

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/um:nbn:hr:217:320170>

Rights / Prava: [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Lucija Arbanas

Reproducativna biologija ženki kostelja (*Squalus acanthias*,
Linnaeus 1758) u isto nom Jadranu

Diplomski rad

Zagreb, 2009. godina

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zoologiskom 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 Lackovi – Venturin, što mi je omoguila izradu ovog diplomskog rada i pomogla oko njegove realizacije. Veliko hvala i asistentci, dipl. ing. Romani Graan, koja me usmjeravala i savjetovala tijekom izrade rada i neumorno ispravljala sve moje pogreške. Također, zahvaljujem i tehničarki Zrinki Benini, 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 ohrabrali me kad je bilo teško, ali i veselili se zajedno s mnom svakom uspjehu. Na kraju, ne i najmanje važno, hvala dragome Bogu bez kojeg prisutnosti i pomoći sve ovo ne bi bilo moguće.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Reprodukтивna biologija ženki kostelja (*Squalus acanthias*, Linnaeus 1758) u isto nom Jadranu

Lucija Arbanas

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

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

Cilj istraživanja je bio dozнати pojedinosti o reproduktivnoj biologiji ženki kostelja u isto nom Jadranu, vrsti koja se intenzivno izlovljava, ali oživotni ciklus još nije poznat. Rezultati pokazuju da se veliki ina ulovljenih ženki kreću 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 velikih ina 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 kreće od 1.78 do 35.98 mm. Embriji su pronađeni u uterusu 7 ženki. Najveći i zabilježeni broj embrija po ženki je 18, a najmanji 6 (srednja vrijednost 10.14 ± 4.22), a raspon dužina embrija se kreće 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 primjerenog zaštiti.

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

Rad prihvoren: 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. Građenskog 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 hrskavi nja a (Chondrichthyes) pripada skupini riba. Dijeli se na dva podrazreda: pre nouste (Elasmobranchii) i cjeloglavke (Holocephali). Skupini pre nouste pripadaju dva reda: morski psi (Selachii) i raže (Batoidea), dok podrazredu cjeloglavki pripada samo jedan red himere (Chimaeriformes). Zajedni ka karakteristika ovih skupina je kostur izgra en od hrskavice. U tijelu morskog psa jedino koštano tkivo predstavljaju specijalizirani zubi i ljske koje prekrivaju kožu.

Prve hrskavi nja e su se pojavile prije 400 milijuna godina i od tada su doživjеле samo manje promjene. Širom svijeta je prona en veliki broj fosilnih ostataka morskih pasa iz tog razdoblja, no zbog hrskavi nog kostura fosili su dobro o uvani samo u rijetkim slu ajevima. 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 klju evi 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 karakteristike koje 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 košutnjama, 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, mnogo etinaši, 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 prenuste 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 ili justi.

Prema reproduktivnim strategijama morski psi se dijele na aplentalno 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 luči 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 izljuju u uterini sekret bogat proteinima i lipidima (histotrof) (Wourms, 1981).

Kostelj prema svim karakteristikama svoje reproduktivne biologije pripada **aplacentalno viviparnim** vrstama (3. skupina), iji mladi imaju žumanj anu vre u i razvijaju se unutar majke inog 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 predadora kroz duži vremenski period, nego što je to kod oviparnih vrsta.

Oviparne vrste imaju jaja obavijena jajnom ovojnicom, koja odlaže u okoliš. Utrina 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 majke 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 prihvatanju za supstrate na kojima se jaja inkubiraju. Ona takođe i otvrđene nakon što se jaja odlože i štite embrije od predadora. Oviparni embriji su obično manji od viviparnih.

Placentalna viviparnost je treća velika reproduktivna strategija kod morskih pasa. Javlja se tijekom embrionalnog razvoja kada se žumanjana vre i prihvati za zid maternice i s njom formira placentu, a držak žumanjane 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. Gra a ženskog reproduktivnog sustava

Ženski reproduktivni sustav kostelja sastoji se od parnih ili jednostrukih jajnika i jajovoda, koji su naborom potbušnice, mezovarijem i mezotubarijem, pri vrš eni za trbušnu šupljinu (Slika 2). Jajnici (Slika 3) su smješteni na prednjem kraju tjelesne šupljine, le no 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) žljezdu, 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 zapo inje parnim jajnicima i jajovodima, no kod mnogih odraslih jedinki reproduktivni trakt postaje asimetri an kako se životinja razvija, tj. dolazi do atrofije jedne strane. Uobi ajeno 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 ve ine pre nousta je uz jajnik pri vrš en i podupire ga epigonalni organ, no kod kostelja nije zabilježen.

Ostium je prednji ljevkasti otvor jajovoda, ija funkcija je prihva anje ovuliranih jajnih stanica iz jajnika.

Oviduktalna žljezda je specijalizirani dio jajovoda, u kojem se formira ovojnica koja obavlja jaja. Tako er je mjesto mogu e oplodnje, iako se ona može dogoditi i u gornjem dijelu jajovoda (Hamlett i sur., 1998). Kod zrelih životinja je promjer ove žljezde nekoliko puta ve i od promjera jajovoda. Pratt (1993) je otkrio da se spremanje sperme u oviduktalnu žljezdu ženki pojavljuje kod barem 9 vrsta morskih pasa u zapadnom dijelu Sjevernog Atlantika. Smatra se da se spremanje sperme u oviduktalnoj žljezdi javlja u vrsta kod kojih postoji vremenska razlika izme u parenja i ovulacije.

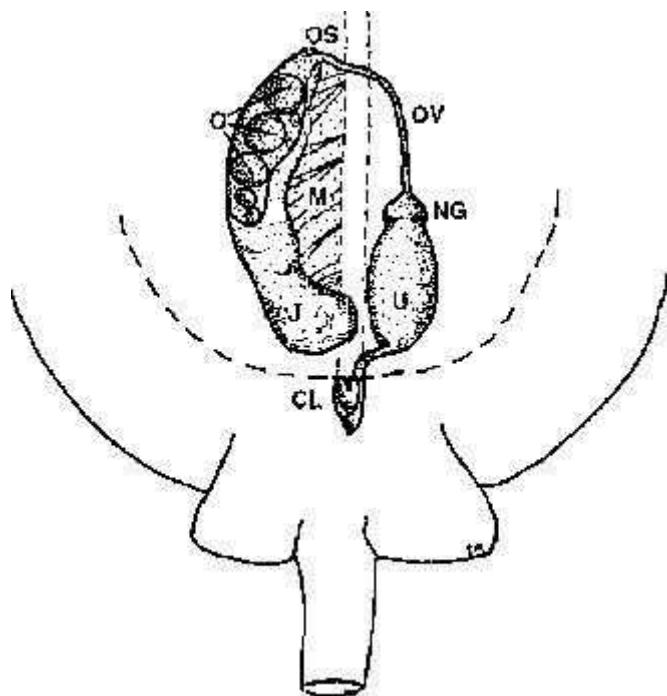
Isthmus se može pojaviti prije proširenja jajovoda u posteriorni dio ili uterus, a mogu a funkcija mu je izoliranje sadržaja uterusa od ostatka jajovoda.

Kod viviparnih vrsta, kakvima pripada i kostelj, uterus je dobro razvijen, te je prilago en 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 postane tanja i puca kako ženka dostiže spolnu zrelost.

Jaja pre nousta su uglavnom velika i sadrže ogromnu koli inu žumanjka, zbog ega je broj proizvedenih jaja relativno malen (Slika 4). Kod viviparnih vrsta jajna ovojnica je vrlo tanka, jer nema potrebe da se zaštiti embryo od predatora. Zbog svoje veličine, jaja pre nousta su telolecitelna i dijeli se samo maleni disk stanica na animalnom polu. Dioba je meroblasti ka, a dio jaja koji ne sudjeluje u diobi postaje žumanjana 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 velicina.



Slika 5. Žumanjane vremene mladih.

1.1.5. Životni ciklus i spolno sazrijevanje kostelja

Tijekom života kostelj najviše obitava na kontinentalnim i otonim šelfovima na dubinama od 0 do 900 m. Mužjaci se najviše zadržavaju u plitkim predjelima nego ženke, no one mogu rastati u plitkoj vodi. Ova vrsta spada u jednu od najmigratornijih vrsta morskih pasa koja seli u velike 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 izme u 12 i 26 godina.

Reprodukтивni ciklus svih pre nousta je vrlo složen i do sada nije do kraja razjašnjen. Uklju uje ciklus jajnika (ovarijski ciklus) i gestacijski period. Ovarijski ciklus objašnjava koliko esto ženka stvara odre eni broj zrelih oocita, a zatim dolazi do ovulacije jaja. Parenje se doga a jednom u dvije godine i to vjerojatno zimi, nakon ega slijedi dijapauza do prolje a kada nastupaju povoljniji okolišni uvjeti, ovulacija i oplodnja. Za to vrijeme je sperma smještена u oviduktalnoj žljezdi.

Gestacijski period se objašnjava kao vrijeme proteklo izme u 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 trudno e ikada zabilježeno me u 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). Veli ina mlađih kod poroda je 20-33 cm (Jones i Ugland, 2001).

Ženke pre nousta se smatraju **spolno zrelima** ako postoje vidljivi znaci trenutne ili prijašnje trudno e ili dokaz da e ženka biti spremna za parenje unutar kratkog vremenskog perioda.

Kod ženki koje prethodno nisu bile trudne, spolna zrelost se može utvrditi prou avanjem stupnja razvoja jaja u jajniku i veli ine jajovoda. Zrele ženke e u jajniku imati dobro razvijena jaja bogata žumanjkom, a jajovod im se po inje širiti i odvajati od zida trbušne šupljine. Ženke koje su prethodno bile trudne e imati prošireni jajovod s proširenom oviduktalnom žljezdom 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 uterusu, 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 tako er definirali i 3 stadija zrelih ženki: 1) one izme u dviju trudno a, 2) one s jajima u uterusu obavijenim ovojnicom (*candles*) i 3) one sa slobodnim embrijima u uterusu.

Obi no se koristi veli ina oviduktalne žljezde ili drugih struktura ženskog reproduktivnog sustava da bi se utvrdila veli ina kod koje životinja postaje spolno zrela. Uspore uje se

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

Postoji vrlo ograni ena koli ina 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 isto nom dijelu Sredozemnog mora (Chatzispyrou i Megalofonou , 2005).

1.1.6. Plodnost

Plodnost pre nousta obi no se odre uje jednostavnim brojanjem embrija (Slika 6) i velikih jaja (Slika 7) unutar uterusa viviparnih vrsta.

Kod mnogih vrsta pre nousta postoji pozitivan odnos izme u plodnosti i veli ine ženke. Kako ženke postaju ve e u dužinu i širinu, to pove ava i prostor unutar tjelesne šupljine i tu se smještaju mladi. Takav pozitivni linearni odnos je zabilježen kod mnogih vrsta morskih pasa, uklju uju i i kostelja (Chen i sur., 1988; Hanchet, 1988; Peres i Vooren, 1991). Prema Lipeju i sur. (2004) morski psi u Jadranskom moru mogu imati izme u 1 i 135 mladih, iako ve ina 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 žumanjom vremena.
 3. stadij (*full term embryos*) - potpuno razvijeni embriji vidljivi u uterusu, žumanje ana vremena je u potpunosti apsorbirana, a pupak (umbilikalna pukotina) je više-manje zatvoren.
- Embriji kostelja dok rastu troše žumanjak iz svoje žumanje i ona s vremenom postaje sve manja (Slike 8 i 9).



Slika 8. Embrij u ranoj fazi razvoja s velikom žumanjom vremena.



Slika 9. Embrij u kasnijoj fazi razvoja s manjom žumanjom vremena.



Slika 10. Pupak embrija (označen strelicom).

Prije samog poroda sadržaj žumanjane vreće je potrošen, a mladi su spremni za samostalan život. Pupak vidljiv na trbuhu jednog od embrija, nakon što se u potpunosti potrošila žumanjana 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*, *Etomopterus 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), češće 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 koštunje. U Jadranskom moru do sada nisu radio detaljnja istraživanja o reproduktivnoj biologiji kostelja. Jedini podaci o biologiji vrste postoje u radu od Županovića (1961), dok je detaljnije obradu hrskavine kostelja u radu od Jardasa (1972). U novije vrijeme su sva istraživanja o biologiji hrskavine zasjenjena proučavanjem komercijalno važnijih koštunja.

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 demografskim strukturama populacija i biološkim ulogama morskih pasa u ekosistemu mora. Stoga je razvijen akcijski plan za zaštitu hrskavine a 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 ak 95%. Populacije u Sredozemnom i Crnom moru su tako er 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 ozna ena kao ugrožena (EN-endangered) (IUCN 2009). U Crvenoj knjizi morskih riba Hrvatske kostelj je opisan unutar kategorije NT (*Near Threatened Species*), gotovo ugrožene svoje (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.

Najve u antropogenu opasnost za morske pse predstavlja ribolov. Morski psi su osjetljiviji na izlov nego košunja e budu i da imaju dulji period spolnog sazrijevanja, nisku plodnost, produljeni gestacijski period i nisku stopu reprodukcije. Mnoge vrste morskih pasa se odvajaju prema spolu i veli ini u skupine, te je zbog toga njihovo iskorištavanje posebno štetno u podru jima gdje se ra aju mladi. Lovi ih se zbog mesa, kože, hrskavice, ulja i drugih produkata. Osim toga, smanjen ulov košunja a ribari danas kompenziraju pove anim ulovom morskih pasa. Dosta esta, morski psi nisu ciljane vrste ulova, pa se oko 50% morskih pasa ulovi slu ajno 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 one iš enje okoliša, globalno zatopljenje, te uništavanje i nestanak pogodnih staništa. Toksi ne kemikalije mogu biti posebno opasne budu i 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 miši nome tkivu dugoživu ih 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 podruje koje se intenzivno izlovljava, a kostelj je jedna od naješe izlovljavanih vrsta ribe. Unato 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 koarice (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 istom 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 Podruje 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 i otoke, iznosi $138\ 595\ km^2$, što je oko 4,6 % ukupne površine Sredozemnog mora (Buljan i Zore-Armarda, 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. Jابuka kotlina (273 m) i južna Jadranska kotlina (1330 m) su najdublja područja, dok je sve ostalo pliće od 200 m, u prosjeku 231 m. Stoga je većina dna smještena na kontinentalnom šelfu, a znajno manji dio dna pripada kontinentalnoj padini (morsko dno ispod 200 m dubine) (Buljan i Zore-Armarda, 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 Tršćanskem 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 istom 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 istog Sredozemnog mora. Ta specifičnost vjerojatno uzrokuje pojavljivanje nekih rijetkih vrsta u Jadrani (Buljan i Zore-Armarda, 1971; Peres i Gamulin-Brida, 1973).

Jadran je relativno toplo more. Najdublja područja su gotovo uvek toplija od $11-12^{\circ}\text{C}$. Ljetna temperatura površinske vode iznosi između $22-25^{\circ}\text{C}$, padajući u blizini dna do 11.2°C (Jabuka kotlina) ili 12°C . Zimski razlike u temperaturi između sjevernog i južnog Jadrana iznosi $8-10^{\circ}\text{C}$. U nekim obalnim područjima sjevernog i zapadnog Jadrana voda može biti hladnija od 11°C (Buljan i Zore-Armarda, 1971).

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

a vratno se zapadnom obalom (jugoistočni tok). Postoje i transverzalni ogranci, koji se odvajaju od sjeverozapadnog toka i priključuju ostalom dijelu toka. Javljuju 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 i zahvaljujući većem priljevu vode s kopna, bogatstvom 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 hrskavice (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 mezopelagični morski psi i tune. U ovome biosustavu najveći dio biomase su male pelagične vrste riba: srdela, šarana, papalina, skuša.

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

2.2 Terenska istraživanja

Terenska istraživanja su provedena u istom Jadranu na području Lošinjskog akvatorija (Slika 11). Ribarske koče su kretale između luke Mali Lošinj, a istraživano područje na kojem se ribarilo se nalazi između $44^{\circ}32'$ i $43^{\circ}44'$ sjeverno, te $15^{\circ}05'$ i $14^{\circ}40'$ istočno, na dubinama 45-84 m.

Istraživači su boravili na ribarskim brodovima koji su uzimali uzorke tijekom cijele godine, u periodu od 2005. do 2007. godine, za vrijeme profesionalnog ribarenja. Životinje su lovljene kočarskim 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 vorova.



Slika 11. Karta istraživanog područja.

Kostelji su determinirani i izdvojeni od ostalih vrsta ulovljenih riba (Slika 12). Na brodu su izvršena morfometrijska mjerena 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 mjerena je dužina (Slika 14), širina i težina jajnika. Iz jajnika su izolirana sva jaja vidljiva okom, koja su zatim izbrojana i izmjerena je njihov promjer. Promjer jaja je mjerena pomoću mjerkom (Slika 15). Embriji, ako su bili prisutni, su izbrojni, određeni 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 komadića tkiva i uklapljen 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 noči ostavi u kloroformu. Sljedeći dan se tkivo uklapa u paraplast pomoću papirnatih lažica. Da bi se tkivo što bolje ukloplilo, 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 isti paraplast i stavlja u papirnate lažice (Slika 20), koje služe kao kalup. Tako dobiveni blokovi se hladne do drugog dana, vade iz lažica i lijepe na drvene daske, na kojima se označava broj uzorka. Gotovi parafinski blokovi (Slika 21) se režu pomoću rotacijskog mikrotoma na debjinu 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-bjelanjkicom (kako bi se rezrez bolje zalijepio za

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



Slika 20. Papirnate la ice s uklopljenim tkivom u paraplast.



Slika 21. Blokovi paraplasta s uklopljenim tkivom.

Prerezni dobiveni na mikrotomu prije bojanja se moraju deparafinirati i rehidrirati. Stakalca sa prerezima se provlači 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 najčešći primjenjivana kiselo-bazična boja za bojanje histoloških preparata. Hemalaun boji plavoljubi asto kisele strukture u stanici, dok eozin boji crveno-ružičasti bazične strukture u stanici. Bojanje 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.

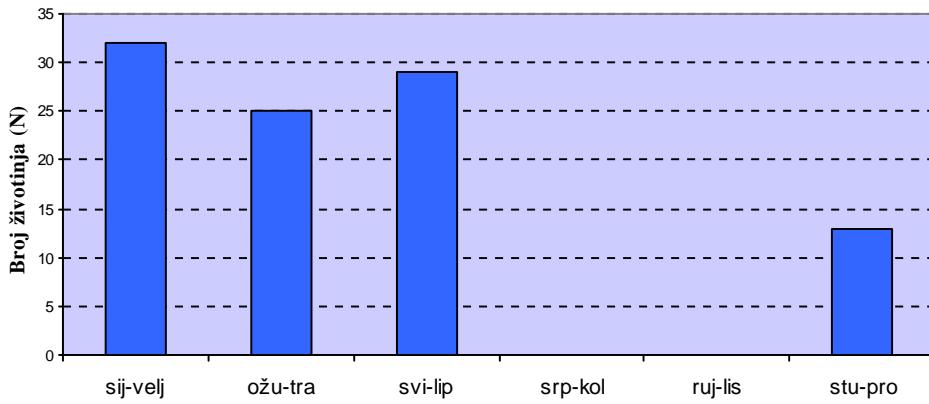
Trajni preparati su pregledani pod svjetlosnim mikroskopom u programu Lucia G 4.80 i fotografirani kamerom Nikon DXM1200. Izmjeren je i zabilježen promjer svih jajnih folikula, koji su vidljivi na jednom histološkom prerezu.

3. REZULTATI

3.1 Podru je istraživanja i sezona ulova životinja

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

Iako su promatra i na brodovima prikupljali životinje tijekom svih mjeseci u godini, ulov kostelja tijekom ljetnih mjeseci (srpanj – listopad) je izostao (Slika 22). Najve i broj životinja je uhva en u periodu od sije nja do lipnja, a najmanji od studenog do prosinca.



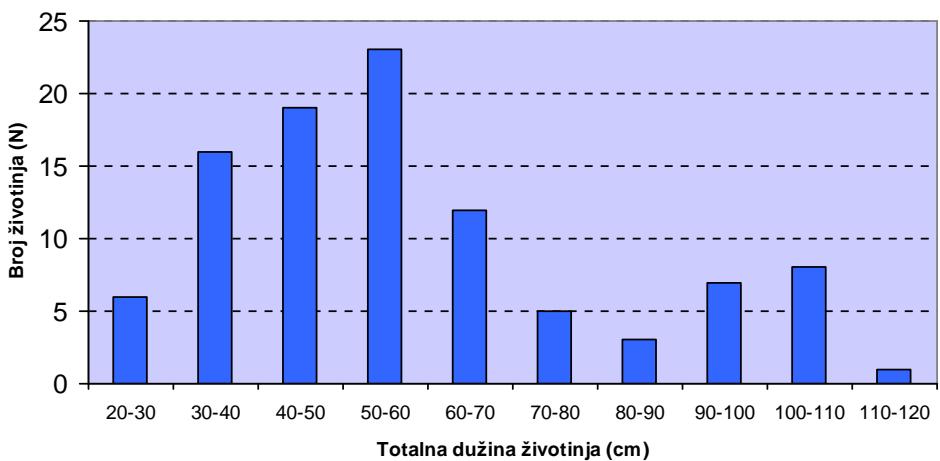
Slika 22. Vremenska raspodjela nalaza životinja (N=100).

3.2 Morfometrijska mjerena

3.2.1 Mjerena 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 uhva ene životinje bile velikog raspona dužina, najve i broj prikupljenih jedinki je bio dužine izme u 30-60 cm (59.0%, Slika 23).

Raspon težina ženki kretao se izme u 80.00 i 6230.00 g (srednja vrijednost 1196,72 $\pm 1725,715$).



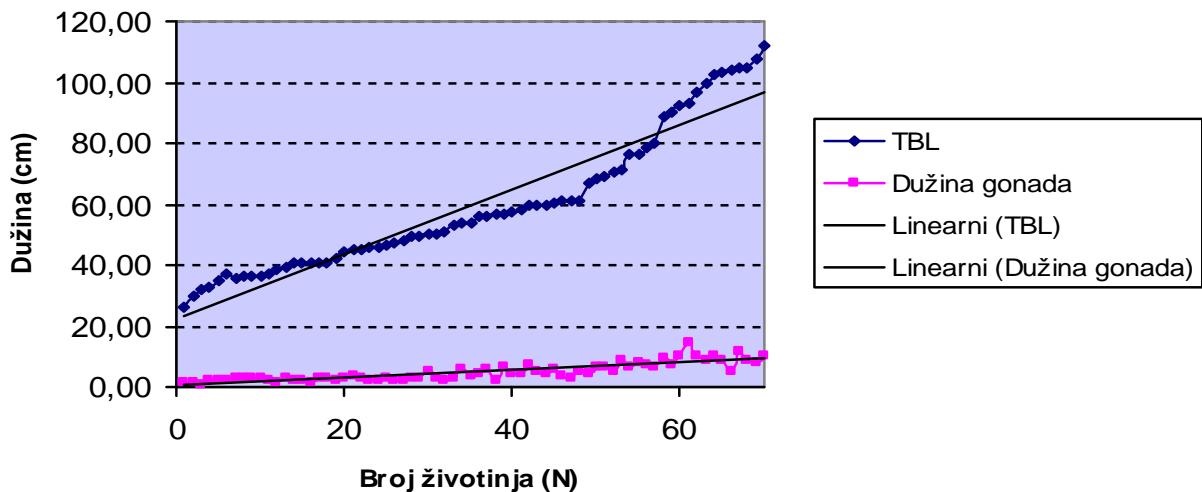
Slika 23. Veličinska raspodjela prikupljenih ženki kostelja (N=100).

Gonade su izmjerene u 70 ženki. Prikaz rezultata prikazan je u tablici 1. Od izmjerениh 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 mjerjenja gonada (N=70).

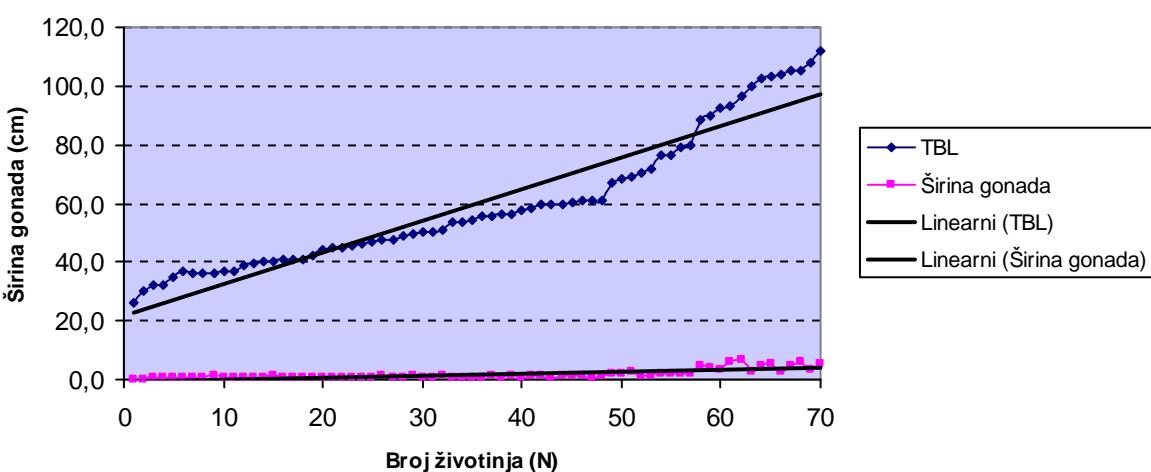
Dužina gonada(cm)	
Minimum	0.80
maskimum	14.60
srednja vrijednost	4.81 ± 3.00
Širina gonada (cm)	
minimalna	0.30
maskimalna	6.80
srednja vrijednost	1.70 ± 1.59
Težina gonada (g)	
Minimum	0.00
maksimum	164.36
srednja vrijednost	11.98 ± 32.85

Uspore ena je dužina ženki s dužinom njihovih gonada, što je prikazano na slici 24. Vidljiva je pozitivna korelacija izme u navedena dva parametra, odnosno s porastom dužine ženke pove ava se i dužina gonada.



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

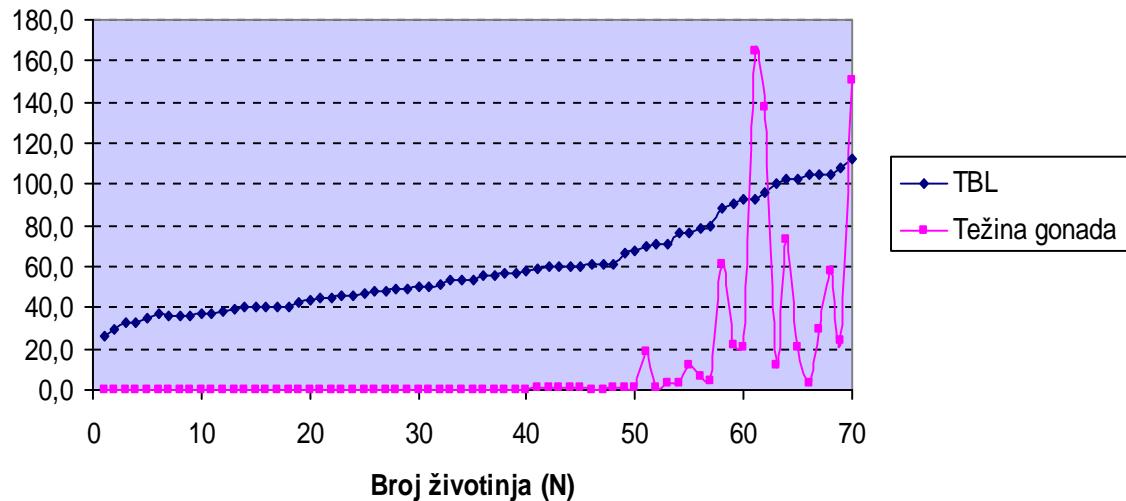
Usporedbu dužina ženki i širina njihovih gonada prikazuje slika 25. Pokazalo se da tako er postoji pozitivna korelacija izme u dužina ženki i širina njihovih gonada, no gonade se u širinu pove avaju nešto sporije nego u dužinu.



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

Tako er je uspore ena dužina ženki s težinom njihovih gonada (Slika 26). Sli no kao i kod usporedbe sa širinom i dužinom gonada, težina gonada tako er pokazuje pozitivan rast s porastom dužina ženki.

Iz sve tri slike (24, 25, 26) vidljivo je da pri veli inama 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 izmjerena 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 obaračnih jajnika (52.4%) je sadržavalo jaja najmanjeg velikinskog razreda (< 10 mm).

Jaja su prema velini 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 veličini inama (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)	

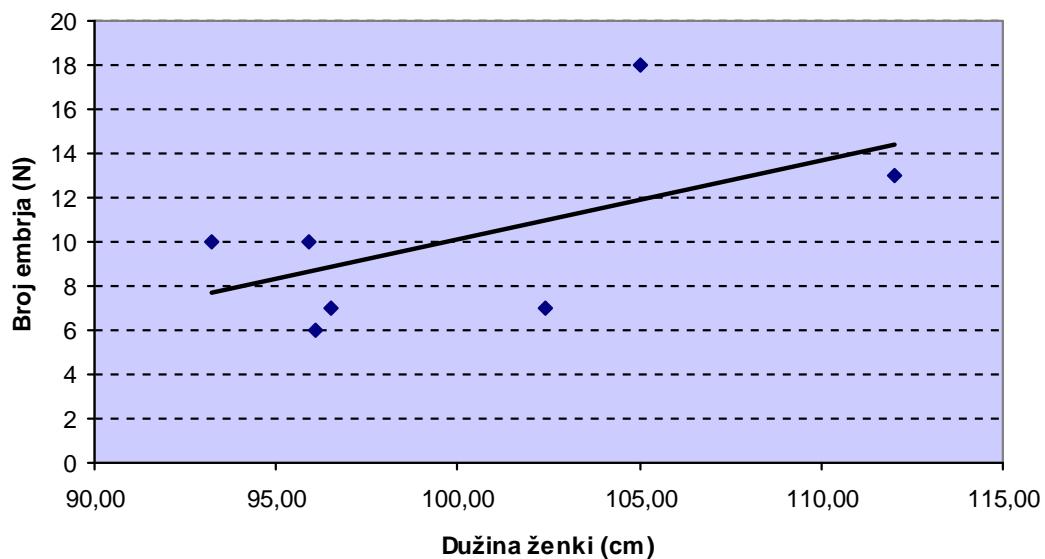
3.2.4 Mjerenja embrija i određivanje spola

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 pronađeno 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.

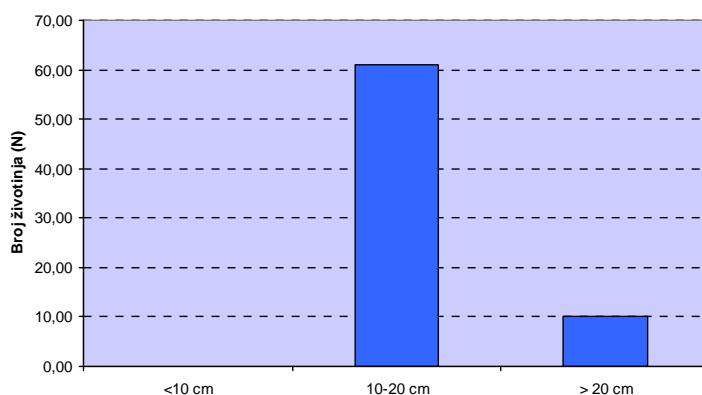
Broj ženki	Broj embrija (N)	Mužjaci (N)	Ženke (N)	Omjer spolova
1	10	3	7	1 : 2.3
2	13	6	7	1 : 1.2
3	7	5	2	2.5 : 1
4	18	6	12	1 : 2
5	7	4	3	1.3 : 1
6	10	4	6	1 : 1.5
7	6	3	3	1 : 1
Ukupno:	71	31	40	1 : 1.3

Brojnost embrija (N) je uspoređena s dužinom ženki u kojem su uterusu nađeni i zamijećeni eni i zamijećeni 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).

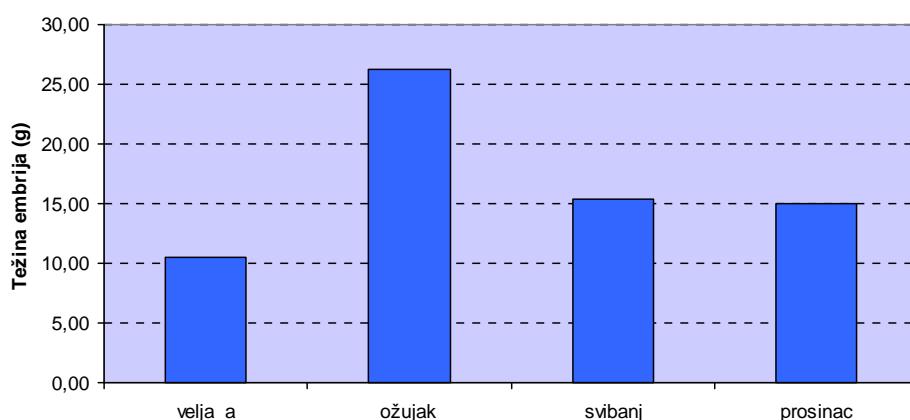


Slika 28. Podjela embrija u skupine prema veličini (prema Demirhan i Seyhan 2006).

Tablica 5. Dužine tijela embrija tijekom godine.

Dužine embrija	velja a	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

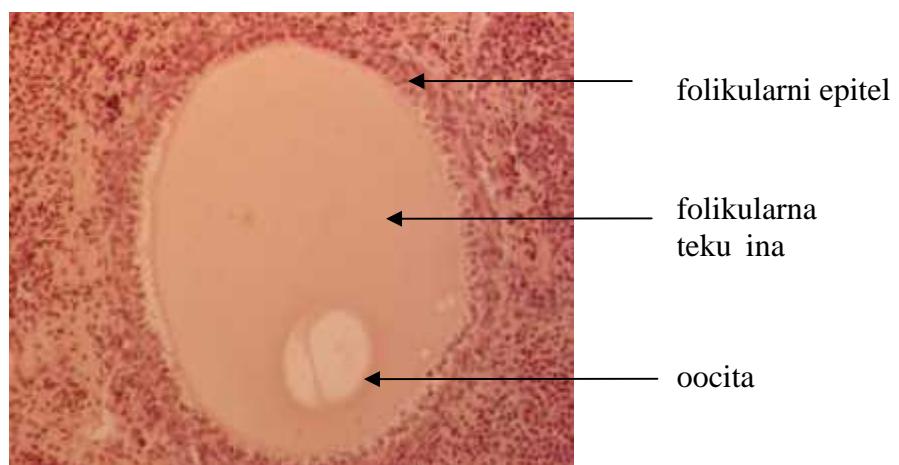
Težina embrija je varirala između 5.96 i 28.13 g (srednja vrijednost 14.23 ± 6.23). U ožujku su zabilježeni embriji najveće težine, dok je u preostalom dijelu godine njihova težina bila podjednaka (Slika 29).



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

3.2.5 Mjerjenje jajnih folikula jajnika na histološkim preparatima

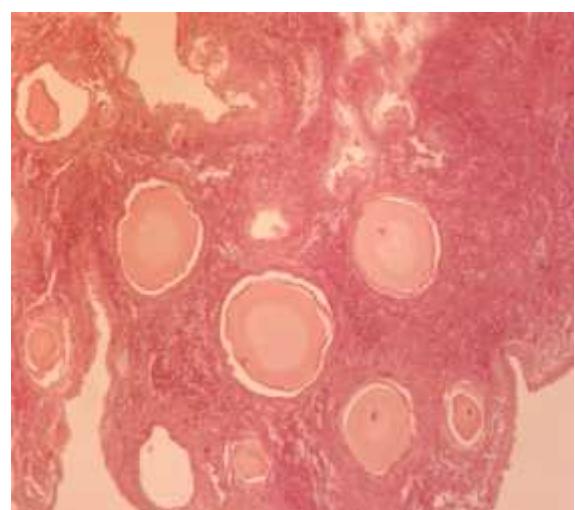
Izmjereni su svi jajni folikuli vidljivi na histološkim preparatima koji su izrađeni od jednog komadića tkiva jajnika, ukupno 73 ženke (Slika 30 i 31). Uzorci jajnika koji su imali velika razvijena jaja nisu histološki obrazovani. Najveći i zabilježeni broj folikula je 46 a najmanji 2. Prema veličini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



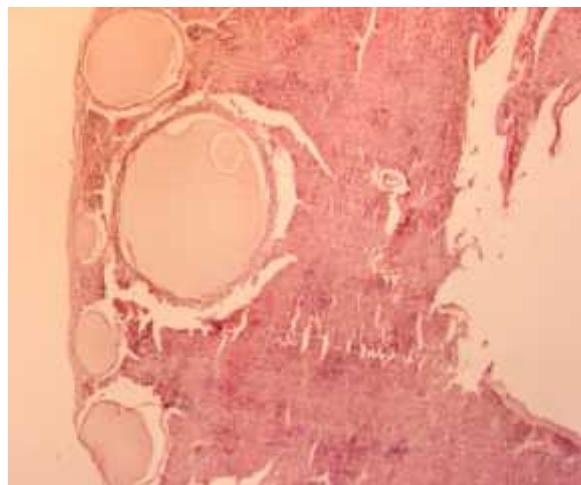
Slika 30. Jajni folikul (pove anje 200x).
Obojano hemelaun-eozinom.



A



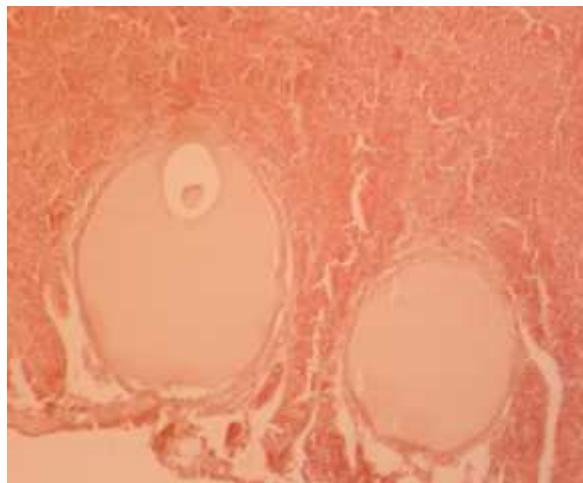
B



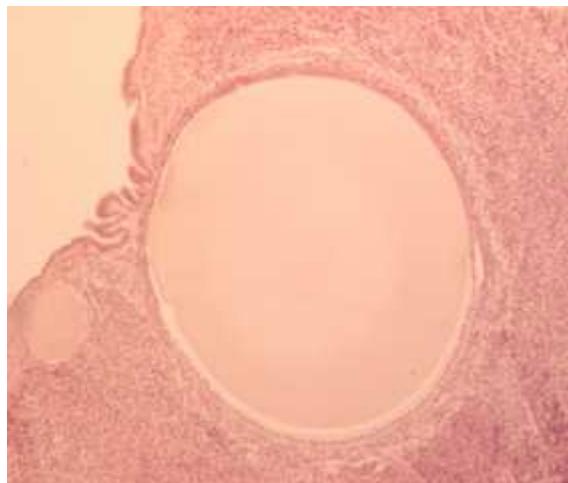
C



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 uhva enih životinja tijekom godine, može se zaključiti da je prisutnost/odsutnost i brojnost ženki kostelja u ulovu rezultat njihovog specifičnog životnog ciklusa i bioloških imbenika. U ovom istraživanju, najviše životinja je ulovljeno u razdoblju od siječnja do lipnja, vjerojatno zbog migracije ženki s embrijima blizu poroda u pli a području. Isto tako, za prepostaviti je da životinje nisu ulovljene u periodu od srpnja do listopada zbog sezonskih migracija kada zbog povišenih temperatura mora odlaze u dublje dijelove mora. Tako er bi se kao razlog izostanka ženki u ulovu mogla navesti i površana 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 redaka u ulovu, pretpostavka je da su veće jedinke većinom izlovljene, a one manjih veličina puštane natrag u more i zbog toga još su u ulovu, te su zbog toga ženke veličine 50-60 cm više zastupljene u populaciji i ulovu tijekom cijele godine.

Tablica 6. Najveća uhvaćena ženka (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 zna ajnije pove avaju kod dužine ženki od oko 60-65 cm. Širina gonada se po inje zna ajnije pove avati kod dužine oko 60 cm, a težina gonada se zna ajnije pove ava kod veli ina ženki od oko 65 cm. Ovi rezultati se podudaraju s jednim postoje im podacima za Jadran od Županovi a (1961), koji navodi da ženke pri veli inama 65-80 cm postaju spolno zrele. Iz toga se može zaklju iti da ženke u isto nom Jadranu dostižu spolnu zrelost kod veli ina 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.

Podru je	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	Županovi (1961)	65.0-80.0

U ulovu je na en 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 isto nom Jadranu, što potvr uje 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 sigurnoš u 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 ve a, 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 podru ja (Tablica 8), ukazuje na pove anu plodnost ili na premali uzorak na kojem je napravljeno ovo istraživanje. Najve i broj ženki s vidljivim jajima u jajniku je uhva en u velja i i svibnju, što se podudara i s najve im izmjerenum promjerom jaja. Iz toga se može zaklju iti da se ovulacija kod ženki kostelja u isto nom Jadranu vjerojatno zbiva u razdoblju od velja e do svibnja, tj. u prolje e. No to svakako nije sigurno, budu i da nema podataka za

period od srpnja do listopada. Conrath i Musick (2002) su prema veli ini jaja, koja su rasla do svibnja i nakon toga postala puno manja do srpnja, zaklju ili da se kod srodne vrste morskog psa (*Mustelus canis*) ovulacija zbiva u razdoblju izme u svibnja i srpnja. Stenberg (2005) na temelju promjera jaja zaklju uje da se ovulacija i oplodnja zbivaju u razdoblju od prosinca do velja e. 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 ve a 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 sigurnoš u moglo re i da su spolno zrele, iako u uzorku imamo 24 ženke koje su ve e od 70 cm, i za koje možemo re i da bi prema veli ini gonada (koje iznad 60 cm duljine tijela životinje po inju naglo rasti) trebale biti spolno zrele.

Tablica 8. Brojnost jaja po jajniku ženke u razli itim podru jima svijeta.

Podru je	Autor i godina	Broj jaja po jajniku (N)
Atlantik	Jones i Ugland (2001)	3-17*
Skagerrak (Švedska)	Stenberg (2005)	4-13
isto no Sredozemno m.	Chatzispyrou A. i Megalofonou P. (2005)	1-22

*-promjer jaja ve ih od 2 cm

Mladi su prona eni u uterusu svega 7 ženki, pa zaklju ci doneseni na temelju tako male koli ine podataka pokazuju okvirno stanje plodnosti ženki kostelja. Dobiveni rezultati pokazuju da je najve em broju embrija (85.9%) dužina tijela bila izme u 10 i 20 cm, što ih svrstava u drugi stadij sazrijevanja, tj u sredinu ciklusa, dok se preostali embriji, ve i od 20 cm dužine svrstavaju u 3 stadij, tj. embriji blizu ro enja.

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 ve a nego što je to navedeno za švedske vode i Pacific (Tablica 9). No, kod brojanja embrija treba pripaziti na sljede e teško e: 1) za vrijeme gestacije može do i do pada plodnosti, pa broj preživjelih mladunaca može biti zna ajno manji od po etnog broja ovuliranih jaja u uterusu, 2) abortiranje mladih zbog stresa uzrokovanih hvatanjem ženke, posebno ako su embriji veli ine koja je karakteristi na za stadij blizu poroda. Stoga se može zaklju iti da je, s obzirom na broj embrija, plodnost ženki kostelja u isto nom Jadranu relativno ve a nego u drugim morima, ali se to ne može sa sigurnoš u 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 more	Avsar (2005)	17
Sredozemno more	Compagno (1984)	1-20
isto na Sredozemno more	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 isto ni 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 u 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 more	Compagno (1984)	18 do 30

Težina pronađenih embrija u uterusu ženki za isto ni Jadran (minimalno 5.96 i maksimalno 28.13 g) je bila veća nego što to u svom istraživanju isto pogodi 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 mogunost. Budući da je ulov trudnih ženki izostao tijekom travnja, te u razdoblju od lipnja do studenog, ne može se to no 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 smanje 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 drugu području, no oni nisu najpogodniji za usporedbu, budući da su doneseni na temelju istraživanja provedenih u drugim 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. ZAKLJU AK

- ❖ Ukupno je ulovljeno i obra eno 100 jedinki ženki kostelja. Izmjerena totalna dužina životinja se kretala od 26.10 do 112.00 cm (srednja vrijednost 58.45 ± 22.59), a najve i broj prikupljenih jedinki je bio dužine izme u 30-60 cm (59.0%).
- ❖ Prema rezultatima morfometrijskih mjerena spolna zrelost ženki nastupa kod duljine tijela od 65 cm i više.
- ❖ Plodnost ženki u isto nom Jadranu, s obzirom na uo eni broj jaja u jajniku ($N=5-28$), je ve a 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 uhva ena nijedna ženka s embrijima spremnim za porod. Omjer spolova embrija je bio ve i 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, budu i da su radovi na tu temu zastarjeli ili uop e ne postoje. Ovaj rad upu uje na prijeku potrebu provedbi istraživanja ovog tipa, kako bi se moglo do i do to nijih zaklju aka, te se bolje moglo o uvati 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. Environmental 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., Scarsbrook 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, Environmental biology of fishes. **64**: 367-377.

Demirhan S. A. i Seyhan K. (2006): Seasonality 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 embryonic 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 hrskavičja (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 Strait of Georgia, 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., Grajan R., ižmek H., Lackovi – Venturin G., Tvrtkovi 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. Environmental 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. Environmental 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 maternal-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)		