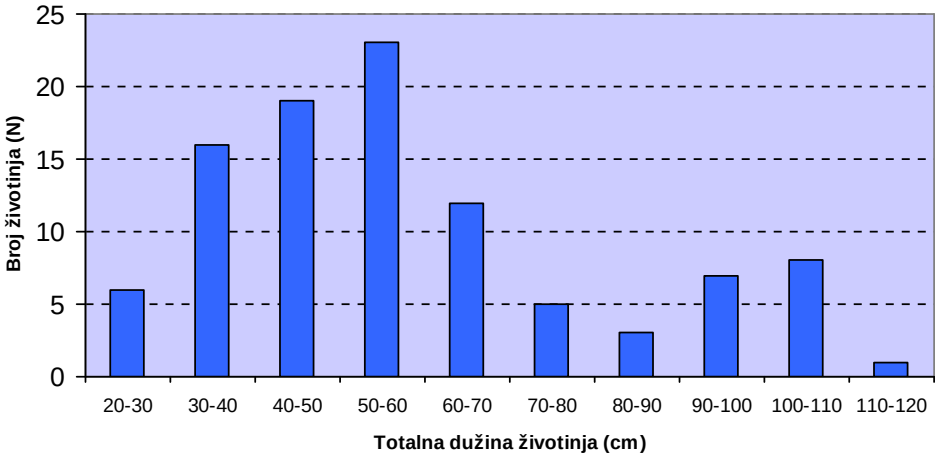
Slika 22. Vremenska raspodjela nalaza životinja (N=100).

3.2 Morfometrijska mjerenja

3.2.1 Mjerenja ženki kostelja i njihovih gonada

Izmjerena totalna dužina životinja (TBL) se kretala od 26.10 do 112.00 cm (srednja vrijednost 58.45 ± 22.59). Iako su uhvaćene životinje bile velikog raspona dužina, najveći broj prikupljenih jedinki je bio dužine između 30-60 cm (59.0%, Slika 23).

Raspon težina ženki kretao se između 80.00 i 6230.00 g (srednja vrijednost 1196,72 ± 1725,715).



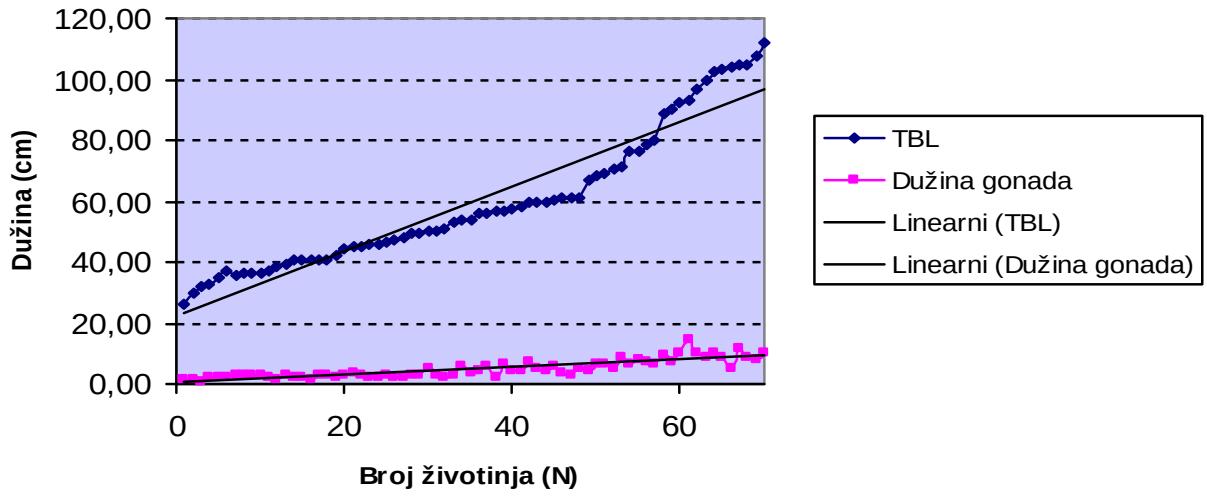
Slika 23. Veličinska raspodjela prikupljenih ženki kostelja (N=100).

Gonade su izmjerene u 70 ženki. Prikaz rezultata prikazan je u tablici 1. Od izmjerenih morfometrijskih mjera jajnika najviše su varirale težine koje su se kretala u rasponu između 0.00 i 164.36 g (srednja vrijednost 11.98 ± 32.85).

Tablica 1. Rezultati morfometrijskih mjerenja gonada (N=70).

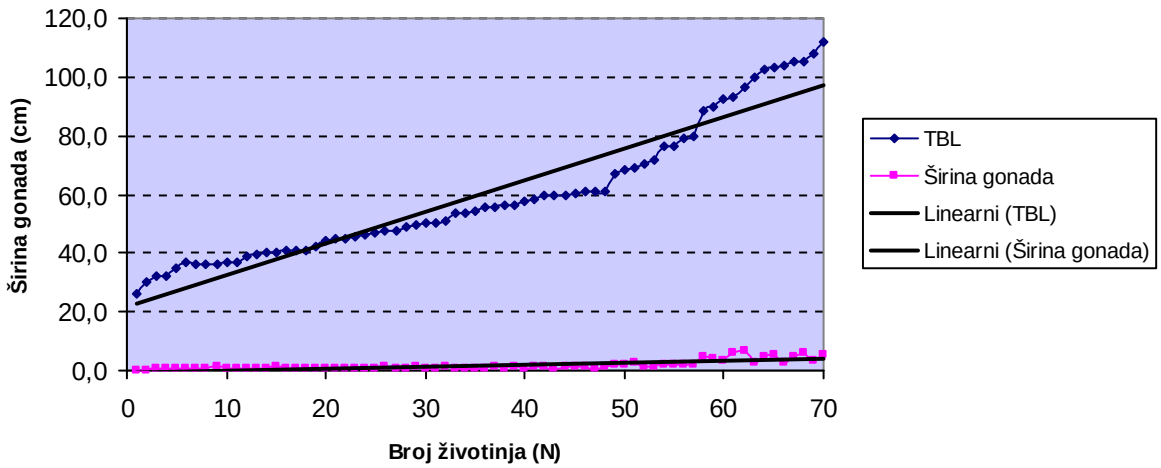
Dužina gonada(cm)	
Minimum	0.80
maskimum	14.60
srednja vrijednost	4.81 ± 3.00
Širina gonada (cm)	
minimalna	0.30
maskimalna	6.80
srednja vrijednost	1.70 ± 1.59
Težina gonada (g)	
Minimum	0.00
maksimum	164.36
srednja vrijednost	11.98 ± 32.85

Uspoređena je dužina ženki s dužinom njihovih gonada, što je prikazano na slici 24. Vidljiva je pozitivna korelacija između navedena dva parametra, odnosno s porastom dužine ženke povećava se i dužina gonada.



Slika 24. Usporedba dužina ženki i dužina njihovih gonada (N=70).

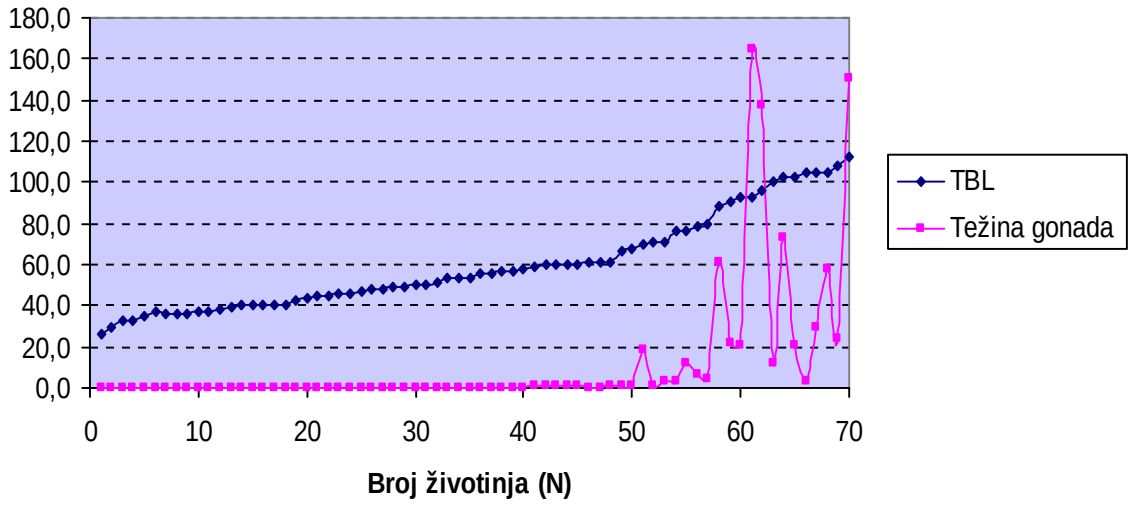
Usporedbu dužina ženki i širina njihovih gonada prikazuje slika 25. Pokazalo se da također postoji pozitivna korelacija između dužina ženki i širina njihovih gonada, no gonade se u širinu povećavaju nešto sporije nego u dužinu.



Slika 25. Usporedba dužina ženki (TBL) i širina njihovih gonada (N=70).

Također je uspoređena dužina ženki s težinom njihovih gonada (Slika 26). Slično kao i kod usporedbe sa širinom i dužinom gonada, težina gonada također pokazuje pozitivan rast s porastom dužina ženki.

Iz sve tri slike (24, 25, 26) vidljivo je da pri veličinama od 60-65 cm dužine tijela dolazi do naglog rasta gonada, tj. jajnika što se može smatrati znakom spolnog sazrijevanja.



Slika 26. Usporedba dužine tijela ženki i težina njihovih gonada.

3.2.3 Mjerenja jaja iz jajnika

Iz jajnika 21 ženke izmjeren je promjer svih makroskopski izoliranih jaja (Tablica 2). Raspon srednjih vrijednosti promjera kretao se od 5.15 do 31.67 mm (minimalni promjer 1.78 mm; maksimalni 35.98 mm). Najmanji broj jaja (N) po jajniku ženke iznosi 5, dok je u jajniku dviju ženki pronađeno maksimalno 28 jaja (srednja vrijednost 16.80 ± 6.45). Više od polovice obrađenih jajnika (52.4%) je sadržavalo jaja najmanjeg veličinskog razreda (< 10 mm).

Jaja su prema veličini podijeljena u 3 skupine, te je zatim prikazana njihova brojnost po mjesecima tijekom godine (Tablica 2). Većina jaja spada u skupinu prosječne veličine 1 do 20 mm. Najveći broj ženki s vidljivim jajima u jajniku je pronađen u veljači i svibnju, dok je najmanji broj bio u siječnju i ožujku.

Tablica 2. Prosječni promjer jaja (mm) izoliranih iz jajnika ženki prikazan po skupinama u ovisnosti o veličini tijekom godine.

	Prosječni promjer jaja (mm)			**Broj ženki s jajima (N)**
	< 1 mm	**1 – 20 mm**	**> 20 mm**	
Siječanj		1		1
Veljača		6		6
Ožujak			1	1
Svibanj		5	1	6
Studeni		2		2
Prosinac		3	2	5

Tablica 3. Srednja vrijednost i min-mak promjer jaja izoliranih iz jajnika, svrstani prema veličinama (N-ukupan broj jaja po jajniku; podjela prema Demirhan i Seyhan 2006).

Broj ženki(N)	**Promjer izoliranih jaja iz jajnika**		
	< 10 mm	**10 -20 mm**	**> 20 mm**
1	5.34 (4.01-6.84;N=13)		
2		11.05 (3.86-30.76;N=19)	
3	7.74 (2.30-13.70;N=15)		
4	5.15 (3.76-7.92;N=16)		
5			26.00 (6.14-35.98;N=13)
6	7.58 (3.27-14.41;N=24)		
7	5.20 (2.63-8.20;N=21)		
8		16.54 (2.55-23.52;N=20)	
9	6.92 (4.2-8.72;N=13)		
10		10.19 (3.58-19.86;N=10)	
11	8.61 (2.80-11.98;N=21)		
12	4.84 (1.78-11.88;N=28)		
13	8.43 (1.78-11.88;N=28)		

Tablica 3. Nastavak

Broj ženki(N)	Promjer izoliranih jaja iz jajnika		
	< 10 mm	**10 -20 mm**	**> 20 mm**
14		10.17 (8.92-11.68;N=5)	
15	8.70 (3.37-15.45;N=16)		
16			24.47 (22.21-26.26;N=15)
17	7.40 (4.12-15.00;N=9)		
18			31.67 (30.50-33.50;N=7)
19		12.61 (2.35-24.96;N=26)	
20			28.23 (26.40-29.54;N=18)
21		17.68 (3.75-27.02;N=16)	

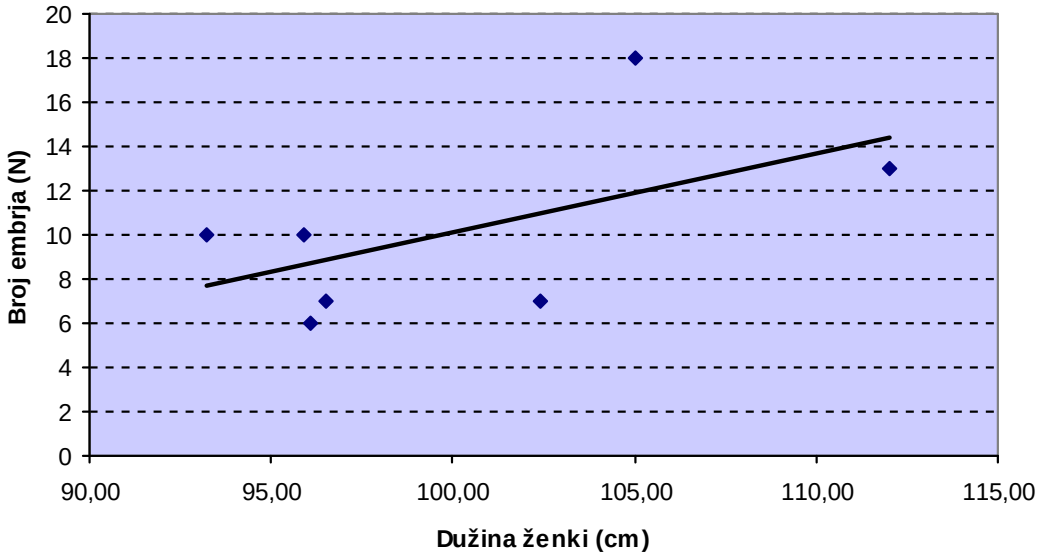
3.2.4 Mjerenja embrija i određivanje spola

Embriji su pronađeni u uterusu 7 ženki. Najveći zabilježeni broj embrija po ženki bio je 18, najmanji 6 (srednja vrijednost 10.14 ± 4.22), a ukupno je pronađen 71 embriji. Omjer spolova, temeljen na vanjskim karakteristikama spolnih organa embrija, bio je više u korist ženki i iznosi 1.3 : 1. Samo su dvije ženke imale veći broj embrija muškog spola, dok je jedna je ženka imala jednak broj embrija oba spola u svom uterusu (Tablica 4).

Tablica 4. Broj embrija po ženki (N) i omjer spolova embrija.

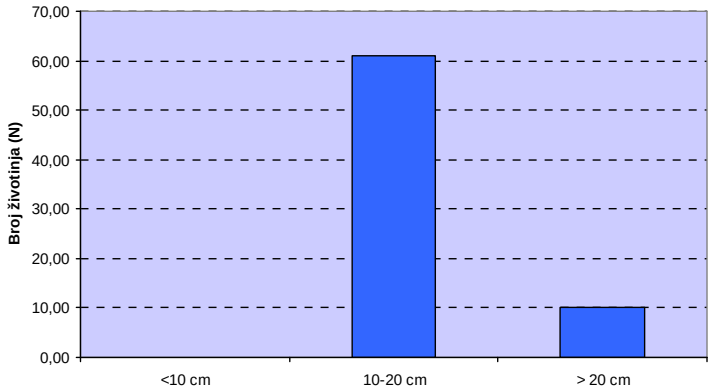
Broj ženki	Broj embrija (N)	Mužjaci (N)	Ženke (N)	Omjer spolova
1	10	3	7	1 : 2.3
2	13	6	7	1 : 1.2
3	7	5	2	2. 5 : 1
4	18	6	12	1 : 2
5	7	4	3	1.3 : 1
6	10	4	6	1 : 1.5
7	6	3	3	1 : 1
Ukupno:	**71**	**31**	**40**	**1 : 1.3**

Brojnost embrija (N) je uspoređena s dužinom ženki u čijem su uterusu nađeni i zamijećena je pozitivna korelacija između ta dva parametra (Slika 27).



Slika 27. Usporedba dužina ženki (cm) s brojem embrija (N).

Raspon dužina embrija se kretao između 12.20 i 21.50 cm (srednja vrijednost 15.85 ± 2.56) (Tablica 4). Podijeljeni su u 3 skupine prema veličini (< 10 cm, 10-20 cm, > 20 cm, prema Demirhan i Seyhan, 2006). Najviše embrija je svrstano u veličinsku skupinu od 10 do 20 cm, dok embriji s dužinom tijela manjom od 10 cm nisu zabilježeni (Slika 28). Prikazane su i dužine embrija tijekom mjeseci u godini (Tablica 5).

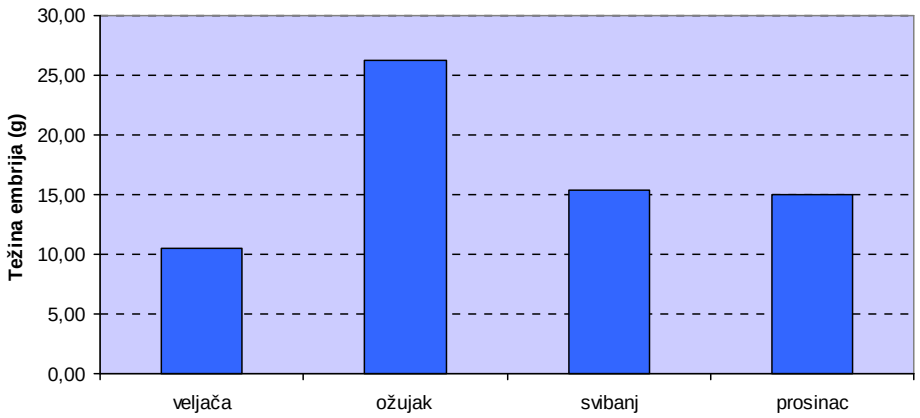


Slika 28. Podjela embrija u skupine prema veličini (prema Demirhan i Seyhan 2006).

Tablica 5. Dužine tijela embrija tijekom godine.

Dužine embrija	**veljača**	**ožujak**	**svibanj**	**prosinac**
Broj životinja (N)	25	10	20	16
Najmanja dužina (cm)	13.20	20.00	14.30	12.20
Najveća dužina (cm)	15.50	21.50	19.20	18.10
Srednja vrijednost (cm)	14.05 ± 0.79	20.60 ± 0.52	16.40 ± 1.75	14.98 ± 2.00

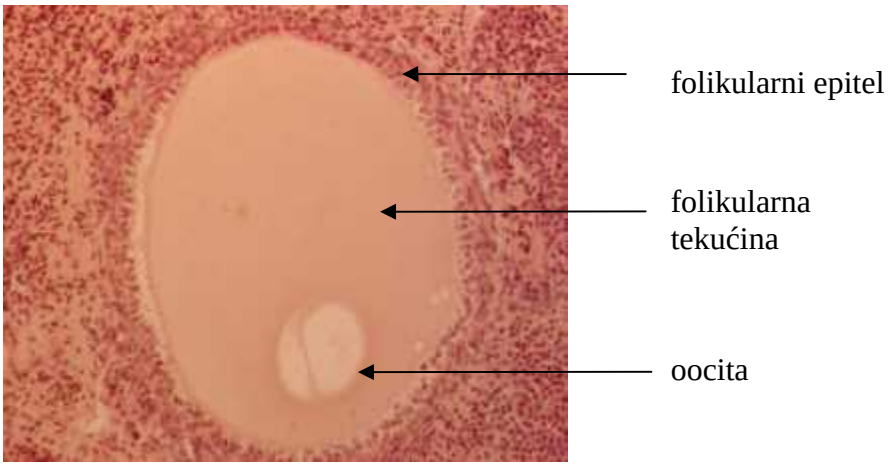
Težina embrija je varirala između 5.96 i 28.13 g (srednja vrijednost 14.23 ± 6.23). U ožujku su zabilježeni embriji najveće težine, dok je u preostalom dijelu godine njihova težina bila podjednaka (Slika 29).



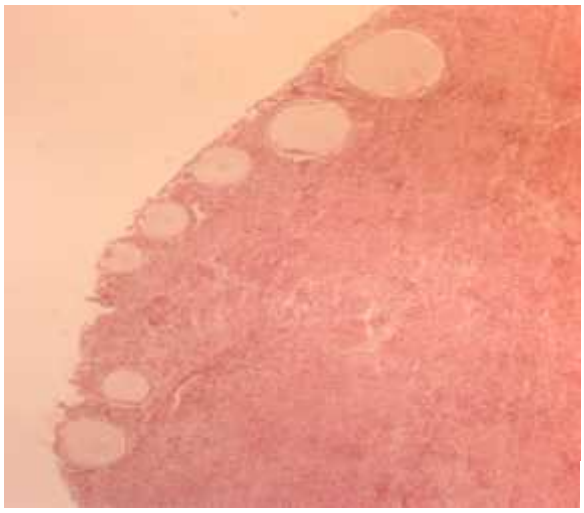
Slika 29. Prikaz težine embrija (g) prema mjesecima u godini (N=71).

3.2.5 Mjerenje jajnih folikula jajnika na histološkim preparatima

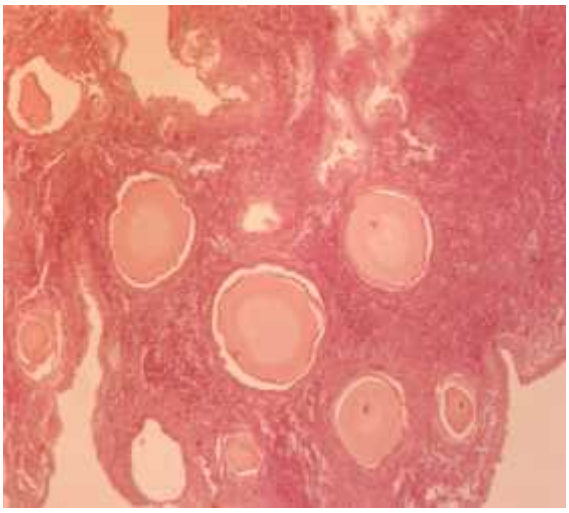
Izmjereni su svi jajni folikuli vidljivi na histološkim preparatima koji su izrađeni od jednog komadića tkiva jajnika, ukupno 73 ženke (Slika 30 i 31). Uzorci jajnika koji su imali velika razvijena jaja nisu histološki obrađivani. Najveći zabilježeni broj folikula je 46 a najmanji 2. Prema veličini su podijeljeni u 5 skupina (minimalni promjer 29.47 μm; maksimalni promjer 2895.33 μm). Većina folikula spada u skupinu veličine od 0 do 300 μm (Dodatak 1).



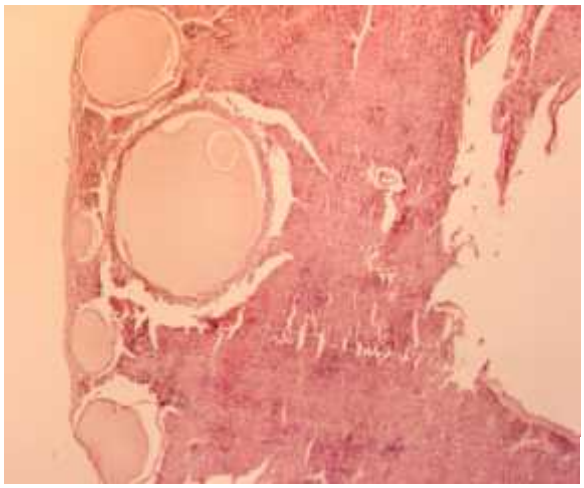
Slika 30. Jajni folikul (povećanje 200x).
Obojano hemelaun-eozinom.



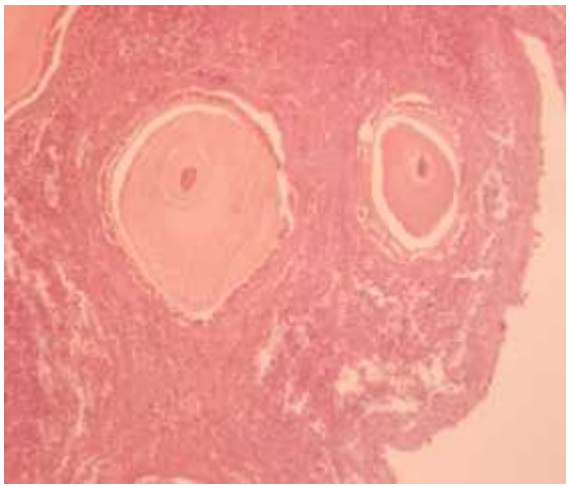
A



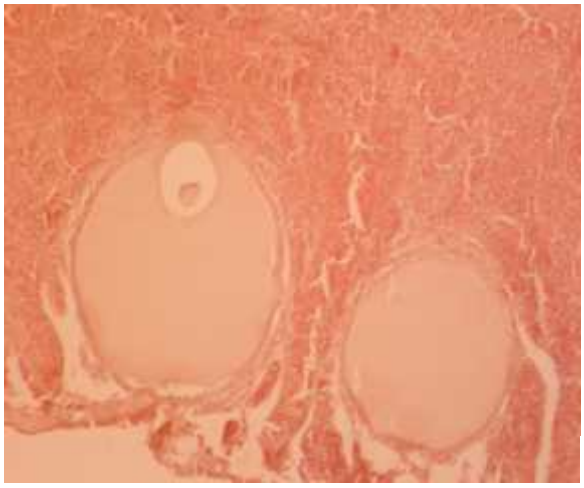
B



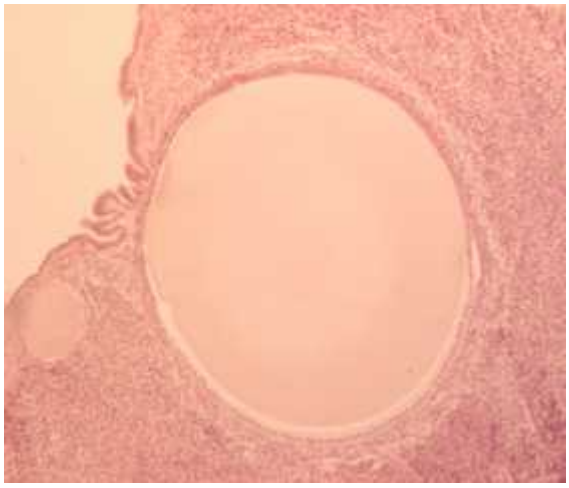
C



D



E



F

Slika 31. Jajni folikuli jajnika na histološkim preparatima slikani pod različitim povećanjem. **A**-povećanje 40x, **B**- povećanje 40x, **C**- povećanje 40x, **D**- povećanje 100x, **E**- povećanje 100x, **F**- povećanje 100x. Obojano hemalaun-eozinom.

4. RASPRAVA

Prema provedenim istraživanjima i broju uhvaćenih životinja tijekom godine, može se zaključiti da je prisutnost/odsutnost i brojnost ženki kostelja u ulovu rezultat njihovog specifičnog životnog ciklusa i bioloških čimbenika. U ovom istraživanju, najviše životinja je ulovljeno u razdoblju od siječnja do lipnja, vjerojatno zbog migracije ženki s embrijima blizu poroda u plića područja. Isto tako, za pretpostaviti je da životinje nisu ulovljene u periodu od srpnja do listopada zbog sezonskih migracija kada zbog povišenih temperatura mora odlaze u dublje dijelove mora. Također bi se kao razlog izostanka ženki u ulovu mogla navesti i povećana antropogena aktivnost na moru tijekom ljetnih mjeseci.

Ženka kojoj je izmjerena maksimalna dužina tijela od 112 cm, uhvaćena je u mjesecu svibnju s 13 embrija i s 20 makroskopski izoliranih jaja veličine od 2.55 do 23.52 (srednja vrijednost 16.54±8.49). Iako su u ranijim istraživanjima uhvaćene životinje koje su bile velike između 160.0 i 200.0 cm (Compagno, 1984; Fisher i sur., 1987), u novije vrijeme love se odrasle ženke manjih dužina, pa je tako u istraživanju iz 2005. godina (Chatzispyrou i Megalofonou) od 119 uhvaćenih ženki najveća izmjerena životinja imala 75.5 cm (Tablica 6). Budući da je kostelj komercijalno vrlo značajna vrsta i vrsta vrlo česta u ulovu, pretpostavka je da su veće jedinke većinom izlovljene, a one manjih veličina puštane natrag u more i zbog toga češće u ulovu, te su zbog toga ženke veličine 50-60 cm više zastupljene u populaciji i ulovu tijekom cijele godine.

Tablica 6. Najveće uhvaćene ženke (maksimalna dužina tijela) u istraživanjima u svijetu.

Područje	**Autor i godina**	**Maksimalna dužina ženki (cm)**
Atlantik	Jones i Ugland (2001)	110.0
Pacifik	Saunders i Mc Farlane (1993)	130.0
Crno more	Alonso i sur. (2002)	136.0
Sredozemno more	Compagno (1984)	160.0
Sredozemno more	Fisher i sur. (1987)	200.0
Sredozemno more	Chatzispyrou i Megalofonou (2005)	75.5

Dužina, širina i težina gonada mjerene su i uspoređivane s dužinom ženki, kako bi se odredila približna dužina ženki kod koje dolazi do njihove spolne zrelosti. Iz usporedbe dužina ženki s

dužinom njihovih gonada vidljivo je da se gonade značajnije povećavaju kod dužine ženki od oko 60-65 cm. Širina gonada se počinje značajnije povećavati kod dužine oko 60 cm, a težina gonada se značajnije povećava kod veličina ženki od oko 65 cm. Ovi rezultati se podudaraju s jedinim postojećim podacima za Jadran od Županovića (1961), koji navodi da ženke pri veličinama 65-80 cm postaju spolno zrele. Iz toga se može zaključiti da ženke u istočnom Jadranu dostižu spolnu zrelost kod veličina od oko 65 cm i više, što se podudara s rezultatima drugih studija (Tablica 7).

Tablica 7. Prikaz dužina ženki kostelja pri spolnoj zrelosti u drugim morima.

Područje	**Autor i godina**	**Minimalna dužina spolno zrelih ženki (cm)**
Atlantik	Henderson i sur. (2002)	66.5
Pacifik	Ketchen (1972)	76.0
Crno more	Avsar (2001)	72.0
Sredozemno m.	Chatzispyrou A. i Megalofonou P. (2005)	51.8
srednji Jadran	Županović (1961)	65.0-80.0

U ulovu je nađen relativno mali broj ženki s vidljivim jajima u jajniku (21 ženka od ukupno 100). Razlog tome bi mogao biti smanjeni broj spolno zrelih ženki u ukupnoj populaciji kostelja u istočnom Jadranu, što potvrđuje i prethodno spomenuti podatak da su u ulovu najzastupljenije bile juvenilne i subadultne ženke dužine tijela 30-60 cm (59.0 %), koje se nalaze na granici spolne zrelosti i imaju slabo razvijena jaja u jajniku. Chatzispyrou i Megalofonou (2005) u svom radu bilježe jednak broj jaja u jajnicima kao i mladih u uterusu, te zbog toga smatraju da se kod kostelja sa sigurnošću plodnost može utvrditi i prema broju mladih u uterusu i prema broju jaja u jajnicima. U ovome radu je primijenjena ta tvrdnja i izbrojana su veća, oku vidljiva jaja u jajniku ženki kostelja kao jedan od pokazatelj plodnosti. Zabilježeni broj jaja po jajniku ženke u rasponu od 5 do 28, u usporedbi s rezultatima iz drugih područja (Tablica 8), ukazuje na povećanu plodnost ili na premali uzorak na kojem je napravljeno ovo istraživanje. Najveći broj ženki s vidljivim jajima u jajniku je uhvaćen u veljači i svibnju, što se podudara i s najvećim izmjerenim promjerom jaja. Iz toga se može zaključiti da se ovulacija kod ženki kostelja u istočnom Jadranu vjerojatno zbiva u razdoblju od veljače do svibnja, tj. u proljeće. No to svakako nije sigurno, budući da nema podataka za

period od srpnja do listopada. Conrath i Musick (2002) su prema veličini jaja, koja su rasla do svibnja i nakon toga postala puno manja do srpnja, zaključili da se kod srodne vrste morskog psa (*Mustelus canis*) ovulacija zbiva u razdoblju između svibnja i srpnja. Stenberg (2005) na temelju promjera jaja zaključuje da se ovulacija i oplodnja zbivaju u razdoblju od prosinca do veljače. Autori Jones i Ugland (2001) koriste promjer jaja i prisutnost embrija da bi odredili spolno zrele životinje. Ako primijenimo tu metodu, prema našim rezultatima 8 ženki je sadržavalo jaja veća od 2 cm u promjeru (6 ženki je imalo formirane embije) i još jedna ženka je imala manja jaja, ali su zabilježeni embriji u uterusu. Prema tome, samo za 9 ženki bi se sa sigurnošću moglo reći da su spolno zrele, iako u uzorku imamo 24 ženke koje su veće od 70 cm, i za koje možemo reći da bi prema veličini gonada (koje iznad 60 cm duljine tijela životinje počinju naglo rasti) trebale biti spolno zrele.

Tablica 8. Brojnost jaja po jajniku ženke u različitim područjima svijeta.

Područje	**Autor i godina**	**Broj jaja po jajniku (N)**
Atlantik	Jones i Ugland (2001)	3-17*
Skagerrak (Švedska)	Stenberg (2005)	4-13
istočno Sredozemno m.	Chatzispyrou A. i Megalofonou P. (2005)	1-22

*-promjer jaja većih od 2 cm

Mladi su pronađeni u uterusu svega 7 ženki, pa zaključci doneseni na temelju tako male količine podataka pokazuju okvirno stanje plodnosti ženki kostelja. Dobiveni rezultati pokazuju da je najvećem broju embrija (85.9%) dužina tijela bila između 10 i 20 cm, što ih svrstava u drugi stadij sazrijevanja, tj u sredinu ciklusa, dok se preostali embriji, veći od 20 cm dužine svrstavaju u 3 stadij, tj. embriji blizu rođenja.

Broj mladih po leglu ženke prema ovome istraživanju varira od 6 do 18, što odgovara podacima koje je Compagno (1984) naveo za Sredozemno more, dok je srednja vrijednost od 10.14 veća nego što je to navedeno za švedske vode i Pacifik (Tablica 9). No, kod brojanja embrija treba pripaziti na sljedeće teškoće: 1) za vrijeme gestacije može doći do pada plodnosti, pa broj preživjelih mladunaca može biti značajno manji od početnog broja ovuliranih jaja u uterusu, 2) abortiranje mladih zbog stresa uzrokovanog hvatanjem ženke, posebno ako su embriji veličine koja je karakteristična za stadij blizu poroda. Stoga se može zaključiti da je, s obzirom na broj embrija, plodnost ženki kostelja u istočnom Jadranu relativno veća nego u drugim morima, ali se to ne može sa sigurnošću tvrditi.

Tablica 9. Brojnost mladih (N) po leglu u različitim područjima svijeta.

Područje	Autor i godina	Broj mladih po leglu (N)
Skagerrak (Švedska)	Stenberg (2005)	5.80
Pacifik	Ketchen (1972)	6.50
Crno m.	Avsar (2005)	17
Sredozemno m.	Compagno (1984)	1-20
istočno Sredozemno m.	Chatzispyrou i Megalofonou, 2005	1-6

Omjer spolova embrija u uterusu jedne ženke ukazuje na to da su embriji ženskog spola zastupljeniji u leglu, no budući da je to vidljivo na uzorku od svega 7 trudnih ženki, ne može se reći da je taj podatak pouzdan. Stoga se ne može ni nagađati o uzrocima ove pojave. Compagno (1984) u svom radu spominje da je omjer muških i ženskih embrija u uterusu jedne ženke različit od 1:1.

Iz omjera dužina ženki i broja embrija može se vidjeti da s porastom dužine ženke raste i broj embrija u leglu, iako se to sa sigurnošću ne može tvrditi zbog malog uzorka.

Raspon dužina embrija (od 12.20 do 21.50 cm) zabilježen za istočni Jadran, u usporedbi s dužinama embrija blizu poroda za druga mora, pokazuje da su ulovljene bile većinom ženke s embrijima koji nisu dovoljno razvijeni za porod (Tablica 10). U ožujku je zabilježena najveća dužina embrija, što može biti samo okvirni pokazatelj da se porod zbiva u periodu nakon ožujka. Chatzispyrou i Megalofonou (2005) navode u svome radu za Sredozemno more da embriji u stadiju razvoja pred porod, uzorkovani od lipnja do kolovoza, svjedoče da se porod događa ljeti. Prazni uterusi pronađeni u lipnju potvrđuju ovu tvrdnju.

Tablica 10. Dužine embrija (cm) kod poroda u drugim morima.

Područje	Autor i godina	Dužine embrija kod poroda (cm)
Atlantik	Alonso i sur. (2002)	21 do 28
Crno more	Demirhan (2005)	28 do 29
Sredozemno m.	Compagno (1984)	18 do 30

Težina pronađenih embrija u uterusu ženki za istočni Jadran (minimalno 5.96 i maksimalno 28.13 g) je bila veća nego što to u svom istraživanju istočnog dijela Sredozemnog mora

spominju Chatzispyrou i Megalofonou (2005), koji navode da se ona kretala u rasponu od 18.3 do 22.00 cm. Najveća težina embrija u ožujku, koja se podudara s najvećom zabilježenom dužinom embrija za taj mjesec, također sugerira da se porod zbiva u periodu iza ožujka. Demirhan (2005) za Crno more tvrdi da je težina embrija kod poroda varirala od 68 do 78 g, što je daleko više od podataka dobivenih u ovome istraživanju. Vrijednosti i dužina i težina pronađenih embrija u uterusu ženki iz ovog istraživanja su manje od vrijednosti dobivenih u drugim istraživanjima. To može biti posljedica slučajnog ulova ženki s embrijima u ranijem stadiju razvoja, no postoji i druga mogućnost. Budući da je ulov trudnih ženki izostao tijekom travnja, te u razdoblju od lipnja do studenog, ne može se točno zaključiti u kojem razdoblju dolazi do poroda ženki kostelja u Jadranu. Do poroda ženki kostelja možda dolazi baš u razdoblju za koje podaci nedostaju.

Promjer jajnih folikula tijekom godine je podatak koji nije pronađen u drugim radovima i stoga se podaci dobiveni u ovome istraživanju nemaju s čime usporediti.

Podaci o kostelju u Jadranu su zastarjeli ili uopće ne postoje, stoga je teško sa sigurnošću donijeti zaključke, pa se može govoriti samo o pretpostavkama. Dostupni su podaci za druga područja, no oni nisu najpogodniji za usporedbu, budući da su doneseni na temelju istraživanja provedenih u drugačijim uvjetima i karakteristikama morske vode. Ovo istraživanje je provedeno kako bi se vidjelo okvirno stanje populacije i dobila nova saznanja o biologiji vrste. Potrebno je provesti daljnja istraživanja da bi se dobila jasnija slika za kvalitetnu međusobnu usporedbu podataka o reproduktivnoj biologiji ženki kostelja u Jadranskom moru.

5. ZAKLJUČAK

❖ Ukupno je ulovljeno i obrađeno 100 jedinki ženki kostelja. Izmjerena totalna dužina životinja se kretala od 26.10 do 112.00 cm (srednja vrijednost 58.45 ± 22.59), a najveći broj prikupljenih jedinki je bio dužine između 30-60 cm (59.0%).

❖ Prema rezultatima morfometrijskih mjerenja spolna zrelost ženki nastupa kod duljine tijela od 65 cm i više.

❖ Plodnost ženki u istočnom Jadranu, s obzirom na uočeni broj jaja u jajniku (N=5-28), je veća nego u drugim morima. Ako plodnost procjenjujemo na temelju broja mladih u uterusu jedne ženke (N=6-18), podaci se podudaraju s rasponom broja mladih zabilježenim za Sredozemno more.

❖ Dužine izmjerenih embrija iz uterusa 7 ženki (12.20 do 21.50 cm) su u prosjeku bile manje nego u drugim morima, što govori da su oni bili u ranijoj fazi razvoja. Nije uhvaćena nijedna ženka s embrijima spremnim za porod. Omjer spolova embrija je bio veći od 1:1 u korist ženskih embrija.

❖ Svrha ovog istraživanja je bila prikupiti okvirne podatke o reproduktivnoj biologiji i stanju populacije ženki kostelja u Jadranu, budući da su radovi na tu temu zastarjeli ili uopće ne postoje. Ovaj rad upućuje na prijeku potrebu provedbi istraživanja ovog tipa, kako bi se moglo doći do točnijih zaključaka, te se bolje moglo očuvati populaciju vrste *Squalus acanthias* u Jadranu.

6. LITERATURA

Alonso M. K., Crespo E. A., Garcia N. A., Pedraza S.N., Mariotti P. A. i Mora N. J. (2002): Fishery and ontogenetic driven changes in the diet of the spiny dogfish, *Squalus acanthias,* in Patagonian waters, Argentina. Enviromental Biology of Fishes. **63**: 193-202.

Avsar D. (2001): Age, growth, reproduction and feeding of the spurdog (*Squalus acanthias* Linnaeus, 1758) in the southeastern Black Sea. Estuarine, Coastal and Shelf Science. **52**: 269-278.

Bass A. J., D' Aubrey J. D. i N. Kistnasamy (1973): Sharks of the east coast of southern Africa I. The genus *Charcharhinus* (Carcharhinidae). Oceanographic Research Institute (Durban) Investigational Report No.33.

Beamish R.J., McFarlane G.A., Weir K.R., Smith M.S., Scarsbook J.R., Cass A.J. i Wood C.C. (1982): Observations on the Biology of Pacific Hake, Walleye Pollock and Spiny Dogfish in the Strait of Georgia , Juan de Fuca Strait and off the West Coast of Vancouver Island and United States, July 13-24, 1976. Canadian Manuscript Report in Fisheries and Aquatic Science. **1651**: 150.

Carrier J. C., Musick J. A. i Heithaus M. R. (2004): Biology Of sharks and their relatives. CRC Press, str. 269-286.

Chatzispyrou A. i Megalofonou P. (2005): Sexual maturity, fecundity and embryonic development of the spiny dogfish, *Squalus acanthias,* in the eastern Mediterranean Sea. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. **85**: 1155-1161.

Compagno L. J.V. (1984): FAO species catalogue. Vol 4. Sharks of the World: an annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part I. Hexanchiformes to Lamniformes. FAO Fisheries Synopsis (125), 4, 1 dio, str. 111-113.

Compagno L., Dando M., Fowler S. (2005): A field guide to the sharks of the world. Harper Collins Publishers, London.

Conrath C. L. i Musick J. A. (2002): Reproductive biology of smooth dogfish, *Mustelus canis*, in the northwest Atlantic Ocean, Enviromental biology of fishes. **64**: 367-377.

Demirhan S. A. i Seyhan K. (2006): Sesonality of Reproduction and Embryonic growth of Spiny Dogfish (Squalus acanthias) in the Eastern Black Sea. Fishery Bulletin. **30**: 433-443.

Fahy E. (1989): The spurdog (*Squalus acanthias*) fishery in the South West Ireland . Irish Fisheries investigations. Series B. **32**: 22.

Gilmore R.G., Dodrill J. W., Linley P. A. (1983): Reproduction and embrionyc development of the tiger shark, Odontaspis taurus (Rafinesque). Fishery Bulletin. **81**: 95-114.

Hamlett W. C., Knight D. P., Koob T. J., Jezior M., Luong T., Rozicky T., Brunett N. i Hysell M. K. (1998): Survey of oviductal gland structure and function in elasmobranchs. Journal of Experimental Zoology. **282**: 399-420.

Hamlett W.C. i Koob T. J. (1999): Female reproductive system. U: Sharks, Skates and Rays: the Biology of Elasmobranch Fishes. W.C. Hamlett (ur.). The Johns Hopkins University Press, Baltimore, str. 398-433.

IUCN (2009): IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on **16 June 2009**.

Jardas I. (1972): Prilog poznavanju ekologije nekih jadranskih hrskavičnjača (Chondrichthyes) s posebnim osvrtom na ishranu, Acta Adriatica, Vol XIV, No. 7, Split , str. 22-29.

Jones B. C. i Green G. H. (1977): Reproduction and embryonal development of spiny dogfish (*Squalus acanthias*) in the Strain of Gorgia, British Columbia. Journal of Fisheries Research Board of Canada. **34**: 1286-1292.

Jones T. S. i Ugland K.I. (2001): Reproduction of female spiny dogfish *Squalus acanthias*, in the Oslofjord. Fishery Bulletin, **99**: 685-690.

Ketchen K.S. (1972): Size at Maturity, Fecundity, and Embryonic Growth of the Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*) in British Columbia Waters. Journal of Fisheries Research Board of Canada. **29**: 1717-1723.

Koob T. i Hamlett W. C. (1998): Microscopic structure of the gravid uterus in *Raja erinacea.* Journal of Experimental Zoology. **282**: 421-437.

Lazar B., Gračan R., Čižmek H., Lacković – Venturin G., Tvrtković N., Heppell S.S., Heppell S.A. (2007): (By)catch of spiny dogfish (*Squalus acanthias*) in the north-eastern adriatic trawl fishery. U: Buj I., Zanella L., Mrakovcic M. (ur.). Book of abstracts. 12th European Congress of Ichthyology, European Ichthyological Society: **249**.

Lipej L., De Maddalena A., Soldo A. (2004): Sharks of the Adriatic.Grafis trade d.o.o., Koper.

Nammack M. F., Musick J. A. i Colvocoresses J. A. (1985): Life history of spiny dogfish of the northeastern United States. Transactions of the American Fish Society. **114**: 367-376 .

Pratt H. L. (1993): The storage of spermatozoa in the oviductal glands of western North Atlantic sharks. Enviromental Biology of Fishes. **38**: 139-149.

Richards J. (2004): M Sc Thesis. Oregon State University.

Saunders M. W. i McFarlane G. A. (1993): Age and length at maturity of the female spiny dogfish, *Squalus acanthias* , in the Strait of Georgia, British Columbia, Canada. Enviromental Biology of Fishes. **38**: 49-57.

Soldo A. (2003): Status of sharks in the Mediterranean. Annales, Series historia naturalis. **13**(2): 137-144.

UNEP MAP RAC/SPA (2003): Action plan for the conservation of cartilaginous fishes (Chondrichthyans) in the Mediterranean Sea. RAC SPA, Tunis.

Wourms J. P. (1977): Reproduction and development in chondrichthyan fishes. American Zoologist. **21**: 473-515.

Wourms J. P. (1981): Viviparity: The mathernal-fetal relationship in fishes. American Zoologist. **32**: 276-293.

Županović Š. (1961): Prilog poznavanju biologije jadranskih riba Chondrichthyes, Acta Adriatica, Vol. IX, No 4., Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, str. 19-25.

7. DODATAK

Dodatak 1. Srednja vrijednost (min-maks;N-broj) promjera jajnih folikula iz jajnika na histološkim preparatima.

broj ženki (N)	**Srednja vrijednost (min-max;N-broj) promjera folikula na histološkim preparatima (µm)**		
	Manje od 500	**501-1000**	**> 1000**
1	399.95 (81.04-643.31;N=22)		
2	323.30 (66.31-783.38;N=23)		
3	358.35 (248.03-555.00;N=13)		
4	491.64 (262.77-815.31;N=5)		
5	279.95 (93.32-540.26;N=29)		
6		546.40 (390.46-702.34;N=2)	
7			986.03 (149.80-2895.33;N=23)
8			2499.95 (2185.62-2814.29;N=2)
9		715.67 (139.98-1301.55;N=7)	
10		521.16 (181.73-911.08;N=9)	
11		866.88 (181.73-2330.51;N=9)	
12	203.70 (61.39-520.62;N=40)		
13	491.33 (191.55-1060.88;N=13)		
14	298.24 (81.04-852.15;N=13)		
15	432.67 (95.77-989.67;N=16)		
16	406.67 (191.55-542.72;N=5)		
17	432.91 (162.08-761.28;N=28)		
18		719.53 (388.01-1053.52;N=5)	
19	381.67 (125.24-650.77;N=19)		
20	386.53 (316.79-577.10;N=5)		
21	358.53 (221.02-719.53;N=4)		
22	313.10 (108.05-658.14;N=24)		
23	346.26 (81.04-626.22;N=15)		
24	383.09 (147.36-594.29;N=21)		
25	314.95 (95.77-626.22;N=12)		

Dodatak 1. Nastavak.

	Manje od 500	**501-1000**	**> 1000**
26	469.33 (90.86-1178.76;N=17)		
27	330.70 (206.28-456.77;N=3)		
28	283.79 (100.69-579.56;N=22)		
30	284.86 (127.7-488.67;N=5)		
31	395.15 (110.51-1122.28;N=22)		
32	477.08 (277.50-707.26;N=11)		
33	317.71 (108.05-569.73;N=16)		
34	339.55 (54.03-780.93;N=26)		
35	461.43 (277.50-724.45;N=10)		
36	316.26 (100.69-564.82;N=14)		
37	427.02 (147.36-685.15;N=9)		
38	204.53 (93.32-400.29;N=7)		
39	262.21 (100.69-449.4;N=9)		
40	473.21 (164.54-888.98;N=46)		
41	494.83 (287.32-842.32;N=6)		
42	102.55 (65.81-159.13;N=5)		
43	222.49 (49.11-473.96;N=20)		
44	134.99 (58.94-295.67;N=7)		
45	327.49 (54.03-542.72;N=25)		
46	215.69 (85.95-373.27;N=6)		
47	358.33 (108.05-493.61;N=12)		
48	170.67 (100.69-304.51;N=6)		
49	216.10 (125.24-378.19;N=7)		
50	287.51 (68.76-618.85;N=25)		
51	247.57 (61.39-677.79;N=32)		
52	194.93 (39.29-444.49;N=53)		
53	282.81 (98.23-424.84;N=6)		
54	152.54 (44.2-380.64;N=17)		

Dodatak 1. Nastavak.

	Manje od 500	**501-1000**	**> 1000**
55	184.18 (71.22-343.8;N=12)		
56	217.14 (71.22-338.89;N=19)		
57	204.71 (78.58-351.17;N=11)		
58	227.89 (54.03-525.53;N=10)		
59	205.93 (51.57-353.63;N=14)		
60	156.24 (61.39-375.73;N=8)		
61	133.22 (36.84-223.47;N=12)		
62	140.21 (29.47-434.67;N=31)		
63	171.69 (46.66-302.06;N=35)		
64	123.88 (29.47-311.88;N=29)		
65	173.13 (112.96-255.4;N=4)		
66	168.35 (44.2-275.04;N=9)		
67	117.87 (34.38-260.31;N=9)		
68	47.88 (31.92-63.85;N=2)		
69	106.21 (58.94-189.09;N=20)		
70	312.51 (115.42-807.94;N=31)		
71		523.07 (523.07-523.07;N=1)	
72	203.83 (203.83-203.83;N=1)		
73	194.00 (194.00-194.00;N=1)		