

# Histološka i morfometrijska analiza gonada mužjaka kostelja (*Squalus acanthias* L.) u Jadranskom moru

---

Posavec, Ivan

Master's thesis / Diplomski rad

2012

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:245585>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-31**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno – matematički fakultet  
Biološki odsjek

Ivan Posavec

Histološka i morfometrijska analiza gonada mužjaka kostelja  
(*Squalus acanthias* L.) u Jadranskom moru

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2012. godina

Ovaj diplomski rad, izrađen na Zoološkom odjelu Hrvatskog prirodoslovnog muzeja i na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka 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. inž. biologije, smjer ekologija.

Najljepše zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Gordani Lacković–Venturin na strpljenju i svesrdnoj pomoći prilikom izrade i osmišljavanja ovog rada, kao i djelatnicima Zoološkog odsjeka Hrvatskog prirodoslovnog muzeja.

Posebnu zahvalnost dugujem dr. sc. Bojanu Lazaru i dipl. inž. Romani Gračan na pomoći, beskrajnom strpljenju i savjetima bez kojih ovaj rad ne bi bio moguć.

Veliko hvala Stjepanu, Tanji, Danijeli te roditeljima na strpljenju tokom svih ovih godina studija.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

## Histološka i morfometrijska analiza gonada mužjaka kostelja (*Squalus acanthias* L.) u Jadranskom moru

Ivan Posavec

Rooseveltov trg 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

U razdoblju od 2005. do 2007. godine na području sjevernog Jadrana prikupljena je 61 jedinka mužjaka vrste pas kostelj (*Squalus acanthias* L.). Istraživano područje obuhvaćalo je Lošinjski akvatorij između 44°32' i 43°44' sjeverne zemljopisne širine te 15°05' i 14°40' istočne zemljopisne dužine. Životinje su prikupljane pomoću komercijalnih kočarica. Ulovljeni morski psi su morfometrijski obrađeni nakon čega su izolirane gonade. Na prikupljenim uzorcima testisa izvršena je histološka analiza i stereološka mjerenja, kako bi se utvrdili razvojni stadiji gonada. Rezultati pokazuju da se ukupna duljina životinja kretala u rasponu između 30,0 cm i 81,6 cm (srednja dužina  $\pm$  SD: 53,50  $\pm$  14,13). Na temelju morfometrijske analize zaključeno je da mužjaci dostižu spolnu zrelost kod veličina tijela većih od 55 cm. Histološkom analizom gonada identificirano je šest stadija spermatogeneze te su formirane 4 skupine jedinki prema vremenu ulova. Stereološkim mjerenjima na histološkim preparatima utvrđena je visoka razina zrelih spermatocista u skupini ulovljenoj između studenog i prosinca, što upućuje da se ova vrsta razmnožava u tom dijelu godine.

(37 stranica, 17 slika, 3 tablice, 58 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u središnjoj biološkoj knjižnici.

**Ključne riječi: pas kostelj, sjeverni Jadran, gonade**

Voditelj: Dr. sc. Gordana Lacković–Venturin, izv. prof.

Ocjenjivači : Dr. sc. Gordana Lacković–Venturin, izv. prof.

Dr. sc. Zoran Tadić, doc.

Dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek, doc.

Zamjena: Dr. sc. Mirjana Kalafatić, izv. prof.

Rad prihvaćen: 12. rujna 2012.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Division of Biology

Graduation Thesis

### Histological and morphometric analysis of gonads in the male spiny dogfish (*Squalus acanthias* L.) in the Adriatic Sea

Ivan Posavec

Rooseveltovo trg 6, 10 000 Zagreb, Croatia

In period between years 2005 and 2007 in the northern Adriatic Sea, 61 specimens of the male spiny dogfish (*Squalus acanthias* L.) were collected by on-board observers on five commercial bottom trawls. Fishing vessels operated in area between 44°32' and 43°44' N, and 15°05' and 14°40' E. The collected specimens were measured and gonads were isolated. On the collected testicles we utilized morphometric and histological examination in order to analyze development of gonads. Morphometric results showed that the total body length of the specimens ranged from 30,0 cm to 81,6 cm (average  $\pm$  SD: 53,50  $\pm$  14,13) and the length at which males reach sexual maturity is over 55 cm. Histological analyses of the gonads identified six stages of the spermatogenesis. Based on the period in which specimens were collected, the sample was divided in 4 groups. Stereological analyses on testical histological slides showed high level of mature spermatocyst in a group of November-December, indicating those months to be the species' mating activity period.

(37 pages, 17 figures, 3 tables, 58 references, original in: Croatian)  
Thesis deposited in Central Biological Library.

**Key words: Spiny dogfish, the northern Adriatic Sea, gonads**

Supervisor: Dr. Gordana Lacković–Venturin, Assoc. Prof.

Reviewers: Dr. Gordana Lacković–Venturin, Assoc. Prof.

Dr. Zoran Tadić, Asst. Prof.

Dr. Željka Vidaković-Cifrek, Asst. Prof.

Replacement: Dr. Mirjana Kalafatić, Assoc. Prof.

Thesis accepted : 12<sup>th</sup> September 2012

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Sistematika i evolucija morskih pasa .....	1
1.2. Taksonomski položaj i rasprostranjenost psa kostelja ( <i>Squalus acanthias</i> L., 1758).....	2
1.3. Opće karakteristike vrste <i>Squalus acanthias</i> .....	4
1.3.1. Morfologija.....	4
1.3.2. Prehrana.....	5
1.3.3. Strategije razmnožavanja i reproduktivni ciklus .....	5
1.3.4. Anatomija ženskog spolnog sustava.....	7
1.3.5. Anatomija muškog spolnog sustava .....	7
1.3.6. Spermatogeneza.....	8
1.4. Morski psi u Jadranu .....	9
1.5. Područje istraživanja .....	10
1.6. Status i očuvanje morskih pasa .....	12
1.7. Cilj istraživanja.....	13
<b>2. MATERIJAL I METODE</b> .....	14
2.1. Terenska istraživanja i prikupljanje materijala .....	14
2.2. Laboratorijska analiza .....	15
2.2.1. Priprema histoloških preparata .....	15
2.2.2. Stereološke metode.....	18
2.2.3. Određivanje spolne zrelosti .....	19
<b>3. REZULTATI</b> .....	20
3.1. Vremenska raspodjela nalaza kostelja.....	20
3.2. Morfometrijska mjerenja.....	20
3.3. Gonadosomatski indeks.....	24
3.4. Stereološka analiza.....	25
3.5. Spolna zrelost .....	28
<b>4. RASPRAVA</b> .....	29
<b>5. ZAKLJUČAK</b> .....	32
<b>6. LITERATURA</b> .....	33

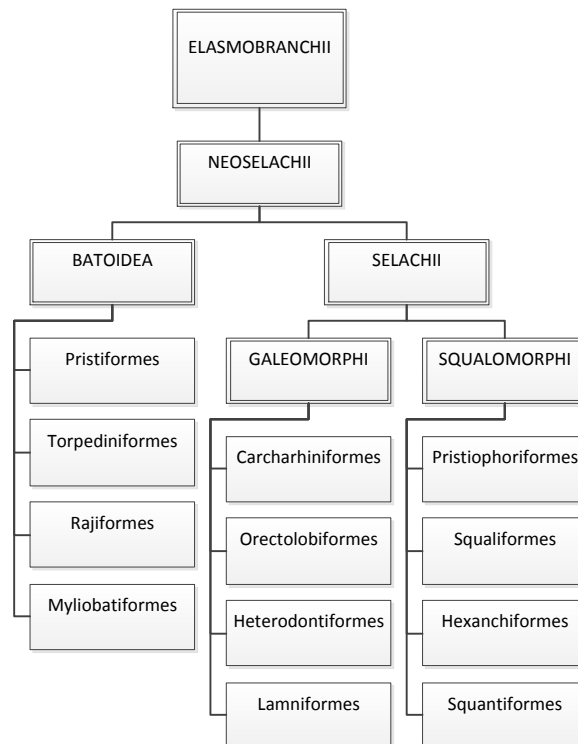
# 1. UVOD

## 1.1. SISTEMATIKA I EVOLUCIJA MORSKIH PASA

Ribe su sistematski umjetna skupina koja pripada koljenu Chordata (svitkovci), odnosno potkoljenu Vertebrata (kralježnjaci). Podijeljena je u dva nadrazreda: Agnatha (besčeljusti) i Gnathostomata (čeljustousti). Nadrazredu besčeljusti pripadaju dva razreda: Myxini (sljepulje) i Cephalaspidomorphi (paklare), dok nadrazredu čeljustousti pripadaju tri razreda riba: Chondroichtyes (hrskavičnjače), Sarcopterygii (mesoperke) i Actinopterygii (zrakoperke) (Nelson 1994).

Od 32 100 danas poznatih vrsta (fishbase.org 2011) 95% pripada razredu koštunjača, a svega 5% razredu hrskavičnjača. Compagno (2001) navodi 60 porodica hrskavičnjača, približno 500 vrsta morskih pasa, 600 vrsta raža te 50 vrsta himera.

Razred hrskavičnjača (Chondroichtyes) obuhvaća dva podrazreda, prečnouste (Elasmobranchii) i cjeloglavke (Holocephali). Prečnouste obuhvaćaju dva nadreda Batoidea (raže i mante), koji sadržava četiri reda te Selachii (morski psi) sa sveukupno osam redova (Slika 1).



**Slika 1.** Klasifikacija prečnousta (Costello i sur. 2008)



Prvi fosil hrskavičnjača datira s kraja donjeg devona, prije otprilike 400 milijuna godina (Benton 1990; Chaline 1990). Do tada svi su poznati kralješnjaci bili besčeljusti (Agnatha), odnosno imali su samo usta za filtriranje. Pojava čeljusti značila je veliki evolucijski napredak budući da je kralješnjacima omogućila aktivan način lova. Događaji koji su uslijedili doveli su do pojave hrskavičnjača, odnosno riba s hrskavičnim kosturom. Iako su fosilni nalazi hrskavičnjača rijetki, pronađeni fosili ukazuju na veliku raznolikost. Vrhunac razvoja hrskavičnjača je zabilježen tijekom karbona, od prije 320 do 250 milijuna godina, kad su hrskavičnjače bile brojnije od koštunjača u omjeru 6:4 (Gruber 2000). Prema dosadašnjim podacima tada je bilo više od 3000 vrsta. Zbog sporog somatskog rasta svojstvenog morskim psima te niskog fekunditeta, nisu se znatno promijenili u prošlih 100 milijuna godina. Obzirom da su navedene osobine stekli vrlo rano u evolucijskom razvoju, time su se odlično prilagodili svom okolišu i smatraju se visoko razvijenom skupinom (Lipej i sur. 2004).

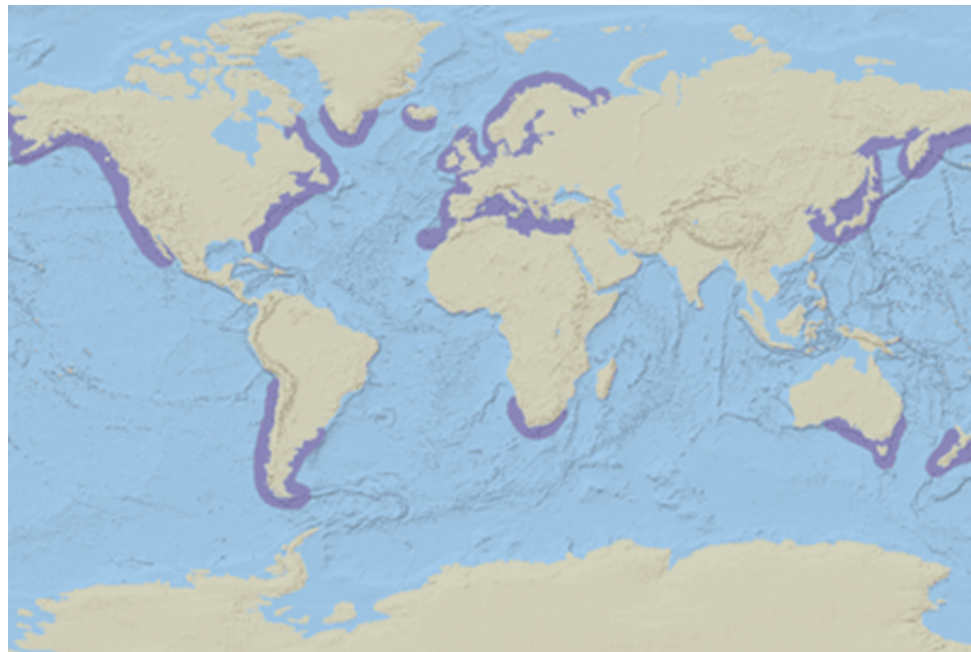
## **1.2. TAKSONOMSKI POLOŽAJ I RASPROSTRANJENOST PSA KOSTELJA (*Squalus acanthias* L., 1758)**

*S. acanthias* (pas kostelj) sistematski je svrstan u:

- Carstvo: Animalia
- Koljeno: Chordata
- Potkoljeno: Vertebrata
- Nadrazred: Gnathostomata
- Razred: Chondroichtyes
- Podrazred: Elasmobranchii
- Nadred: Selachii
- Red: Squaliformes
- Porodica: Squalidae
- Rod: *Squalus*

U redu Squaliformes u Jadranu nalazimo tri porodice zastupljene sa sedam vrsta od kojih dvije pripadaju rodu *Squalus*: *S. acanthias* i *S. blainvillei* (Jardas 1996). Uz hrvatski naziv pas kostelj, *S. acanthias* poznat je i pod više narodnih naziva poput azja, koščak, kucin, kućak, pas kostić, pas košćenjak i pena.

Pas kostelj je rasprostranjen cirkumborealno (Bigelow i Schroeder 1953) u umjerenim i borealnim vodama svjetskih oceana sjeverne i južne polutke (Slika 2) uključujući i Mediteran i Crno more (Askiray 1987; Compagno 1989; Asvar 2001). U Jadranu naseljava sjeverni i srednji dio te je brojniji u kanalima (Jardas 1996). Zapažen je na najvećoj dubini od 272 m na području Jabučke kotline (Jardas 1972). Glavne populacije su rasprostranjene na području sjeverozapadnog i sjeveroistočnog Atlantika, sjeveroistočnog i sjeverozapadnog Pacifika, južnoatlantskog i južnopacifičkog otvorenog mora južne Amerike i Novog Zelanda, s manjim populacijama u otvorenom moru južne Afrike i južne Australije. Neke su populacije prilično sedentarne, dok druge migriraju na velike udaljenosti, no ipak se izmjena genetskog materijala između populacija smatra ograničenom (Hammond i Ellis 2005). U tropskim vodama ga nema (Jardas 1996). Populacije su međusobno odvojene dubokim morskim područjem, tropskim vodama ili polarnim regijama (CITES 2006). Jadranske populacije migriraju u plovama koje se sastoje od jedinki približno iste starosti i dužine ili individualno sa manjom prisutnosti u južnom dijelu Jadrana (Županović 1961).



**Slika 2.** Rasprostranjenost vrste *Squalus acanthias* (preuzeto iz oceana.org)

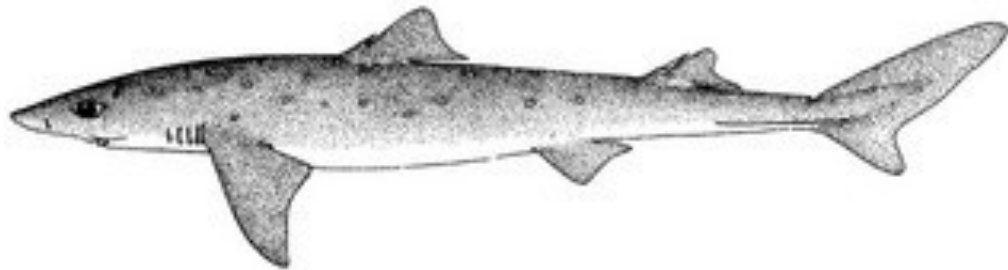
Pas kostelj je pridnena vrsta i obitava uz kontinentalnu podinu uglavnom između 20 i 200 m dubine, iako je zabilježen i na 900 m dubine (Compagno 1984). Preferira muljevita dna. Mužjaci obitavaju na manjim dubinama od ženki (Lipej i sur. 2004). Najviše voli

temperaturu mora od 7-8 °C do najviše 12-15 °C (Jardas 1996). Vrlo su aktivni i pojavljuju se pojedinačno ili u vrlo velikim plovama. Plašljivi su i za ljude potpuno bezopasni (Tricas i *sur.* 1997).

### 1.3. OPĆE KARAKTERISTIKE VRSTE *Squalus acanthias*

#### 1.3.1. Morfologija

Tijelo psa kostelja je izduženo, vretenasto i vitko. Ima dvije leđne peraje (Slika 3).



Na prednjem dijelu leđnih peraja nalazi se snažna bodlja koja je kraća od peraja (Jardas 1996), bodlja uz drugu leđnu peraju je duža od one uz prvu leđnu peraju (Lipej i *sur.* 2004), dok je kod veličine leđnih peraja odnos obrnut, odnosno prva je veća od druge. Prva leđna peraja počinje iza ili iznad stražnjeg slobodnog vrha prsnih peraja. Podrepnu peraju nema. Repna peraja je nejednakokrišćana i zauzima 1/5 dužine tijela. Njuška je trokutasta i dosta dugačka. Oči i štrcali su velika. Ima pet pari kratkih škržnih otvora. Zubi su maleni, jako iskošenih vrhova i gotovo ležeći. Plakoidne ljuske su trozube (Jardas 1996). Boja dorzalne strane tijela je plavkasto siva ili smeđa s nekoliko malih bijelih točkica. Kod odraslih primjeraka bijele točke mogu biti blijede, ili nedostajati u potpunosti. Ventralna strana je bijela (Lipej i *sur.* 2004).

Pas kostelj može biti dužine do 160 cm (Lipej i *sur.* 2004), no obično im dužina varira između 60 i 90 cm kod mužjaka, dok su ženke duže te njihova dužina varira najčešće između 75 i 100 cm (Jardas 1996). Dužina pri okotu iznosi od 20 do 33 cm (Lipej i *sur.* 2004). Mogu dostići masu od 9100 g.

Vrsta dostiže starost do 40 godina i ima spor somatski rast te nisku stopu reprodukcije (Nammack i *sur.* 1985). Zbog toga psa kostelja svrstavamo među životinje takozvane „K“ životne strategije, koje su visoko specijalizirane za svoj biotop i vrlo konkurentni za ekološku nišu unutar ekosustava, iako slabije otporni prema stresu i promjenama u okolišu (Demirham i Seyhan 2006; Nammack i *sur.* 1985).

### **1.3.2. Prehrana**

Pas kostelj uglavnom se hrani ribom (koštunjačama i morskim psima), glavonošcima, racima, polihetama, trpovima, rebrašima i meduzama. Prema načinu ishrane je oportunist. Prema Jardasu (1972) u 8,8% slučajaja plijen mu čine ribe *Maena vulgaris* i *Cepola rubecens*, vrste roda *Ozaena* su mu najčešći plijen od glavonožaca (36,4%), dok od rakova u više od 50% slučajaja lovi vrstu škampa *Alpheus glaber*.

### **1.3.3. Strategije razmnožavanja i reproduktivni ciklus**

Kod svih prečnousta oplodnja je unutrašnja. Unutrašnja oplodnja osigurava da jajašca, čija proizvodnja predstavlja veliki utrošak energije, ne budu pojedena od drugih životinja, sva energija namijenjena za reprodukciju prenosi se na embrio, a također je smanjeno rasipanje spermija. Karakteristično je stvaranje malog broja velikih jajašaca, odnosno fekunditet je mali. 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 (Musick i Bonfil 2004).

Vrijeme zadržavanja oplodjenih jaja u tijelu ženki različito je i ovisi o vrsti i o reproduktivnoj strategiji. Prema reproduktivnim strategijama morski psi se dijele na oviparne, placentalno viviparne, i aplacentalno viviparne vrste (Wourms 1977). Kod oviparnih vrsta jajašca se razvijaju izvan tijela ženke, dok se kod placentalno viviparnih vrsta između embrija i majke stvara placentalna veza preko koje se embrij opskrbljuje hranjivim tvarima.

Ženke psa kostelja spolno sazrijevaju kada su duge između 60 (70) i 100 cm, a mužjaci između 59 i 72 cm (Jardas 1996). Pas kostelj ima aplacentalno viviparnu strategiju razmnožavanja. Unutar kategorije aplacentalno viviparnih vrsta postoji više razvojnih oblika, a Wourms (1977) ih je podijelio 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 dvjema 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 ovojnice, hrane se ostalim ovuliranim jajima. Adelofagija ili intrauterini kanibalizam predstavlja strategiju kod koje najrazvijeniji embrij u stražnjem proširenom dijelu jajovoda 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 embrio i mogu ulaziti u sam embrio kroz škržne pukotine. Kako se smanjuju zalihe žumanjka, trofonemata se produžuju i izlučuju „uterini“ sekret bogat proteinima i lipidima (Wourms 1981). To znači da se embriji razvijaju u završnom proširenom dijelu jajovoda i imaju žumanjčanu vrećicu, a ne formira se placentalna veza između embrija i majke te im je za potpunu razvitak neophodan žumanjak (Wourms 1977). Kostelj prema svim karakteristikama svoje reproduktivne biologije pripada aplacentalnim viviparnim vrstama (3. skupina). 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 (Wourms 1977).

Reproduktivni ciklus psa kostelja 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 (Županović 1961), 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 okota. Embrionalni razvoj psa kostelja traje 18-22 mjeseca (Jardas 1996), ponekad i do 24 mjeseca (Chatzistryrou i Megalofonou 2005), što je najduži gestacijski period zabilježen kod morskih pasa (Ketchen 1972; Nammack i *sur.* 1985). Jones i Green (1977) pišu da se ovulacija i gestacijski period ženki kostelja zbivaju istovremeno, odnosno jaja u jajniku se razvijaju u isto vrijeme kada i mladi u završnom

proširenom dijelu jajovoda. Smatra se da se okot odvija u estuarijima i zaljevima (Richards 2004) ili u srednje dubokim vodama, dubine 90-200 m (Ketchen 1972). Veličina mladih kod okota je 20-33 cm (Jones i Ugland 2001).

#### **1.3.4. Anatomija ženskog spolnog sustava**

Ženski spolni sustav kostelja sastoji se od parnih ili jednostrukih jajnika i jajovoda, koji su naborom potrbušnice, mezovarijem i mezotubarijem, pričvršćeni za trbušnu šupljinu. Jajnici 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 tijelo. Diferenciraju se u prednji dio (otvor jajovoda ili ostium), oviduktalnu (nidamentalnu ili lupinsku) žlijezdu, suženi dio (isthmus), završni prošireni dio jajovoda, zatim cerviks i završavaju urogenitalnim sinusom (Hamlett i Koob 1999).

#### **1.3.5. Anatomija muškog spolnog sustava**

Muški spolni sustav psa kostelja se sastoji od sjemenika, sjemenovoda (ductus efferens, epididimis (nuzsjemenik), ductus deferens i vezikula seminalis), pomoćnih žlijezda i sekundarnih spolnih organa. Sjemenici su parne strukture i potrbušnicom (mezorhium) su pričvršćeni za trbušnu šupljinu. U njima se odvija spermatogeneza te imaju ulogu stvaranja i lučenja steroidnih hormona. Nuzsjemenik i sjemenik su spojeni preko tankih cjevčica koje se protežu uzduž potrbušnice do anteriorne strana sjemenika (ductus efferens). Zreli spermiji se ispuštaju iz sjemenika kroz ductus efferens na koji se nastavlja nuzsjemenik, odnosno duga cjevčica s mnogostrukim i gusto poredanim zavojima. Na nuzsjemenik se veže sljedeći dio sjemenovoda ductus deferens, poznat i kao Wolffova cjevčica. Na ductus deferens se nastavlja sjemene vrećice (ampulla ductus deferens). Ductus deferens i sjemeni mjehurići služe kao spremište za spolne produkte. Mokraćovod se spaja na terminalni dio sjemenih vrećica i oboje završavaju na anteriornoj strani urogenitalnog sinusa. Urogenitalni sinus se otvara u nečisnicu. Tu se nalaze dvije žlijezde, Leydigova žlijezda i žlijezda koja luči alkaličan sekret. Leydigova žlijezda je serija isprepletenih cjevastih struktura koje luče sjemenu tekućinu u nuzsjemenik (Hamlett i Koob 1999).

Sekundarni spolni organi mužjaka su klasperi, koji su diferencirani iz trbušnih peraja i služe kao kopulatorni organi, odnosno za prijenos spermija i sjemene tekućine do ženke. Klasperi imaju dorzalnu brazdu kroz koju prolaze spermiji i sjemena tekućina tijekom parenja.

### **1.3.6. Spermatogeneza**

Histološka organizacija testisa kralješnjaka je visoko konzerviran sustav izgrađen od dva odvojena odjeljka. Prvi je germinativni epitel koji sadrži sve razvojne stadije stanica koje će nakon niza složenih morfoloških promjena tvoriti gamete. U germinativnom dijelu testisa nalaze se i epitelne Sertolijeve stanice. Glavna uloga Sertolijevih stanica je potpora, prehrana i zaštita germinativnih stanica u razvoju. Asocijacija germinativnih stanica sa bazalnim epitelnim stanicama je karakteristika prisutna u svim razredima kralješnjaka. Drugi odjeljak leži izvan germinativnog epitela a sastoji se od intersticijskog tkiva koje osim vezivnog tkiva i kapilara sadrži i Leydigove stanice. Uloga Leydigovih stanica je u proizvodnji spolnih hormona i androgena. Leydigove stanice su zabilježene u svim razredima potkoljena kralješnjaka. Iako je tok spermatogeneze sličan u svih kralješnjaka postoje određene razlike (Junqueira i Carneiro 2005).

U svih riba i vodozemaca osnovna jedinica spermatogeneze je spermatocista. U morskih pasa definirano je sedam stadija spermatogeneze (Musick i Bonfil 2004). Spermatogeneza započinje od nakupina germinativnih stanica, spermatogonija i pojedinačnih Sertolijevih stanica. U sljedećem stadiju dolazi do dijeljenja Sertolijevih stanica koje obavijaju nakupine germinativnih stanica tvoreći vanjske stijenke spermatocista. Tokom trećeg stadija spermatogonije unutar spermatocista prolaze kroz mitozu pri čemu nastaju primarne spermatocite, a nakon toga kroz prvu mejotičku diobu gdje primarne spermatocite prelaze u sekundarne spermatocite. U četvrtom stadiju sekundarne spermatocite prolaze kroz drugu mejotičku diobu te prelaze u spermatide. U petom stadiju pojedine spermatide prolaze kroz morfološke promjene pri čemu se diferencira glava i rep te govorimo o nezrelim spermijima. Tokom šestog stadija spermiji se grupiraju u guste nakupine sa spiralnim rasporedom unutar spermatociste pri čemu su glave spermija okrenute prema vanjskoj stijenci spermatociste, dok repovi strše prema središtu. Tada govorimo o zrelih spermijima. Sedmi stadij je definiran na rubovima testisa, a sastoji se od praznih spermatocista i slobodnih spermija. Nakon puknuća spermatocista i izbacivanja zrelih spermija, stijenke spermatocista reapsorbiraju Sertolijeve stanice.

## **1.4. MORSKI PSI U JADRANU**

Uzimajući u obzir zoogeografske razlike u Jadranskoj ihtiofauni, razlikujemo tri područja: sjeverni Jadran, koji ima karakter boreala, zatim srednji Jadran, kojeg

karakteriziraju borealne i termofilne vrste te južni Jadran kojeg karakteriziraju pretežito termofilne vrste (Jardas 1996).

U Jadranskom moru živi više od 430 vrsta riba, što čini 70% svih poznatih vrsta riba u Mediteranu. 54 vrste pripadaju razredu hrskavičnjaca koji je podijeljen u dva podrazreda, tri reda i 21 porodicu. Ostatak čine vrste razreda koštunjača (Lipej i sur. 2004). Taj broj se ne može smatrati konačnim iz nekoliko razloga. Kao prvo i dalje postoje područja u Jadranskom moru koja su nedovoljno istražena u pogledu ihtiofaune. Nadalje se smatra da su varijacije u broju vrsta izravno povezane s varijacijama u temperaturi mora i saliniteta (Dulčić i sur. 1999, 2004; Dulčić i Grbec 2000; Lipej i sur. 2004). U Jadranu je identificirano 29 vrsta morskih pasa, a klasificirani su unutar pet redova, 14 porodica i 25 rodova. Najčešće vrste morskih pasa u Jadranskom moru su pas kostelj, *S. acanthias*, mačka crnosta, *Galeus melastomus* (Rafinesque 1810), mačka bljedica, *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus 1758), velika morska mačka, *S. stellaris* (Linnaeus 1758), čukov, *Mustelus mustelus* (Linnaeus 1758), pas mekuš, *M. asterias* (Cloquet 1821), pas kostelj crnac, *E. spinax* i modrulj, *Prionace glauca* (Linnaeus 1758) (Lipej i sur. 2004).

Morski psi Jadranskog mora su općenito manji i dostižu spolnu zrelost kod manjih dužina tijela nego što je to zabilježeno u istraživanjima koja su provedena na drugim područjima (Soldo 2003).

Posljednjih godina se brojnost gotovo svih vrsta morskih pasa u Jadranu smanjila (Lipej i sur. 2004). Jedan od razloga je za to je pretjerani izlov vrsta kojima se morski psi hrane (Soldo 2003). Vrste koje su zahvaćene tim problemom su: pas kostelj (*S. acanthias*), psina zmijozuba, *Carcharias taurus* i velika bijela psina, *Carcharodon carcharias*. Uz vrste morskih pasa koje prirodno obitavaju u Jadranskom moru posljednjih su se godina počele pojavljivati vrste koje prirodno obitavaju u tropskim vodama. One dolaze iz Atlantskog oceana i Crvenog mora, što je rezultat globalnog zatopljenja i zagrijavanja Jadranskog mora (taj se fenomen zove „tropikalizacija“) (Dulčić i sur. 1999, 2003, 2004).

## 1.5. PODRUČJE ISTRAŽIVANJA

Jadransko more je pretežno zatvoreno more koje je preko Jonskog mora povezano sa Sredozemnim morem pa je samim time dobilo naziv „zaljev Sredozemlja“. Granica Jadranskog i Jonskog mora su Otrantska vrata široka 75 km između Italije i Albanije.



Površina Jadranskog mora zajedno s otocima iznosi 138 595 km<sup>2</sup> (4,6% Mediteranskog bazena), maksimalna duljina mu je 870 km, dok mu je maksimalna širina 159,3 km. Srednja dubina Jadranskog mora iznosi 251 m, pretežno je plitko (sjeverno od Pule ne prelazi 50 m), veće dubine nalazimo samo u području Jabučke kotline (273 m) i Južnojadranske kotline (1330 m). Najveći dio dna (bental) pripada kontinentskoj podini ili šelfu, a znatno manji dio kontinentskom slazu ili batijalu tj. morskom dnu ispod 200 m dubine (Jardas 1996). Dijeli se na sjeverni, srednji i južni Jadran (Jardas 1996), a proteže se na oko 800 km geografske dužine, te 100 do 200 km geografske širine.

Obzirom na fizičku strukturu i različite facijese morskog dna razlikujemo hridinasto (kamenito), šljunkovito, ljuštorno, pjeskovito i muljevito dno. Najveću površinu prekriva muljeviti i pjeskoviti sediment. Pjeskoviti sedimenti formiraju se u priobalnom području i plićim dijelovima Jadranskog šelfa. Muljeviti sedimenti prekrivaju najveći dio jadranskog bazena i ti se sedimenti formiraju na mjestima neznatnog gibanja vode (Jardas 1996).

Gledajući temperaturne odnose Jadransko more je toplo more kojem temperatura ne pada ispod 11 °C. Temperatura mora mjeri se pri samoj površini te na svim postajama u Jadranu maksimum dostiže u kolovozu (~24 °C). Na južni dio Jadrana djeluje topla voda što dotječe iz Sredozemlja. Prema otvorenom moru (Split, Hvar) vrijednosti temperature mora rastu. (Peres i Gamulin Brida 1973).

Ljeti, razlike u temperaturi mora između sjevera i juga gotovo ne postoje, uočava se tek blago povećanje vrijednosti prema sjeveru. Uzrok tome je dotok voda iz sjevernojadranskih rijeka (s posebnim naglaskom na rijeku Po). Izuzetak u temperaturnom polju čini postaja u Senju koja predstavlja ljetnu singularnu točku. U Senju je temperatura mora niža od temperature na ostalim postajama i do 3,5 °C (Penzar i *sur.* 2001). Zagrijavanje mora je veće početkom proljeća, nastavlja se kroz topli dio godine s time da su najveće temperature na površini. Na dubini oko 20 m stvara se sloj u kojem temperatura naglo opada s porastom dubine. U rujnu, more se počinje hladiti zbog smanjene primljene energije te jačih vjetrova. Hladnija površinska voda tone te uzrokuje miješanje morske vode, površinski se slojevi tako i dalje hlade, a dublji zagrijavaju. Proces miješanja traje do zime kada nastupa hlađenje čitavog vodenog stupca (<http://jadran.gfz.hr/temperatura.html> 2011).

Jadranski bazen obilježava voda visoke slanoće  $38,3 \times 10^{-3}$ . Vrijednost saliniteta za istočni Jadran iznosi  $39 \times 10^{-3}$ , a zapadni  $37,3 \times 10^{-3}$ . Općenito, slanost jadranskog mora

opada idući od juga prema sjeveru te od otvorenog mora prema obali. Razlog tome je ulazak slanije istočnomediteranske vode u Jadran, a sa druge strane utjecaj kopnenih voda. Tijekom godine postoje varijacije u salinitetu zbog izmjene vodenih masa između Jadranskog i istočnog Sredozemnog mora (Buljan i Zore Armanda 1971; Peres i Gamulin Brida 1973).

Promatrajući gibanje vodenih masa primjećujemo da ponajviše ovisi o njegovim geomorfološkim, meteorološkim i hidrografskim značajkama. Obzirom na gibanje vodenih masa Jadransko more možemo podijeliti na tri zasebna vodoravna sloja: površinski, intermedijarni i pridneni koji su međusobno nezavisni. Strujanje vodenih masa u površinskom sloju Jadranskog mora je ciklonalno odnosno kreće se u suprotnom smjeru od kazaljke na satu. U intermedijarnom sloju prevladava ulazno strujanje tijekom cijele godine koje se pojavljuje kao kompenzacijska struja izlaznog strujanja u površinskom sloju. Izlazno strujanje prevladava u pridnenom sloju kao kompenzacija na ulazanje vode u površinskom i intermedijarnom sloju u Jadranu.

Jadransko more je niskoproduktivno (oligotrofno), gledajući primarnu produkciju produktivnije je uz obalu, nego u području otvorenog mora. Najviša primarna produkcija zabilježena je u proljeće zbog većeg priljeva vode s kopna koja je obogaćena mineralnim tvarima. Godišnja produkcija ugljika iznosi oko 9 milijuna tona. Niska razina organske produkcije posljedica je manje koncentracije hranjivih soli u morskoj vodi (posebno fosfata i nitrata). Jedino sjeverno područje je visokoproduktivno i ono se smatra najproduktivnijim dijelom Sredozemnog mora.

Jadran je more bogato vrstama, u njemu obitava oko 7000 biljnih i životinjskih vrsta. Beskralježnjaci zauzimaju 70% od ukupnog broja vrsta dok je samo ribljih vrsta i podvrsta zabilježeno oko 407, što je oko 70% poznatih vrsta riba u Sredozemnom moru (oko 579 ribljih vrsta i podvrsta). 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.

Jadransko more je specifična biogeografska jedinica Sredozemnog mora gledajući endemične biljne i životinjske vrste. (Jardas 1996).

## 1.6. STATUS I OČUVANJE MORSKIH PASA

Najveća prijetnja morskim psima je negativni antropogeni utjecaj: izlov, gubitak i degradacija staništa, onečišćenje mora, globalno zatopljenje, izlov plijena, slučajni ulov. Onečišćenje mora, primjerice teškim metalima i pesticidima, od velikog je utjecaja na morske pse. Rijekom Po se u Jadransko more godišnje ulijeva velika količina teških metala: 2500 t cinka, 1500 t bakra, 480 t olova, 89 t nikla i 65 t žive (Guerzoni i *sur.* 1984). Toksične kemikalije se apsorbiraju na nižim razinama hranidbenih mreža i dosežu svoj maksimum na vrhu hranidbenih mreža. Primjer za to je živa koja se akumulira u mišićnom tkivu dugoživućih predatora kao što su morski psi, tune i sabljarke (Lovrenc i *sur.* 2004). Slučajni ulov također predstavlja negativan utjecaj na brojnost populacija morskih pasa. Smatra se da je 50% ulova morskih pasa rezultat slučajnog ulova (Lipej i *sur.* 2004).

Pad brojnosti kod nekih populacija iznosio je 70-90% (Compagno i *sur.* 2005). Od sredine 1980.-tih godina izlov se dramatično povećao širom svijeta, prvenstveno kao odgovor na brzi rast potražnje za perajama morskih pasa, mesom i hrskavicom. Unatoč naglom povećanju izlova morskih pasa u posljednjem stoljeću, još uvijek nedostaje monitoring i upravljanje. Mediteranska regija je poznata kao važno stanište za hrskavičnjače i smatra se da obuhvaća jedinstvena područja razmnožavanja za vrste kao što je bijela psina *Carcharodon carcharias* (Linnaeus 1758) i raža kamenica, *Raja clavata* (Linnaeus 1758), no i dalje nema dovoljno podataka za preko 70% mediteranskih vrsta. Daljnja istraživanja ekološkog statusa i eksploatacije ovih populacija nužno su potrebna (Abdulla 2004).

Niski reproduktivni kapacitet morskih pasa čini ih osjetljivijima na izlov od košunjača. Primjeri za to su psina zmijozuba, *Carcharias taurus* (Rafinesque 1810), koja ima dva potomka po reproduktivnom ciklusu ili pas kostelj (*S. acanthias*) čiji gestacijski period traje do 24 mjeseca. To ove vrste čini visoko ugroženima zbog pretjeranog ulova te se populacije sporo oporavljaju. Kao vršni predatori u morskim hranidbenim mrežama morski psi imaju važnu ulogu u oceanskim ekosistemima. Na primjer, uklanjanje psine zmijozuba može rezultirati padom brojnih vrsta riba, jer oni održavaju populacije ostalih predatora (Abdulla 2004).

Zbog globalnog pada brojnosti populacija pas kostelj je danas prema IUCN-u (2009) svrstan u skupinu osjetljivih vrsta (VU-vulnerable), pri čemu je populacija u Atlantiku (od Barentzovog mora do Biskajskog zaljeva) kritično ugrožena (CR-critically endangered). Pas kostelj je od velike komercijalne važnosti. Već se više od 100 godina izlovljava zbog

kvalitetnog mesa, hrskavice i jetrenog ulja (Ketchen 1986). Osim u prehrani se koristi i za proizvodnju ribljeg brašna (Jardas 1996). U Europi se pas kostelj često krivo etiketira i prodaje pod imenom *Scyliorhinus spp.* i *Mustelus spp.* te se zamjenjuje s *Galeorhinus galeus* iz južne Amerike (CITES 2006). Teško je procijeniti brojnost populacije psa kostelja u Jadranskom moru budući da ribolovne zalihe koriste nekoliko država. Pas kostelj se u Jadransko moru lovi koćom i parangalom. Jukić Peladić i sur. (2001) u periodu između 1948. i 1998. nisu zamijetili nikakve značajne promjene u brojnosti psa kostelja, no unatoč tome program upravljanja ulova je neophodan za komercijalne vrste koje uključuju i vrstu pas kostelj.

## 1.7. CILJ ISTRAŽIVANJA

Jadran je veliko vodeno stanište u Hrvatskoj, poznato po izlovu vrsta koje tamo obitavaju, a pas kostelj najviše je izlovljavana vrsta hrskavičnjača.

Prijašnjim istraživanjima uočilo se da se psa kostelja posebno izlovljava koćarenjem te da se općenito preko 54% ulova psa kostelja baca i vraća u more. Podaci o biologiji i ekologiji vrste, populacijskom statusu, ukupnom ulovu i održivim razinama iskorištavanja kostelja nisu poznati pa jedino istraživanje o ulovu psa kostelja pokazuje samo koćarenje (Lazar i sur. 2008).

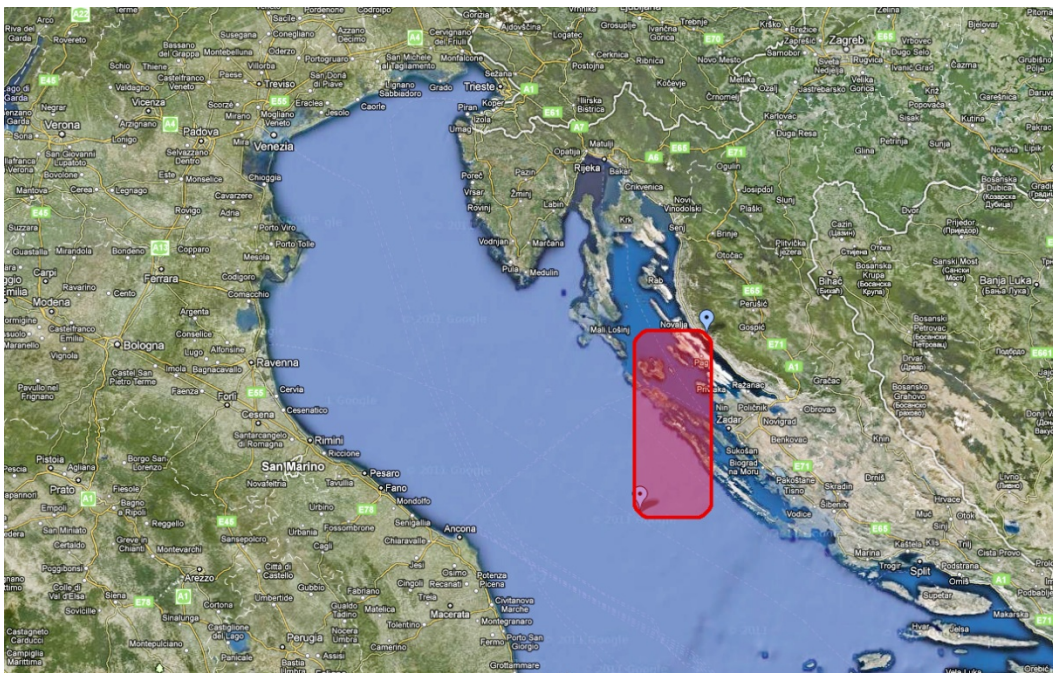
Znajući za taj problem važno je poticati što veću suradnju s lokalnim ribarima kako bi se slučajno ulovljene vrste identificirale, izmjerile, obilježile te oslobodile zbog primjerene zaštite postojeće populacije u Jadranu. Tako sakupljeni podaci, uz pomoć ribara, mogu se koristiti za praćenje populacija, omjer starosti i veličine jedinki te smrtnost.

Cilj ovog istraživanja bio je prikupiti podatke o reproduktivnoj biologiji mužjaka vrste *S. acanthias* u istočnome dijelu Jadranskoga mora. Kako bi došli do jasnijih saznanja o njihovom životnom ciklusu i veličini pri kojoj postaju spolno zrele koristit će se histološke, morfometrijske i stereološke metode.

## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Terenska istraživanja i prikupljanje materijala

Terenska istraživanja izvršena su u istočnom Jadranu na području Lošinskog akvatorija (Slika 4). Kretanje ribarskih koča iz matične luke Mali Lošinj do istraživanog područja na kojem se ribarilo ( $44^{\circ}32'$  i  $43^{\circ}44'$  sjeverno, te  $15^{\circ}05'$  i  $14^{\circ}40'$  istočno). Mreže su bacane do dubine od 45-84 m.



Slika 4. Karta istraživanog područja.

Istraživači su boravili na kočaricama te uzimali uzorke tokom cijele godine (u vremenskom razmaku od 2005. do 2007. godine) za vrijeme profesionalnog ribarenja. Lov životinja je vršen kočarskim mrežama uz pomoć petero kočarica: Adriana, Calypso, Fortuna, Maestrale, Troskot. Mreže su uvijek bile vučene na istom području svakih 5 – 6 sati (ovisno o vremenskim uvjetima) brzinom od 1,9 – 2,5 čvorova.

Psi kostelji su izdvojeni od ostalih vrsta ulovljenih riba, determinirani te se na brodu izvršilo morfometrijsko mjerenje tijela životinja (izmjerena je masa, dužina životinja, spol, dužina klaspera) te je pritom uzeto potrebno tkivo za daljnju obradu.

Mužjacima kostelja su izolirane gonade. Uzorci gonada (testisa) fiksirani su u 10% formaldehidu, označeni rednim brojevima i maksimalnim dužinama tijela životinje, te pospremljeni do nastavka obrade u laboratoriju.

## 2.2. Laboratorijska analiza

U laboratoriju je izvršena histološka, morfometrijska i stereološka obrada muških gonada (sjemenika). Što se tiče morfometrijskih mjerenja mjerena je dužina (Slika 5), širina i masa testisa.



Slika 5. Mjerenje duljine testisa.

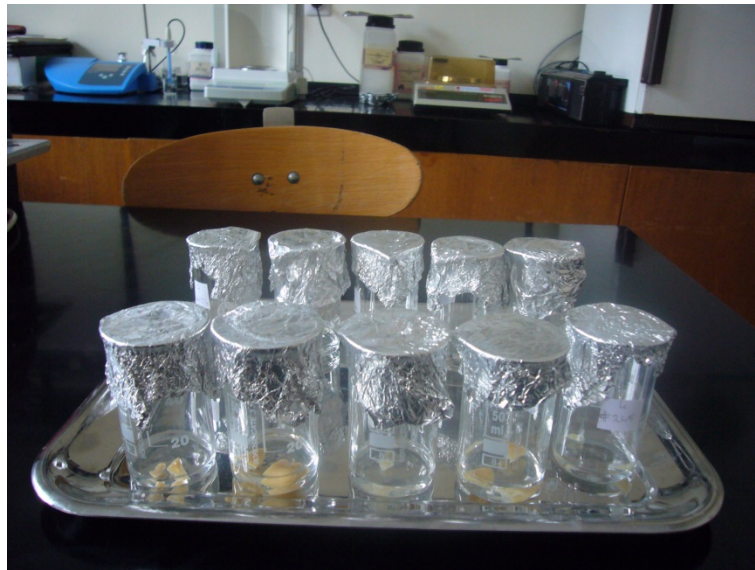
### 2.2.1. Priprema histoloških preparata

U drugome dijelu laboratorijskih istraživanja gonade su histološki obrađene. Gonade su bile fiksirane u 10%-tnom formaldehidu, rezane na manje komade te su naknadno uklopljene u paraplast, kojeg čini smjesa parafina i plastične mase (parafin je mješavina ugljikovodika koja se koristi za prožimanje i uklapanje tkiva kod izrade histoloških preparata).

Prije uklapanja u paraplast tkivo se priprema na slijedeći način:

- 1.) 70% alkohol (48 sati)
- 2.) 80% alkohol (30 min.)
- 3.) 96% alkohol (60 min.)

- 4.) 100% alkohol (dva puta po 60 min.)
- 5.) Kloroform (~12 sati)



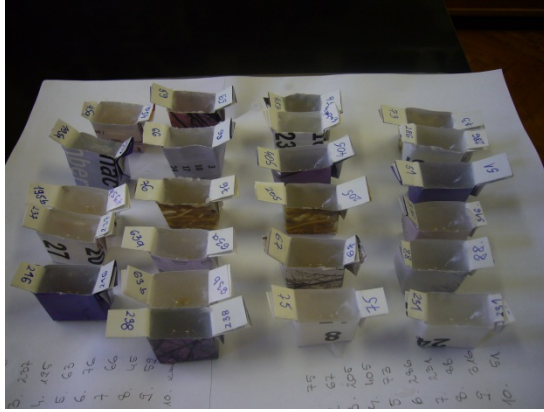
**Slika 6.** Uzorci tkiva u jednoj od koncentracija alkohola.

Tkivo je na ovaj način dehidrirano jer se iz njega izvlačila voda (Slika 6). Tkivo se preko noći ostavi u kloroformu te se slijedeći dan uklapa u paraplast, koji se u tekućem stanju ulije u papirnate lađice i u njega se zatim uloži uzorak tkiva. 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 kroz slijedeće otopine:

- 1.) kloroform-paraplast u omjeru 1:1 (30-60 min.)
- 2.) paraplast I (30-60 min.)
- 3.) paraplast II (30-60 min.)
- 4.) čisti paraplast

Papirnate lađice (Slika 7) služe kao kalup te se tako dobiveni blokovi tkiva hlade preko noći, vade iz lađica kako bi se lijepili na drvene daščice (Slika 8) označene brojem uzorka. Kada su parafinski blokovi pripremljeni, režu se pomoću rotacijskog mikrotoma na debljinu 6-7  $\mu\text{m}$ . Ti se prerezi stavljaju u vodenu kupelj zagrijanu na temperaturu od 30°C kako bi se izravnali, te se nakon toga prebacuju pomoću kista na predmetno stakalce prethodno namazano glicerom-bjelanjkom. Nakon toga slijedi bojanje histološkom bojom kako bi se uzorak mogao mikroskopski obraditi.





Prije bojanja prerezi dobiveni na mikrotomu moraju se deparafinirati i rehidrirati. Stakalca sa prerezima provlače se kroz slijedeće otopine.

Deparafiniranje:

- 1.) ksilol I (15 min.)
- 2.) ksilol II (15 min.)
- 3.) 100% alkohol (5 min.)
- 4.) 96% alkohol (5 min.)
- 5.) 70% alkohol (5 min.)
- 6.) destilirana voda ( $2 \times 5$  min.)

Nakon deparafiniranja i dehidriranja slijedi bojanje rezova. Tkivni rezovi boje se Mayerovom otopinom (Hemalaun) i 0,1% eozinom. Hemalaun boji plavo-ljubičasto kisele strukture u stanici, dok eozin boji crveno-ružičasto bazične strukture u stanici. Bojanje hemalaun- eozinom :

- 1.) hemalaun (6-10 min.)
- 2.) tekuća voda ( $2 \times 5-10$  min.)
- 3.) eozin (2-4 min.)
- 4.) destilirana voda ( $2 \times 5$  min.)

Tako obojani preparati ponovno se dehidriraju prije uklapanja u kanada balzam.

Dehidriranje:



- 1.) 70% alkohol (5 min.)
- 2.) 80% alkohol (5 min.)
- 3.) 96% alkohol (5 min.)
- 4.) 100% alkohol (5 min.)
- 5.) ksilol III (5 min.)
- 6.) ksilol IV (5 min.)

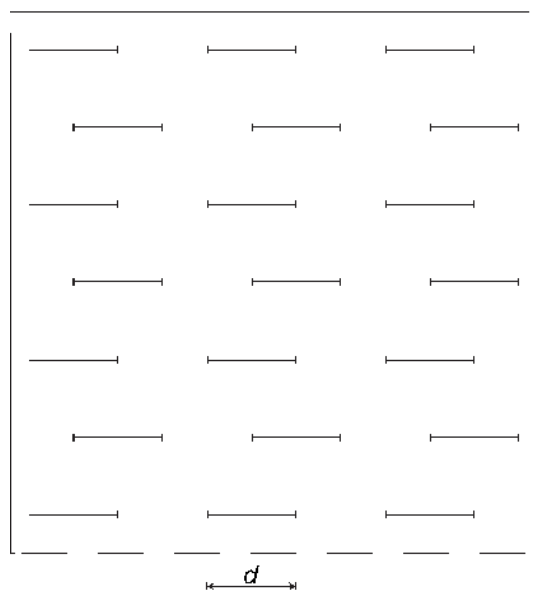
Tako dehidrirani preparati uklapaju se u kanadski-balzam i prekrivaju pokrovnim stakalcem. Nakon sušenja od nekoliko dana, preparati su trajni i spremni za mikroskopiranje.

### **2.2.2. Stereološke metode**

Histološki preparati testisa obrađeni su stereološkom metodom za izračunavanje volumenske gustoće. Stereologija je grana primjenjene matematike, a upotrebljava se za trodimenzionalnu analizu organa i materijala iz dvodimenzionalnih mjerenja, ili drukčije rečeno, na osnovi geometrijske vrijednosti može se iz dvodimenzionalne strukture uzorka odrediti treća dimenzija ispitivanog materijala. Pri stereološkoj analizi koriste se stereološki testni sistemi, tzv. testne mrežice. U stereologiji se koriste točke nulte dimenzije, ravne i zakrivljene crte i njihova jednodimenzionalna duljina pa se može odrediti numerička gustoća ( $N_V$ ), dužinska gustoća ( $M_V$ ), površinska gustoća ( $S_V$ ) i volumenska gustoća ( $V_V$ ) ispitivane strukture (Kališnik 1985).

Stereološka metoda za izračunavanje volumenske gustoće ( $V_V$ ) daje relativnu vrijednost pomoću koje se može odrediti koliki dio nekog organa ili stanice otpada na istraživanu komponentu (Kališnik 1985). Kod određivanja volumenske gustoće sjemenih kanalića u testisu pasa kostelja pogodci na različite razvojne stadije speramtogeneze u presjeku ispitivanog uzorka predstavljaju referentni prostor, a dimenzija volumenske gustoće je  $\text{mm}^0$  tj. možemo ju izraziti kao postotak.

Svaki uzorak je obrađen mnogonamjenskim testnim sistemom M42, koji se nalazi u okularu mikroskopa (Leitz Wetzlar) pri povećanju od  $200\times$  (Kališnik 1985). Taj sistem ima 21 dužinu unutar testne plohe. Krajevi svih dužina su testne točke. Dužine su postavljene tako da je svaki kraj dužine u središtu šesterokuta kojeg čine sve susjedne točke (Slika 9). Na svakom preparatu izbrojeno je 60 vidnih polja.



**Slika 9.** Mnogonamjenski testni sistem po Weibelu.

### 2.2.3. Određivanje spolne zrelosti

Jedinke smo podijelili na tri skupine: spolno nezrele, jedinke u fazi sazrijevanja i spolno zrele jedinke. Kod mužjaka psa kostelja stadij spolne zrelosti se određuje pomoću duljine klaspera, mase gonada i histološkom analizom tj. određivanjem prisutnosti pojedinih razvojnih stadija spermatogeneze u testisu. Jedinke u kojima su prisutne spermatide, nezreli spermiji i zreli spermiji možemo smatrati spolno zrelim (Chatzistryrou i Megalofonou 2005).

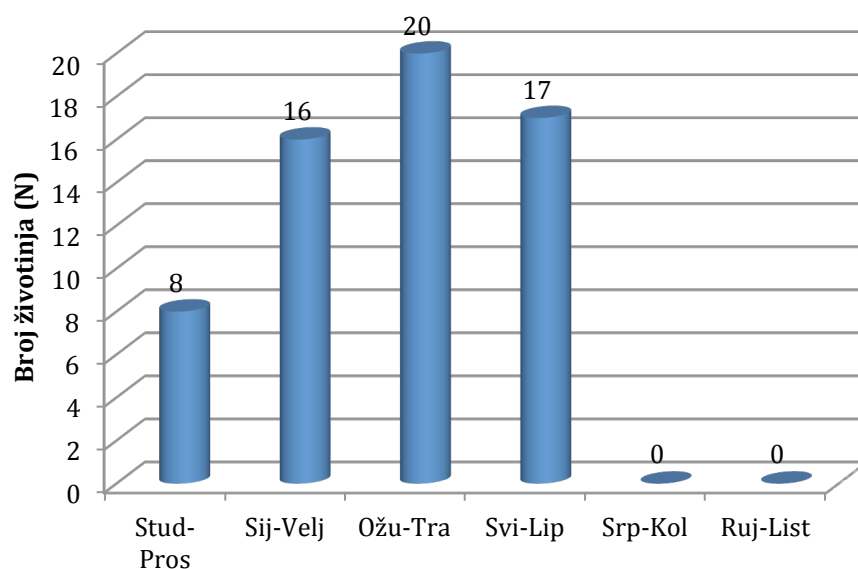
Duljina tijela životinje pri 50% zrelosti jedinki ( $TBL_{50\%}$ ) određena je dodjelom vrijednosti 0 za nezrele jedinke i jedinke u fazi sazrijevanja te dodjelom vrijednosti 1 za spolno zrele jedinke. Njih smo podijelili u pojedine grupe za svako povećanje totalne duljine tijela (TBL) od 5 cm. Za grupu u kojoj 50% jedinki ima vrijednost 0 i 50% jedinki ima vrijednost 1 možemo reći da predstavlja  $TBL_{50\%}$  (Avsar 2001).

### 3. REZULTATI

#### 3.1. Vremenska raspodjela nalaza kostelja

U izradi ovog rada obrađen je 61 uzorak vrste *S. acanthias*. Uzorci su lovljeni koćaricama tokom svih mjeseci u razdoblju od 2005. do 2007. godine. Iz ulova su izdvojeni mužjaci.

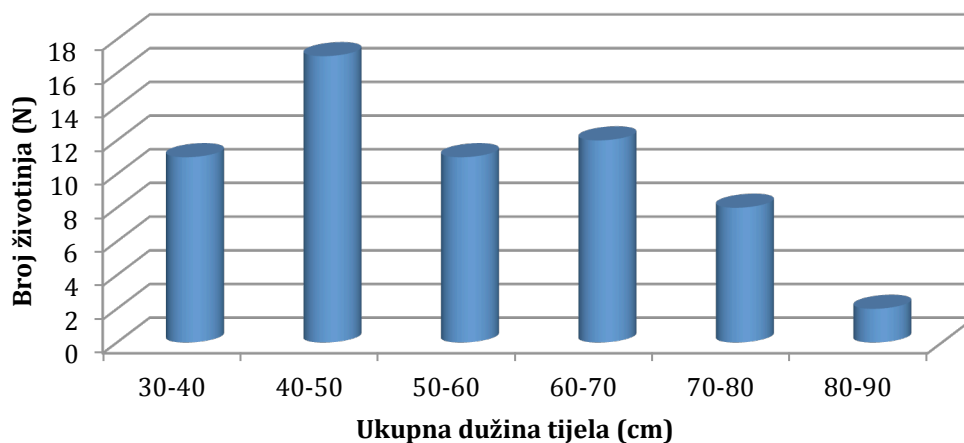
Najviše životinja uhvaćeno je u periodu od ožujka do travnja (N = 20) (Slika 10), dok je najmanji ulov bio u periodu od studenog do prosinca (N = 8). Tokom perioda od srpnja do kolovoza nije ulovljena niti jedna životinja na zahvaćenom lovnom području.



Slika 10. Vremenska raspodjela nalaza životinja (N = 61).

#### 3.2. Morfometrijska mjerenja

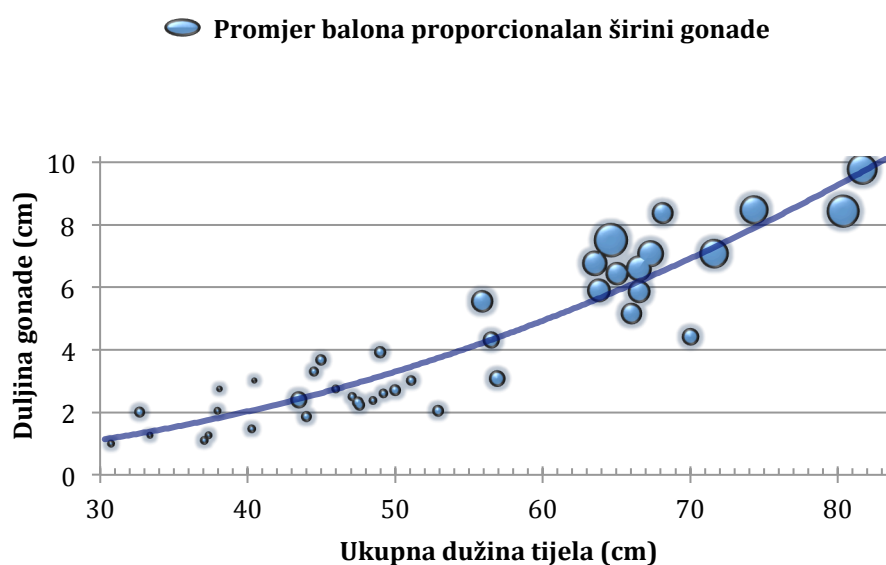
Morfometrijskim mjerenjima tijela mužjaka utvrđeno je da se totalna dužina životinja (TBL) kretala u rasponu od 30,0 cm do 81,6 cm (srednja dužina:  $53,50 \pm 14,13$ ; Slika 11). Raspon masa obrađenih životinja kretao se od 90 g do 1830 g (srednja masa:  $600,36 \pm 465,23$ ; ).



**Slika 11.** Veličinska raspodjela prikupljenih jedinki (N = 61).

Kod izmjerenih gonada raspon dužine gonada kretao se između 1,03 cm do 9,77 cm (srednja dužina:  $4,13 \pm 2,43$ ; Tabela 1) dok se raspon masa gonada kretao od 0,01 g do 15,87 g (srednja masa:  $3,08 \pm 4,60$  ).

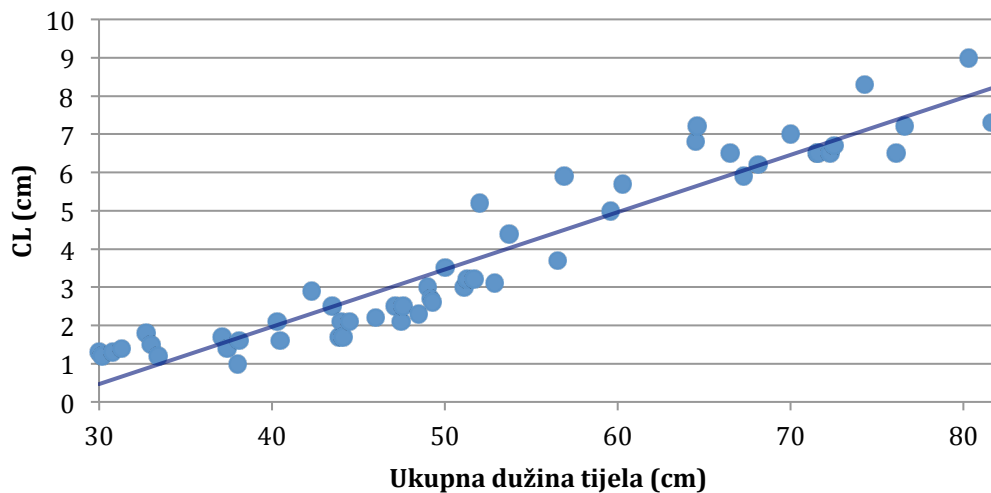
Uspoređena je totalna dužina životinja s dužinom i masom njihovih gonada, što je prikazano na slici 12. Vidljiva je pozitivna korelacija između navedenih parametra, s porastom dužine tijela životinje raste i veličina njihovih gonada.



**Slika 12.** Odnos dužine tijela s dužinom i masom gonada (N = 40).

Uočavaju se dvije skupine gonada. U prvu skupinu svrstane su životinje s totalnom dužinom tijela od 30 cm do 55 cm. U ovoj skupini prevladavaju male gonade duljine do 4 cm (Min. – Maks.: 2,0 – 3,9 ) te širine do 1,1 cm (Min. – Maks.: 0,3 – 1,1). U drugu skupinu možemo svrstati životinje s totalnom dužinom tijela većom od 58 cm. Tu prevladavaju veće životinje s gonadama duljine do 10 cm (Min. – Maks. : 3,1 – 9,8) te širine do 2,4 cm (Min. – Maks.: 1,1 – 2,4).

Kod izmjerenih klaspera raspon dužine kretao se između 1,00 cm do 9,00 cm (srednja dužina:  $3,81 \pm 2,29$ ). Usporedbom dužine klaspera s ukupnom dužinom tijela (Slika 13) uočava se pozitivna linearna distribucija vrijednosti mjerenih parametara.



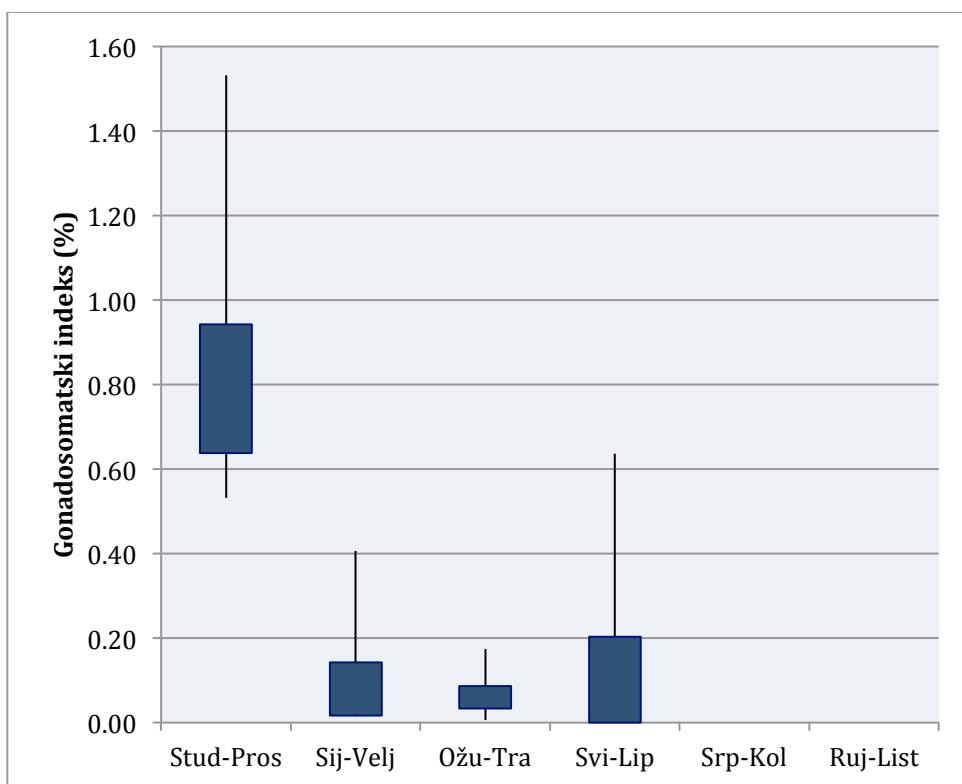
**Slika 13.** Odnos dužine klaspera s dužinom tijela (CL – duljina klaspera; N = 53).

**Tablica 1.** Biometrijske značajke psa kostelja (*Squalus acanthias*) i analiza gonada morfometrijskom metodom (TBL – totalna dužina životinja; N – broj uzoraka; SD – standardna devijacija; Min. – minimalne vrijednosti uzorka; Maks. – maksimalne vrijednosti uzorka).

TBL (cm)	Težina tijela (g)	Duljina gonade (cm)	Širina gonade (cm)	Težina gonade (g)	Duljina klaspera (cm)
N	N	N	N	N	N
Aritmetička sredina ± SD	Aritmetička sredina ± SD	Aritmetička sredina ± SD	Aritmetička sredina ± SD	Aritmetička sredina ± SD	Aritmetička sredina ± SD
Min. - Maks.	Min. - Maks.	Min. - Maks.	Min. - Maks.	Min. - Maks.	Min. - Maks.
61	55	40	40	38	53
53,50 ± 14,13	600,36 ± 465,23	4,13 ± 2,43	1,05 ± 0,66	3,08 ± 4,60	3,81 ± 2,29
30,00 - 81,60	90,00 - 1830,00	1,03 - 9,77	0,30 - 2,60	0,01 - 15,87	1,00 - 9,00

### 3.3. Gonadosomatski indeks

Iz podataka dobivenih morfometrijskom analizom izračunati su gonadosomatski indeksi mjerenih životinja. Raspon vrijednosti gonadosomatskog indeksa kretao se od 0,015% do 1,532% (srednja vrijednost:  $0,252 \pm 0,360$ ).



**Slika 14.** Odnos vrijednosti gonadosomatskog indeksa prema mjesecima ulova životinja (N = 33).

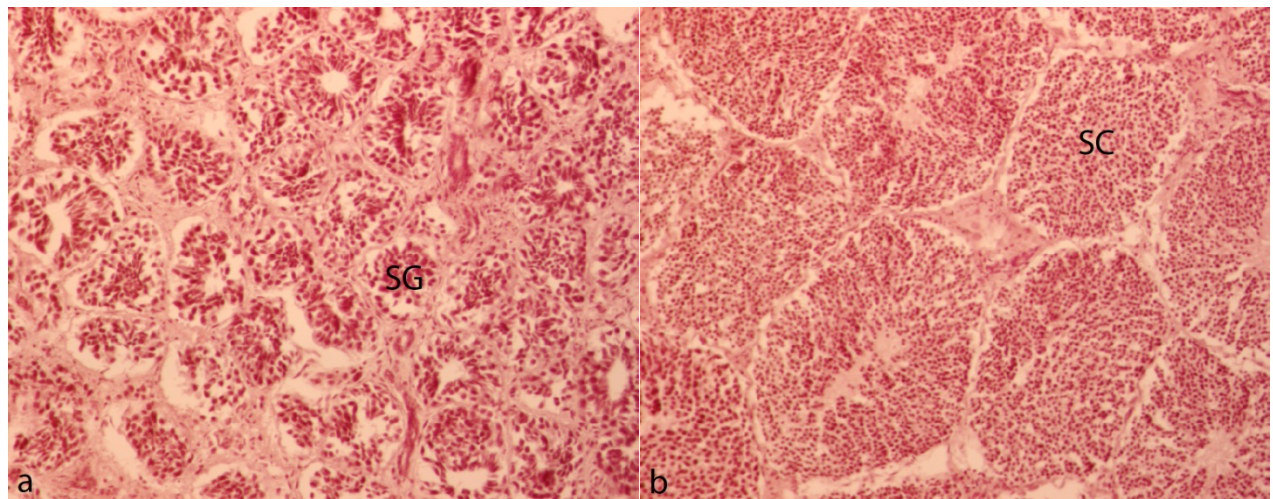
Razdiobom vrijednosti gonadosomatskog indeksa po periodu unutar kojih su pojedine životinje bile uhvaćene dobili smo 4 skupine (Slika 14). Dobivene vrijednosti prikazane su open-high-low-close grafom. Vrh svakog pravca u pojedinoj skupini označava maksimalnu vrijednost dok najniža točka pravca označava minimalnu vrijednost gonadosomatskog indeksa za tu skupinu. Pravokutnik u grafu označava područje oko kojeg se raspoređuju podaci za pojedinu skupinu. Određen je donjom granicom koja označava aritmetičku sredinu – SD/2 dok gornja granica pravokutnika označava aritmetičku sredinu + SD/2.

Prva skupina (studeni - prosinac) ima svoju maksimalnu vrijednost od 1,532% dok je minimalna vrijednost 0,532% (srednja vrijednost:  $0,790 \pm 0,305$ ). U drugoj skupini (siječanj - veljača) zabilježenu su maksimalne vrijednosti gonadosomatskog indeksa od 0,406%, a minimalne od 0,015 (srednja vrijednost:  $0,079 \pm 0,152$ ). Kod treće skupine (ožujak - travanj) maksimalna vrijednost iznosi 0,174% dok minimalna vrijednost iznosi 0,007% (srednja vrijednost:  $0,061 \pm 0,053$ ). Četvrta skupina (svibanj - lipanj) ima raspon vrijednosti između 0,637 % i 0,013% (srednja vrijednost:  $0,101 \pm 0,202$ ).

Iz grafa se uočava da prva skupina (studeni - prosinac) ima veće vrijednosti gonadosomatskog indeksa koje se grupiraju oko 0,800%. U ostale tri skupine uočava se određena konstanta vrijednosti gonadosomatskog indeksa u rasponu između 0 i 0,200%.

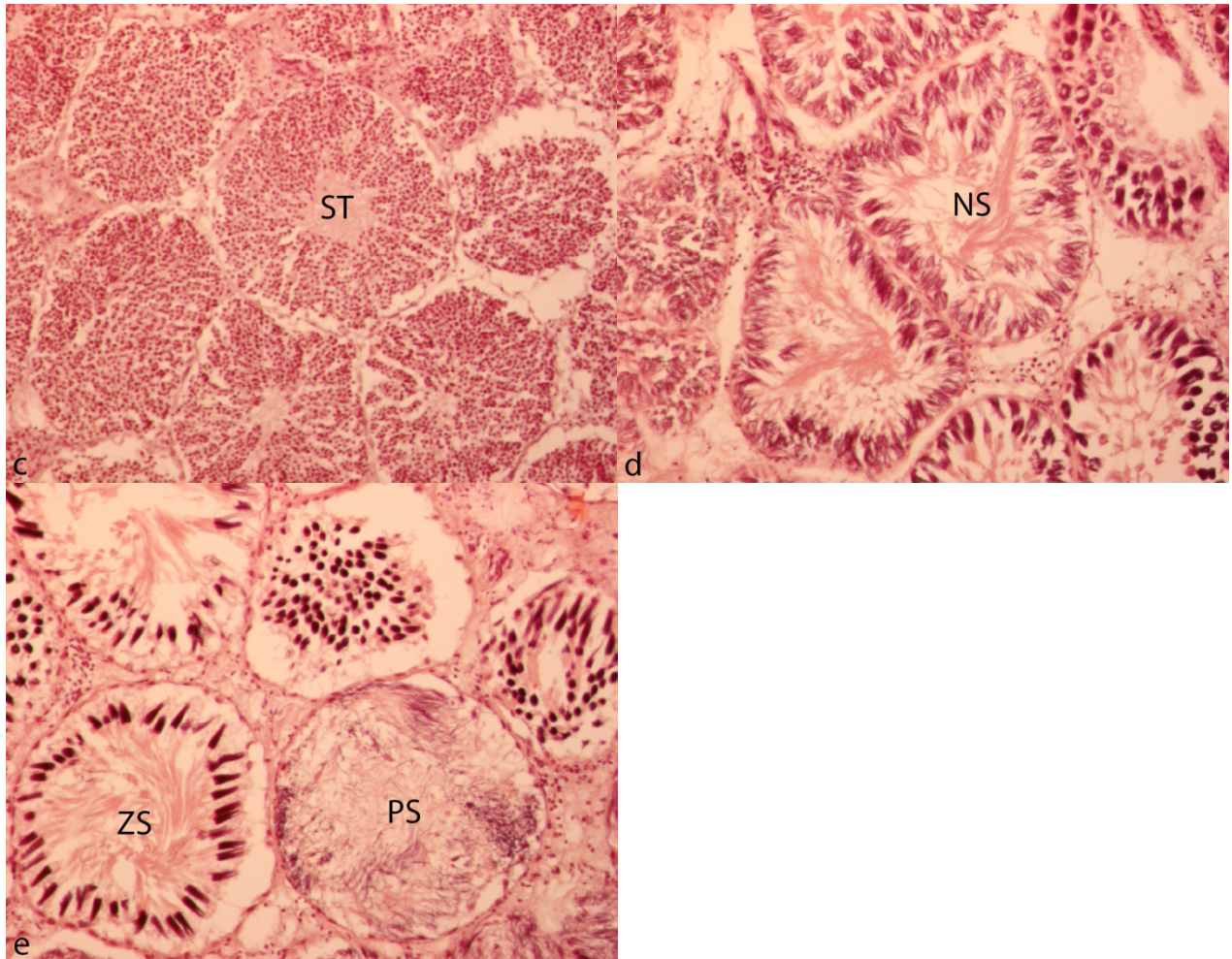
### 3.4. Stereološka analiza

Na histološkim preparatima 57 mužjaka utvrđeno je 6 stadija tokom sazrijevanja gonada: spermatogonije, spermatocite, spermatide, nezreli spermiji, zreli spermiji i prazne spermatociste (Slike 15. i 16.).



**Slika 15.** Razvojni stadiji spermatogeneze u testisu psa kostelja (*S. acanthias*), HE.  $\times 200$ . a) SG–spermatogonija. b) SC–spermatocita.

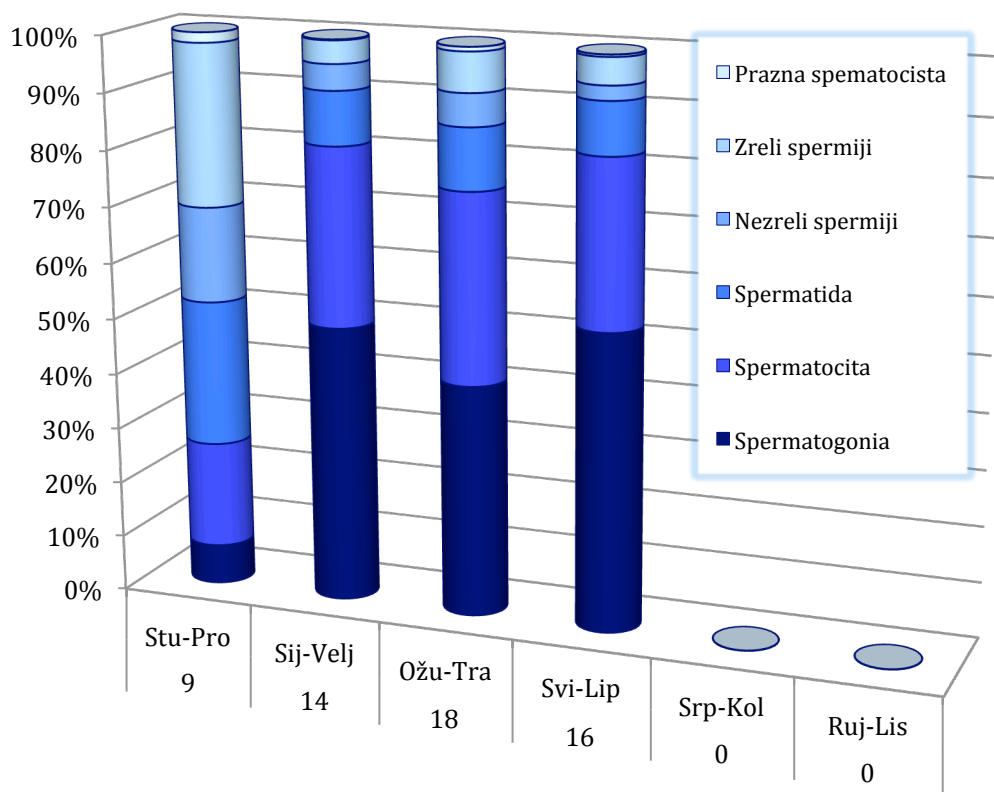




**Slika 16.** Razvojni stadiji spermatogeneze u testisu psa kostelja (*S. acanthias*), HE.  $\times 200$ . c) ST–spermatida. d) IS– nezreli spermiji. e) MS– zreli spermiji i ES– prazna spermatocista.

Jedinke su razdijeljene u 4 skupine po mjesecima kada su uhvaćene, od studenog do lipnja, dok za skupine od srpnja do listopada nema podataka zbog nemogućnosti ulova tokom tog perioda godine.

U prvoj skupini (studen-prosinac) obrađeno je 9 životinja te je stereološkom metodom detektirano: 7,09% spermatogonija, 19,09% spermatocita, 26,06% spermatida, 17,03% nezrelih spermija, 28,91% zrelih spermija te 1,82% praznih spematocista.



**Slika 17.** Sezonska varijacija u odnosu na prisutnost šest stadija spermatogeneze u testisu (N = 57).

U drugoj skupini (siječanj-veljača) stereološkom analizom obrađeno je 14 životinja te je detektirano: 49,63% spermotogonija, 34,04% spermotocita, 9,57% spermotida, 4,58% nezrelih spermija, 4,03% zrelih spermija i 0,16% praznih spermocista.

U trećoj skupini (ožujak-travanj) obrađeno je 18 životinja. Stereološkom analizom utvrđeno je 41,53% spermotogonija, 34,01% spermotocita, 10,97% spermotida, 5,74% nezrelih spermija, 6,96% zrelih spermija i 0,78% praznih spermocista.

U četvrtoj skupini (svibanj-lipanj) obrađeno je 16 životinja te je stereološkom analizom gonada određeno: 53,24% spermotogonija, 29,88% spermotocita, 9,25% spermotida, 2,53% nezrelih spermija, 4,69% zrelih spermija te 0,41% praznih spermocista (Slika 17).

### 3.5. Spolna zrelost

Spolna zrelost, tj. TBL pri kojem je 50% jedinki spolno zrelo, utvrđena je usporedbom ukupne duljine tijela s nalazima morfometrijskog mjerenja gonada. Jedinke su podijeljene u 11 grupa s obzirom na njihovu ukupnu duljinu tijela (Tablica 2). Svaka sljedeća grupa ima porast od 5 cm u odnosu na prethodnu počevši od (TBL 30,0 cm do 35,0 cm). Posljednja grupa obuhvaća jedinke od 80,1 cm do 85,0 cm.

**Tablica 2.** Broj nezrelih i zrelih jedinki mužjaka psa kostelja (*Squalus acanthias*) razvrstanih u klase po duljini tijela (TBL - totalna dužina životinja).

TBL (cm)	Broj nezrelih jedinki	Broj zrelih jedinki	% zrelih jedinki
30,0 - 35,0	6	0	0
35,1 - 40,0	4	0	0
40,1 - 45,0	7	0	0
45,1 - 50,0	9	2	18
50,1 - 55,0	3	3	50
55,1 - 60,0	2	3	60
60,1 - 65,0	0	6	100
65,1 - 70,0	0	6	100
70,1 - 75,0	0	4	100
75,1 - 80,0	0	2	100
80,1 - 85,0	0	2	100

U prve tri grupe s duljinom tijela od 30,0 cm do 45,0 cm nisu nađene spolno zrele jedinke. U četvrtoj grupi (od 45,1 cm do 50,0 cm) utvrđeno je 18% spolno zrelih jedinki. U petoj grupi (od 50,1 cm do 55,0 cm) utvrđeno je 50% spolno zrelih jedinki, dok u šestoj grupi (od 55,1 cm do 60 cm) nalazimo 60% spolno zrelih jedinki. Sve ostale grupe (od 60,1 cm do 85,0 cm) sastojale su se samo od spolno zrelih primjeraka psa kostelja, tj. plodnost im je bila 100%.

Izračunom totalne duljine tijela pri kojoj dolazi do 50% spolno zrelih jedinki dobivamo da TBL<sub>50%</sub> iznosi 51,5 cm za istraživani uzorak.

## 4. RASPRAVA

Na temelju podataka dobivenih ovim istraživanjem možemo zaključiti da je vremensko- prostorna pojava mužjaka psa kostelja u ulovu rezultat njegovog životnog ciklusa i sezonskog korištenja staništa na istraživanom području sjevernog Jadrana. Najviše životinja je ulovljeno od ožujka do travnja, dok u periodu od srpnja do kolovoza nije ulovljena niti jedna životinja. Možemo pretpostaviti da razlog tome leži u preferiranom temperaturnom rasponu (Collette i Klein–MacPhee 2002). Jedinke tokom proljetnih mjeseci borave u plićim i toplijim područjima sjevernog Jadrana radi parenja, dok izostanak ulova u periodu od srpnja do kolovoza objašnjavamo migracijama u dublje i hladnije vode. Ove nalaze potvrđuje i istraživanje psa kostelja u kanalima srednjeg Jadrana, kao jedno od područja gdje jedinke borave u periodu kada nisu spolno aktivne. U tom istraživanju ulov je bio izraženiji od rujna do listopada, a slabiji od siječnja do travnja (Županović 1961).

Totalna dužina životinja (TBL) kretala se u rasponu od 30,0 cm do 81,6 cm te je bila niža od prosjeka obuhvaćenim sličnim istraživanjima u svijetu. Jedinke istraživane u Crnom Moru dosezale su veličine od 123,0 cm (Demirham i Seyhan 2006). Ovakvo odstupanje u veličini možemo pripisati genetskoj varijabilnosti, fiziološkim čimbenicima, (Mellinger 1989) te antropogenom utjecaju, zbog izlova većih jedinki dok se manje vraćaju u more.

Mjerenjima je uočena razlika u veličini gonada u grupi životinja do 55 cm i onih preko te vrijednosti. U jedinki čija totalna duljina tijela prelazi 55 cm imamo nagli porast u veličini testisa. Ovi nalazi se podudaraju s nalazima istraživanja psa kostelja u srednjem Jadranu, gdje je zaključeno da mužjaci psa kostelja dosežu spolnu zrelost kod duljine tijela između 59 cm i 60 cm (Županović 1961). Ove vrijednosti se podudaraju i s vrijednostima mjerenja duljine klaspera, gdje su nezrele životinje do 55 cm imale male klaspere ( $CL < 3$  cm). Mužjaci veći od 55 cm, za koje smatramo da su spolno zreli, posjeduju veće klaspere s vrijednostima od 3,1cm do 9,0 cm.

Veličina tijela pri kojoj životinje dosežu spolnu zrelost ( $TBL_{50\%}$ ) u Jadranu ima manju vrijednost ( $TBL_{50\%}$  51,5 cm) nego u ostalim morima (Tablica 3). Samo su jedinke u istočnom Mediteranu ( $TBL_{50\%}$  47,0 cm) dosezale manje vrijednosti od naših (Chatzistryrou i Megalofonou 2005). Ovakve razlike možemo kao i kod razlika u prosječnoj veličini životinja na pojedinim područjima pripisati genetskoj varijabilnosti, fiziološkim čimbenicima ostalim

biotičkim i abiotičkim faktorima, ali i razlici tj. nesistematiziranom sustavu određivanja i klasificiranja stadija u kojem jedinka postaje spolno zrela kroz pojedina istraživanja.

**Tablica 3.** Veličina jedinki mužjaka psa kostelja (*Squalus acanthias*) pri kojoj postižu spolnu zrelost u raznim istraživanjima u svijetu (TBL50% - totalna dužina životinja pri kojem je 50% jedinki spolno zrelo).

Područje	TBL <sub>50%</sub> (cm)	Autor i godina
istočni Mediteran	47,0	Chatzistryrou i Megalofonou (2005)
Skagerrak (Švedska)	54,0	Stenberg (2005)
Zapadna obala Irske	57,5	Henderson <i>i sur.</i> (2002)
Južni Pacifik	58,0	Hanchet (1988)
Sjeverozapadni Atlantik	59,5	Nammack <i>i sur.</i> (1985)
jugoistočno Crno more	82,0	Avsar (2001)
istočno Crno more	88,0	Demirhan i Seyhan (2006)

U ovom istraživanju klasificirali smo nezrele mužjake kao jedinke koje su u svojim gonadama sadržavali nediferencirano tkivo i nakupine spermatogonija. Od 22 nezrele jedinke u testisima 7 njih nađeno je samo nediferencirano tkivo. U 15 jedinki nađeno je nediferencirano tkivo, spermatogonije, a u pojedinih i začetak formiranja spermatocista. Od 9 identificiranih jedinki u fazi sazrijevanja u testisima je određeno nediferencirano tkivo, spermatogonije i potpuno formirane spermatociste, a u 4 jedinke i nezreli spermiji. Ovo upućuje da je moguće naći i kasnije stadije spermatogeneze i prije nego su klasperi potpuno formirani. U 27 spolno zrelih jedinki nalazimo sve kasnije stadije spermatogeneze dok u 5 jedinki nalazimo i prazne spermatociste bez spermija. Histološka analiza gonada mužjaka kostelja je u korelaciji s radovima Maruska *i sur.* (1996) i Musick i Bonfil (2004). Možemo zaključiti da su te jedinke neposredno prije njihova ulova sudjelovale u kopulaciji sa ženkom. Spermatogeneza u vrste *S. acanthias* je složen i dug proces koji traje najmanje dvije godine (McClusky 2005).

Gonadosomatski indeks pokazuje značajne sezonske razlike. Najveće vrijednosti GSI su prisutne kroz studeni – prosinac (4,06%, srednja vrijednost:  $0,079 \pm 0,152$ ) s tendencijom pada do ožujka-travnja (0,174% srednja vrijednost:  $0,061 \pm 0,053$ ). Nakon travnja u periodu svibanj – lipanj ponovo se javlja tendencija rasta GSI (0,637%, srednja vrijednost:  $0,101 \pm$

0,202). Zbog nedostatka uzoraka životinja u periodu od srpnja do listopada nije moguće utvrditi GSI. Ove nalaze potvrđuje i stereološka analiza testisa gdje vidimo da u periodu od studenog do prosinca imamo najveći postotak završnih stadija spermatogeneze tj. 26,06% spermatida, 17,03% nezrelih spermija, 28,91% zrelih spermija i 1,82% praznih spermatocista dok u periodu od siječnja do veljače ti postoci padaju. Tu je zabilježeno 9,57% spermatida, 4,03% nezrelih spermija, 4,58% zrelih spermija i 0,16% praznih spermatocista. Ovaj vremenski period obilježava i porast u postotku ranijih stadija spermatogeneze pa je zabilježeno 32,04% spermatocita i 49,63% spermatogonija. Ovaj trend se nastavlja od ožujka pa do lipnja. Maksimalnim vrijednostima GSI u periodu studeni – prosinac možemo zaključiti da je za jedinke vrste *S. acanthias* vrijeme parenja u ovom vremenskom razdoblju, što se podudara s nalazima Županovića (1961). Za potvrdu ovih nalaza potrebna su dodatna istraživanja.

## 5. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata istraživanja populacija mužjaka psa kostelja (*Squalus acanthias*) u sjevernom Jadranu možemo izvesti slijedeće zaključke.

- ❖ Veličinska i vremenska raspodjela nalaza uzoraka upućuje na sezonsko korištenje istraživanih područja te njegovu važnu ulogu u životnom ciklusu psa kostelja kao staništa na kojem se ova vrsta razmnožava.
- ❖ Prema rezultatima morfometrijskih mjerenja spolna zrelost mužjaka psa kostelja u sjevernom Jadranu nastupa kod duljine tijela veće od 55 cm te je ta vrijednost manja nego u jedinki koje borave u drugim morima.
- ❖ Histološkom analizom na preparatima testisa psa kostelja utvrđeno je šest stadija spermatogeneze: spermatogonije, spermatocite, spermatide, nezreli spermiji, zreli spermiji i prazne spermatociste
- ❖ Stereološkom analizom uzoraka testisa psa kostelja dobiveni su omjeri pojedinih stadija spermatogeneze. Prisutnosti pojedinih stadija razvoja spermija u odnosu na vrijeme ulova jedinki upućuje da je vrhunac reproduktivne sezone mužjaka psa kostelja u periodu od studenog do prosinca kada je prisutna najveća količina zrelih spermatocista. To je najvjerojatnije vrijeme u kojem se *Squalus acanthias* razmnožava u sjevernom Jadranu.

## 6. LITERATURA

Abdulla, A. (2004): Status and conservation of sharks in the Mediteranean sea. IUCN Global marine program. Pristup na <http://iucn.org>

Askiray, F. (1987): The indentification Key of Turkish Marine Fishes, Istanbul University Press, 349: 87.

Avsar, D. (2001): Age, Growth, Reproduction and Feeding of the Spurdog (*Squalus acanthias*, Linnaeus 1857) in the Southestern Black Sea, Estuarine, Coastal and Shelf Science, 52: 269-278.

Benton, J. M., (1990): Vertebrate paleontology. *Harper Collins Academic*, London.

Bigelow, H. B., Schroeder, W. C. (1953): Fishes of the Gulf of Maine. U.S. Fish Wildlife Service, *Fish Bulletin*, 53: 577.

Buljan, M., Zore-Armanda, M. (1971): Osnove oceanografije i pomorske meteorologije, *Institut za oceanografiju i ribarstvo, Posebna izdanja*, Split.

Chaline, J. (1990): Paleonthology fof Vertebrates. *Springer Verlag*, Berlin.

Chatzisprou, A., 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.

CITES (Convention on International trade in Endangered species of wild fauna and flora) (2006): *Squalus acanthias* Proposal, Draft on February 2006 for CITES Consultation Process.

Collete, B. B., Klein-MacPhee, G. (2002): Bigelow and Schroeder's Fishes of the Gulf of Maine. Smithsonian Institute Press, Washington and London.

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. V. J. (1989): Sharsk of the World. FAO Species Catalogue, FAO Fish Synopsis Mo. 125. Vol. 4. Pts 1 and 2. Rim.



- Compagno, L. J. V. (2001): Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Volume 2. Bullhead, mackerel and carpet sharks (heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes). *FAO Species Catalogue for Fishery Purposes*. 1(2): 269.
- Compagno, L., Dando M., Fowler, S. (2005): A field guide to the sharks of the world. *Harper Collins Publishers*, London.
- Costello, M. J., Bouchet, P., Boxshall, G., Arvantis, C., Appeltans, W. (2008): European Register of Marine species. <http://www.marbef.org/data/erms.php>.
- Demirhan, S. A., Seyhan, K. (2006): Seasonality of Reproduction and Embryonic growth of Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*) in the Eastern Black Sea. 30: 433-443.
- Dulčić, J., B. Grbec, L. Lipej (1999): Information on the Adriatic ichthyofauna-effect of water warming? *Acta Adriatica* 40(2): 33-43.
- Dulčić, J., B. Grbec (2000): Climate change and Adriatic ichthyofauna. *Fish. Oceanogr.* 9(2): 187-191.
- Dulčić, J., A. Palloro, L. Lipej (2003): Lessepsian fish migrants reported in the Eastern Adriatic Sea: an annotated list. *Annales, Series historia naturalis*, 13(2): 137-144.
- Dulčić, J., B. Grbec, L., Lipej, G. Beg-Paklar; N. Supić, A. Smiričić (2004): The effect of the hemispheric climatic oscillations on the Adriatic ichthyofauna. *Fresenius Env. Bull.* 13(13b): 293-298.
- 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.
- Gruber, H. S. (2000): Life style of sharks. Sharks conference 2000. Pacific Fisheries Coalition, 1-10.
- Guerzoni, S., Frignani, M., Giordani, P., Frascari, F. (1984): Heavy metals in sediments from different environments of a northern Adriatic sea area, Italy, *Springer*, Berlin/Heidelberg.
- Hanchet, S. (1988): Reproductive biology of *Squalus acanthias* from east coast, South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, Vol. 22: 537-549.

Hamlett, W.C., 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.

Hammond, R. T., Ellis R. J. (2005) Bayesian assessment of Northeast Atlantic spurdog using a stock production model, with prior intrinsic population growth rate st by demographic models. *Journal of the Northwest Atlantic Fisheries Science*, 35: 299-308.

Henderson, C. C., Flannery, K., Dunne, J. (2002): Growth and reproduction in spiny dogfish *Squalus acanthias* L. (Elasmobranchi: Squalidae), from the west coast of Ireland. *Sarsia*, 87: 350-361.

Holden, M. J., Meadows, P. S. (1964): The fecundity of the spurdog (*Squalus acanthias* L.). *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, 28: 418-424.

<http://jadran.gfz.hr/temperatura.html> (consulted on 17-9-2011)

<http://www.discoverlife.org> (consulted on 12-9-2011)

<http://www.fishbase.org> (consulted on 17-9-2011)

<http://www.oceana.org> (consulted on 1-9-2011)

IUCN (2009): IUCN Red List of Threatened Species. Version 2009.1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>.

Jardas, I. (1972): Prilog poznavanju ekologije nekih jadranskih hrskavičnjača (CHONDRICHTYES) s posebnim osvrtom na ishranu. *Acta adriatica*, 14: 3-58.

Jardas, I. (1996): Jadranska ihtiofauna. *Školska knjiga*, Zagreb.

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.

Jukić Peladić, S., Vrgoč N., Drstulović Sifner, S., Piccinetti, C., Piccinetti Manfrin, G., Marano, G., Ungaro, N. (2001): Long-term changes in demersal resources of the Adriatic Sea:

comparison between trawl surveys carried out in 1984 and 1998. *Fisheries research*, 53: 95-104.

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.

Ketchen, K.S. (1986): The spinydogfish (*Squalus acanthias*) in the northeast Pacific and a history of its utilization. *Canadian special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences*, 88: 78.

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., Mrakovic 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 Sea. *Knjižnica Annales Majora*, Koper.

Lovrenc, L., Da Maddalena, A., Soldo, A. (2004): sharks of the Adriatic Sea. *Knjižnica annales majora*, Koper.

Maruska, K. P., Cowie, E. G., Tricas, T. C. (1996): Periodic Gonadal Activity and Protracted Mating in Elasmobranch Fishes. *The journal of experimental zoology*. 276: 219-232.

McClusky, L. M. (2005): Stage and season effects on cell cycle and apoptotic activities of germ cells and Sertoli cell during spermatogenesis in spiny dogfish (*Squalus acanthias*). *Reproduction*, 129: 89-102.

Mellinger, J. (1989): Reproduction et developpement des Chondrichthyens (Reproduction and development in Chondrichthyan fishes). *Oceanis*, 15: 283-308.

Musick, J. A., Bonfil, R. (2004): Elasmobranch Fisheries Management Techniques; *APEC Fisheries Working Group*, Singapur.

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

Nelson, J. S. (1994): Fishes of the world. *John Wiley & Sons*, New York, USA, 1: 600.

- Penzar, B., Penzar, I., Orlić, M. (2001): Vrijeme i klima hrvatskog Jadrana, *Nakladna kuća "Dr. Feletar"*, Zagreb.
- Peres, J.M., Gamulin Brida, H. (1973): Biološka oceanografija, *Školska knjiga*, Zagreb.
- Richards, J. (2004): M Sc Thesis. Oregon State University.
- Soldo, A. (2003): Status of the sharks in the Mediterranean. *Annalea, Series historia naturalis*, 13(2): 137-144.
- Stenberg, C. (2005): Life history of the piked dogfish (*Squalus acanthias* L.) in Swedish waters. *Journal of Northwest Atlantic Science*, 35: 145-154.
- Tricas, T.C., Last, K. D. P., McCosker, J. E., Walker, T. I., Taylor, L. (1997): sharks and rays, the ultimate guide to underwater predators. *Harper Collins Publishers*, London.
- Wourms, J. P. (1977): Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *Am.Zool.* 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*, Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split, 4(4): 19-25.