



Università degli Studi di Cagliari

**DOTTORATO DI RICERCA
BIOLOGIA E BIOCHIMICA DELL'UOMO E DELL'AMBIENTE
Ciclo XXVII**

***LA RIPRODUZIONE NEI CONDROITI COME ELEMENTO CHIAVE
PER LA LORO CONSERVAZIONE E GESTIONE NEL MEDITERRANEO
CENTRO-OCCIDENTALE***

**Settore scientifico disciplinare di afferenza
ECOLOGIA BIO/07**

Presentata da:	Dott.ssa Martina Francesca Marongiu
Coordinatore Dottorato	Prof. Emanuele Sanna
Tutor/Relatore	Prof. Angelo Cau

Esame finale anno accademico 2013 – 2014

Abstract

Chondrichthyes make up one of the oldest and most ecologically diverse vertebrate lineages: they arose at least 420 million years ago and rapidly radiated out to occupy the upper tiers of aquatic food webs (Compagno, 1990; Kriwet *et al.*, 2008; Dulvy *et al.*, 2013). Today, this group of predators plays important functional roles in the control of coastal and oceanic ecosystems (Stevens *et al.*, 2000; Ferretti *et al.*, 2010; Heithaus *et al.*, 2012). They are an important resource, and constitute a significant fraction of the by-catch, which for decades has been undergoing an increase in mortality that has altered the relative abundance and structure of their worldwide population. This is mainly due to their K-selected life-history strategy that makes them extremely vulnerable and not very resilient to the high rates of mortality due to fishing (Musick, 1999; Cortés, 2002; Dulvy and Forrest, 2010). The knowledge of the biological parameters related to the reproductive biology (life-history traits) and the state of the populations of these marine organisms are essential to plan proper management of fisheries.

Sardinian seas represent a small biodiversity hotspot in the central western Mediterranean, as well as being an important junction of the two basin sides (West and East). The high richness of chondrichthyan species which inhabit these waters combined with the absence of protection measures, has provided an opportunity to undertake a study on the status of these marine predators, in order to establish a starting point for a correct management, studying biological parameters. This aim was achieved conducting specific analysis on sexual maturity going to deepen aspects on their reproductive strategies.

The results on the abundance trends of demersal cartilaginous fish inhabiting the Sardinian waters, were at first useful to identify the most abundant species for which the information on the reproductive cycle and parameters are scarce or fragmented in the literature (*Dipturus oxyrinchus*, *Etmopterus spinax*, *Galeus melastomus*, *Raja brachyura*, *R. miraletus* and *Squalus blainville*). All these species are included in the IUCN red lists.

The adoption of standardized maturity scales for oviparous and viviparous species, through the observation of macroscopic reproductive systems, supported by histological analysis, were crucial for the correct attribution of maturity stages that allowed to discern the different phases of their life cycle and to identify the main reproductive parameters.

The latter revealed a generalized vulnerability to fish mortality in all studied species. Specifically, skates and sharks shown a very late achievement of sexual maturity, in both sexes, with L_{50} generally higher than 80% of their maximum size. This feature, compared

with those reported in the Atlantic (~ 75% of the maximum total length, Cortés 2000) suggests that the fishing pressure in our seas is worrying.

The reproductive potential of the species seems to depend closely to the hepatic activity that supports the development of ovaries and testes, and in the two viviparous sharks analyzed (*E. spinax* and *S. blainville*), guarantees also the embryos' growth, thanks to the production of specific lipids, during the pregnant phases.

The determination of the breeding season is the key for a proper management. Among the oviparous species studied, *D. oxyrinchus* and *G. melastomus* showed an extended reproductive period with one and two peaks respectively during the year. A reproductive cycle limited to well-defined period, however, has characterized the two coastal skates (*R. brachyura* and *R. miraletus*). *E. spinax* and *S. blainville* displayed a reproductive cycle that consists of two different periods (vitellogenesis and gestation) with a quite extensive gestation ranging from 1.5 to about three years. It is evident that the capture of these species, in particular females, especially during the breeding period, would lead to a slow decline of these populations.

A quite extensive reproductive cycle in the two viviparous sharks was further confirmed by the analysis of the oviducal gland micro-architecture, with a 'long-term storage' of sperms (about two years) in special compartments called Sperm Storage Tubules (SST). This observation would lead to hypothesize a reproductive strategy that would benefit them in survival in deep environments, where the chances of mating are rather scarce, thus increasing the reproductive fitness.

The limited reproductive period encountered in *R. miraletus* has been validated by a 'short-term storage' of sperm cells in the oviducal gland, with a rather rapid preservation of the same. Instead, *D. oxyrinchus*, that showed an annual reproductive cycle, appeared to preserve the sperm for a longer period of time (in terms of months).

The over-exploitation of a species can lead to changes density-dependent (Fahy, 1989) and, in some populations, the answer to the excessive fishing effort could be offset by the reduction of the medium maturity sizes (Ellis and Keable , 2008). Considering these aspects, the identification of specific spawning areas and the analysis of time trends on the medium sizes of spawners, highlighted that the west coast of Sardinia is the one with a higher concentration of them. In particular, *R. miraletus* and *G. melastomus* sizes seems to be temporally undergoing a decline often beyond the L_{50} . For this reason we proposed specific areas that need protection measures and we indicated the minimum size of capture for each species.

Finally, the analysis conducted on the morphology and morphometry of the most common Rajid species egg capsules, led to the creation of a dichotomous table useful for the specific identification of those found stranded or during fishing operations. This table could allow to obtain information on the spatial and temporal distribution and identify any nursery areas in the Mediterranean.

In conclusion, the overall picture of the reproductive status of the six species investigated in Sardinian waters represents a first step in order to impress management measures in the island and later in the Mediterranean. It is hoped that this information can be used for the creation of appropriate management policies by the competent authorities. Moreover, in the near future, there is a commitment to improve the monitoring, including the development of targeted sampling protracted. Finally, we propose to extend the research to the other chondrichthyan species present in the Sardinian seas to have a more complete picture, so we can safeguard these important predators, because without them, marine ecosystems would be destined to collapse.

INDICE

Capitolo 1 – Introduzione	1
1.1 Stato dell'arte e progetti per la salvaguardia dei Condroitti	4
1.2 Obiettivi generali della tesi	9
Capitolo 2 – La riproduzione	11
2.1 Anatomia di base	15
2.2 Lo studio della riproduzione applicato alla pesca scientifica	19
Capitolo 3 – Materiali e Metodi	29
3.1 Campionamenti.	29
3.2 Procedure istologiche	35
3.3 Analisi dei dati	36
3.4 Maturità	36
3.5 Fecondità	37
3.6 Analisi delle capsule ovigere	37
3.7 Analisi dei riproduttori e andamento delle taglie medie	38
Capitolo 4 – I Condroitti nei mari di Sardegna	39
4.1 Analisi della frequenza (occurrence) media	42
4.2 Analisi dei principali indici di abbondanza	47
4.3 Conclusioni	53
Capitolo 5 – Le specie ovipare	55
5.1 <i>Galeus melastomus</i>	57
5.2 <i>Raja brachyura</i>	69
5.3 <i>Raja miraletus</i>	79
5.4 <i>Dipturus oxyrinchus</i>	94
5.5 Le capsule ovigere dei Rajidi	109
Capitolo 6 – Le specie vivipare	126
6.1 <i>Etmopterus spinax</i>	127
6.2 <i>Squalus blainville</i>	144
Capitolo 7 – Frequenza dei riproduttori e analisi delle taglie medie	160
7.1 Risultati	161
7.2 Conclusioni	176
Capitolo 8 – Conclusioni	179
Bibliografia	183

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

Le specie viventi della Sottoclasse Olocefali (conosciuti generalmente col nome di chimere, ~43 sp.) e degli Elasmobranchi (squaliformi e batoidei, ~1125 sp.) costituiscono, insieme, la Classe dei Condroitti (pesci con lo scheletro cartilagineo) (Compagno *et al.*, 2005). Gli Olocefali sono costituiti da un solo ordine vivente (Chimaeriformes) comprendente tre famiglie (*Callorhynchidae*, *Chimaeridae* e *Rhinochimaeridae*) (Didier, 2004; Compagno *et al.*, 2005). Gli Elasmobranchi invece, mostrano una più ampia differenziazione, con ~17 ordini e ~52 famiglie, nonostante ci sia ancora parecchio disaccordo tra i limiti riguardanti gli ordini e le famiglie, specialmente tra le razze (McEachran *et al.*, 1996; Shirai, 1996; Compagno *et al.*, 2005).

I Condroitti sono considerati essere i più antichi vertebrati esistenti imparentati con gli Osteitti (Heinicke *et al.*, 2009; Inoue *et al.*, 2010) con i quali hanno in comune le scaglie placoidi e, in molti lignaggi, una pinna eterocerca, ma da cui differiscono perché possiedono un endoscheletro semplice di cartilagine calcificata. Questa caratteristica insieme con la modificazione della pinna pelvica nel maschio in pterigopodi (organi sessuali secondari utilizzati per il trasporto degli spermatozoi) distingue i Condroitti da tutti gli altri pesci (Grogan e Lund, 2004). Mentre la maggior parte degli squali e delle chimere hanno una forma del corpo simile a quella dei pesci comuni, qualche squalo e tutti i batoidi (razze, pastinache, torpedini, pesci sega e squatine) sono appiattiti dorso-ventralmente e vivono in ambienti bentonici.

L'origine dei Condroitti risale a tempi molto antichi; i primi fossili datati risalgono al periodo del Siluriano (444-416 milioni di anni fa) (Coates e Sequeira, 2001). I fossili diventano molto più comuni nel Devoniano (416-356 milioni di anni fa) e includono molti rappresentanti di gruppi che sono oramai estinti. Basandosi su questi ritrovamenti, si ritiene che le Sottoclassi degli Olocefali e degli Elasmobranchi si siano discostate fra loro circa 410 milioni di anni fa. I fossili hanno evidenziato anche la presenza dei più moderni rappresentanti di queste Sottoclassi, ossia il Sotto-Ordine dei Chimeroidei (chimere) e l'Infraclasse dei Neoselaci (squali e razze), i quali non comparirono prima del Mesozoico (251-66 milioni di anni fa) (Grogan e Lund, 2004; Underwood, 2006) (Fig. 1).

I Condroitti tuttora viventi hanno mostrato una varietà di adattamenti strutturali che gli hanno permesso di sopravvivere fino ai giorni nostri e di occupare una varietà di habitat come laghi

e fiumi d'acqua dolce, estuari, acque costiere, scogliere, il mare aperto e quello profondo, e si ritrovano persino dalle acque dei tropici fino all'Artico e all'Antartico.

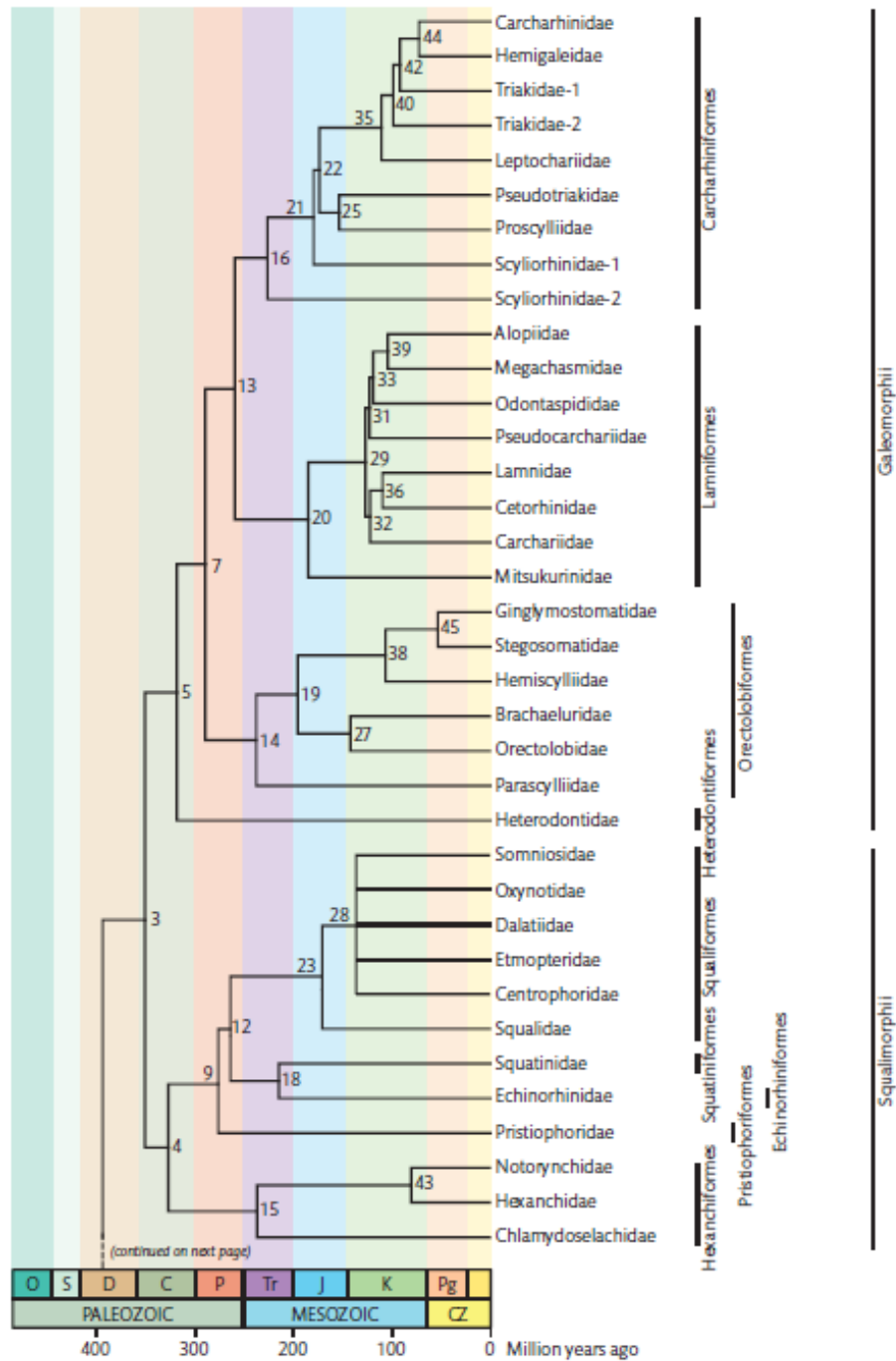


Figura 1. Evoluzione storica dei Condroitti. Abbreviazioni: C-Carbonifero; CZ-Cenozoico; D-Devoniano; J-Giurassico; K-Cretaceo; O-Ordoviciano; P-Permiano; Pg-Paleocene; S-Siluriano; Tr-Triassico (Heinicke, 2009). Continua nella pagina successiva.

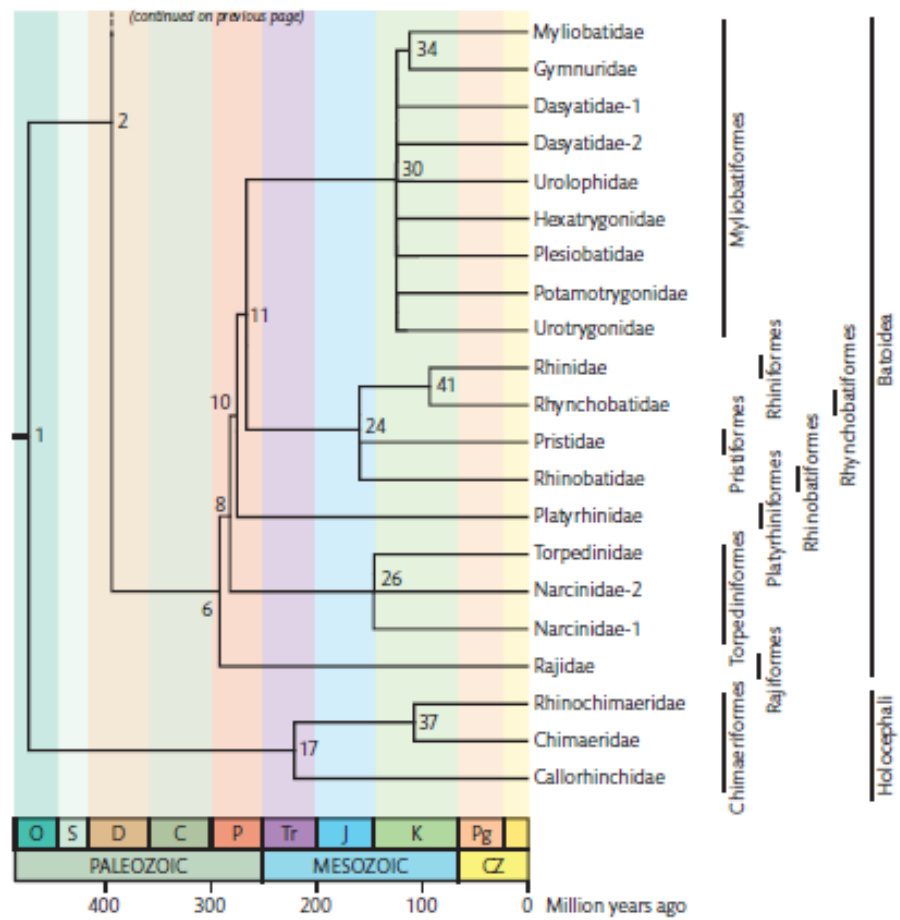


Figura 1. Evoluzione storica dei Condrotti. Abbreviazioni: C-Carbonifero; CZ-Cenozoico; D-Devoniano; J-Giurassico; K-Cretaceo; O-Ordoviciano; P-Permiano; Pg-Paleocene; S-Siluriano; Tr-Triassico (Heinicke, 2009). Continua nella pagina successiva.

1.1 STATO DELL'ARTE E PROGETTI PER LA SALVAGUARDIA DEI CONDROITTI.

La maggior parte degli squali e delle razze che sono stati studiati finora hanno una crescita lenta, maturità tardiva e bassa fecondità rispetto ai pesci ossei (Camhi *et al.*, 1998). Queste caratteristiche determinano bassi tassi di crescita (Smith, Au e Mostra, 1998) e una bassa resilienza alla mortalità da pesca (Hoenig e Gruber, 1990). Così, la maggior parte di queste popolazioni possono sopportare livelli modesti di pressione di pesca prima che si verifichi un declino con un conseguente collasso degli stock (Camhi *et al.*, 1998; Musick, 1999; Cortés, 2000); inoltre essi non sono in grado di riprendersi più rapidamente di altre specie di pesci in caso si dovessero verificare delle riduzioni della popolazione (Sminkey e Musick, 1995; 1996). Di conseguenza, la gestione di questa risorsa dovrebbe essere attuata nel momento stesso in cui si decide di iniziare ad attuare la pesca su queste specie (Musick, 1999). Tuttavia, questo non è stato il caso della maggior parte delle attività di pesca diretta sugli squali che si sono sviluppate in tutto il mondo (Bonfil, 1994). Quello che si è realmente verificato è stata una pesca smisurata senza nessun tipo di gestione che ha portato ad un rapido declino degli stock e al conseguente collasso degli stessi, per il quale ci vorranno decenni per il recupero (Anderson, 1990; Hoff e Musick, 1990).

Il declino delle popolazioni dei Condroitti è preoccupante per ragioni che vanno oltre la semplice conservazione della biodiversità; infatti, in quanto predatori all'apice della catena alimentare, giocano un ruolo chiave nel mantenimento dell'equilibrio degli ecosistemi marini. Una loro eventuale scomparsa potrebbe avere non solo l'effetto atteso di rilasciare il controllo sulla loro preda principale, ma una inaspettata ripercussione di secondo e terzo grado sulle specie "non prede dirette" attraverso collegamenti trofici (Stevens *et al.*, 2000. Schindler *et al.*, 2002). Pertanto, anche se la maggior parte dei condroititi hanno un valore economico piuttosto scarso nel settore della pesca, l'impatto economico di un eventuale collasso degli stock sarebbe paragonabile a quello che si verificherebbe con la scomparsa delle specie più pregiate, anche se, in questo caso, il tempo di recupero della popolazione e la perdita economica durerebbero molto più a lungo (Musick, 1999).

Casi ben documentati di squali che hanno subito dei declini a causa della pesca sono quelli dello squalo smeriglio *Lamna nasus*, pescato nel Nord Atlantico (Anderson, 1990; Campana *et al.*, 2001), della canesca *Galeorhinus galeus*, pescato al largo della California e dell'Australia (Ripley, 1946; Olsen, 1959), dello squalo elefante *Cetorhinus maximus* (Parker e Scott, 1965) e dello spinarolo *Squalus acanthias*, pescato sia nel Mare del Nord che al largo

delle British Columbia (Holden, 1968; Ketchen, 1986; Hoff e Musick, 1990). La pesca diretta causò danni alle popolazioni dello squalo toro *Carcharias taurus*, e dello squalo bruno *Carcharhinus obscurus*, e per le quali veniva praticato lo “shark finning”. Queste popolazioni sono infatti crollate nella zona occidentale del Nord Atlantico e solo alla fine del 1980, dopo dieci anni di regolamentazione della pesca, hanno mostrato segni modesti di ripresa, mentre lo squalo grigio *Carcharhinus plumbeus*, anche se ha risentito di questo impatto, continua a sostenere lo sforzo di pesca (Musick *et al.*, 1993; Musick, 1999).

Anche se la pesca diretta è stata la causa del collasso degli stock di molte specie di elasmobranchi, una minaccia più importante per squali e razze è sicuramente data dalla mortalità dovuta alle catture accidentali nella pesca diretta di altre specie più pregiate (Bonfil, 1994; Musick, 1999). In questo tipo di pesca, specie con tassi di riproduzione più elevati continuano a sostenere l'attività di pesca, mentre le specie con minori potenzialità sono spinte al declino degli stock o all'estinzione (Musick, 1999; Stevens *et al.*, 2000). Un esempio ci è fornito dal caso della razza *Dipturus laevis*, pescata come cattura accessoria della pesca nel New England e nelle coste atlantiche del Canada e che si sarebbe probabilmente estinta localmente se non fosse per i data-set di pesca indipendente (in cui sono registrate le singole specie) che sono stati analizzati da Casey e Myers (1998). Molte altre grandi specie di razze possono essere potenzialmente a rischio di estinzione (Dulvy e Reynolds, 2002). Dati statistici imprecisi sulla pesca, in cui diverse specie sono ammassate insieme come un'unica categoria (cioè "squali" o "razze") possono mascherare cambiamenti fondamentali nella struttura della comunità e profonde riduzioni delle popolazioni delle più grandi specie a crescita lenta (Dulvy *et al.*, 2000).

A livello mondiale, diverse specie di elasmobranchi impoverite dalla pesca, sono state, di recente, poste sotto la protezione di normative nazionali: la razza *Dipturus laevis*, due specie di pesci sega (*Pristis pectinata* e *P. perotteti*), lo squalo toro *Carcharias taurus*, lo squalo bruno *Carcharhinus obscurus*, e lo squalo notturno *Carcharhinus signatus*, sono stati inseriti nel 1999 alla “National Marine Fisheries Service” (NMFS) negli Stati Uniti, nella lista delle specie minacciate e in pericolo (Diaz-Soltera, 1999). Da allora, il pesce sega *Pristis pectinata* è stato inserito nella lista come “Endangered”. Lo squalo toro e il grande squalo bianco, invece, sono protetti da normative sia in Sud Africa che in Australia (Camhi *et al.*, 1998).

Negli ultimi anni lo status delle specie degli elasmobranchi è stato oggetto di maggior interesse in tutto il mondo da parte della *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) Shark Specialist Group (SSG), e 62 specie di squali su 226 specie valutate sono

attualmente riconosciute come “in pericolo di estinzione” (IUCN, 2003). Il numero di specie minacciate aumenterà sicuramente quando tutti gli squali e le razze saranno valutati.

La crescente preoccupazione internazionale sulla sostenibilità della pesca degli squali iniziò, tra la fine degli anni ‘80 e gli inizi dei ‘90, ad evidenziare come la pesca degli squali si fosse ampliata a livello globale in risposta ai mercati lucrativi che commercializzavano pinne di squalo nel sud-est asiatico (Bonfil, 1994; Rose, 1996). Nel 1994 la nona Conferenza delle Parti della convenzione sul commercio internazionale delle specie minacciate di estinzione (CITES) adottò una risoluzione su "Lo stato del commercio internazionale delle specie di squali." La risoluzione invitò la “Food and Agriculture Organization” delle Nazioni Unite (FAO) a rivedere le informazioni sullo stato globale degli stock degli squali e gli effetti del commercio internazionale in materia. La FAO, dopo un'adeguata consultazione di esperti internazionali, sviluppò nel 1999 un piano d'azione per la conservazione e la gestione degli squali (IPOA-Sharks). Per l'IPOA-Sharks, il termine "squalo" diventò il simbolo comprendente tutti i Condritti (squali, batoidei e chimere). Le linee guida (FAO, 2000) dettate dall'IPOA-Sharks prevedevano che le nazioni che contribuiscono alla mortalità da pesca degli stock degli squali avrebbero dovuto partecipare a misure legate alla loro conservazione e gestione. Le nazioni che partecipavano alla pesca degli squali furono chiamate a preparare il “National Shark Assessment Report” per attuare piani di gestione sugli stessi. Purtroppo, quando il report dell'IPOA-Sharks fu esaminato dalla “commissione pesca” della FAO (COFI) nel febbraio 2001 e dalla CITES nel 2002, venne riscontrato che solo un piccolo numero di paesi (13 stati, oltre all'EU, su 134) avevano aderito a questa iniziativa e che molti dei paesi che avevano aderito, non avevano adeguatamente affrontato le questioni sollevate dall'IPOA, né avevano proposto misure sufficienti per iniziare una gestione sostenibile della pesca degli squali (IUCN 2002 a, b). Nel 2003 venne adottato un ulteriore “Piano d'azione per la conservazione dei pesci cartilaginei nel Mar Mediterraneo” (UNEP/MAP RAC/SPA2003), ugualmente disatteso. Nonostante il declino e i pericoli, pochissime specie (circa una decina tra cui *Aetobatis narinari*, *Carcharodon carcharias*, *Carcharias norohai*, *C. taurus*, *Cetorhinus maximus*, *Isurus oxyrinchus*, *Manta birostris*, *Mobula mobular*, *Pristis* spp., *Rhincodon typus*) sono protette da convenzioni e leggi nazionali ed internazionali (UNCLOS, CMS, CITES, Convenzione di Berna, Convenzione di Barcellona), altrettanto poche sono quelle per cui sono previste norme per regolamentare il prelievo.

Secondo dati ufficiali della FAO (2006) le catture globali sono cresciute di circa il 300% in 50 anni e molte popolazioni di specie pelagiche del Mediterraneo sono declinate

spaventosamente fino ad oltre il 90% (Ferretti *et al.*, 2008). La pesca illegale complica la capacità dei paesi di monitorare lo stato della risorsa. Recenti analisi sul commercio globale delle pinne di squalo indicano che la biomassa che si trova sul mercato è 3-4 volte superiore alle cifre riportate nel database FAO (Clarke *et al.*, 2006). Tuttavia questi valori sono ritenuti inaffidabili. La FAO (2006) indicò che nel suo database solo il 30% delle catture mondiali sono riportate a livello di specie o di genere, e 13% a livello di famiglia. Anche in Italia i dati ufficiali sono di difficile interpretazione e di limitata utilità perché molte specie di squali di piccola-medio taglia sono genericamente riportate come “palombo” (*Mustelus spp.*) (Vacchi e Notarbartolo di Sciara, 2000) e come tali dichiarati agli organismi internazionali.

Recentemente, nel 2009, la commissione europea ha preannunciato l'adozione di un piano d'azione europeo per la conservazione degli “squali” (CPOA European Community Plan of Action for Sharks. COM 2009 40) che si basa sul piano d'azione internazionale della FAO del 1999 per la conservazione e la gestione degli squali (piano FAO per gli squali) il cui obiettivo è garantire la conservazione e la gestione degli squali decimati dalla flotta dell'UE. Il presente piano d'azione persegue tre obiettivi specifici: estendere le conoscenze relative sia alla pesca degli squali che alle specie di squali e al loro ruolo nell'ecosistema; garantire la sostenibilità della pesca diretta degli squali e ridurre le catture accessorie; promuovere un approccio coerente fra la politica comunitaria interna ed esterna in materia di squali. Il presente piano si applica alle attività di pesca condotte: 1) all'interno delle acque comunitarie; 2) coperte da accordi e partenariati vigenti tra la Comunità europea e i paesi terzi; 3) condotte in acque internazionali (in alto mare); 4) soggette a un'organizzazione regionale per la gestione della pesca (ORGP).

In linea col progetto europeo, anche l'Italia ha deciso di impegnarsi nella salvaguardia dei condroitti. L'importanza di questi nei nostri mari è stata evidenziata dalla Lista Rossa IUCN del 2007. Questo studio afferma che sebbene il Mediterraneo sia un mare semi-chiuso, ospita una fauna diversificata di pesci cartilaginei con circa 80 specie, fra cui 71 specie presenti in acque italiane, rendendole tra le più minacciate nel Mediterraneo. In Mediterraneo la maggior parte delle catture avviene nell'ambito di una pesca multi-specifica (mista), rendendo la regolamentazione ancora più ardua. La gestione della pesca dei pesci cartilaginei è resa difficoltosa dal fatto che si tratta di specie longeve, con lunghi tempi di recupero in risposta ad overfishing e con complesse strutture spaziali (segregazione per taglia-sesso delle popolazioni). Il 42% delle 71 specie valutate sono elencate nelle categorie “criticamente minacciate”, “in pericolo” o “vulnerabili”. La principale minaccia alla loro sopravvivenza è la pesca, sia a livello professionale che sportiva, che diversi paesi che si affacciano sul mare

praticano assiduamente, specialmente nei nostri mari. Tutte le attività di pesca hanno un forte impatto su molte specie sia nel numero di animali catturati e sia perché spesso si tratta di esemplari giovanili che non si sono ancora riprodotti (Cavanagh e Gibson, 2007). Per tutte queste ragioni il Ministero dell'Ambiente e della tutela del territorio e del Mare, ha deciso di approvare il Progetto SHARKLIFE (CTS) (Gennaio 2014). L'obiettivo principale di Sharklife è quello di contribuire alla conservazione dei pesci cartilaginei, con una particolare attenzione per lo squalo elefante e i trigoni viola. In particolare, attraverso l'attuazione di tutte le azioni previste dal progetto si intendono raggiungere i seguenti risultati:

- 1) riduzione della cattura del trigone viola, *Pteroplatytrygon violacea*, dell'80%, attraverso l'uso degli "ami circolari" nella pesca al pesce spada;
- 2) riduzione del 100% della pesca agli elasmobranchi durante le competizioni nazionali di pesca sportiva, attraverso l'adozione del sistema "tag and release";
- 3) adozione di uno specifico Piano di Azione per la conservazione degli elasmobranchi da parte delle autorità interessate;
- 4) sviluppo di un sistema innovativo per la riduzione delle catture accidentali dello squalo elefante *Cetorhinus maximus* e di altre grandi specie marine protette;
- 5) maggiore collaborazione tra pescatori e popolazione locale sulle politiche di conservazione e l'uso sostenibile delle risorse marine;
- 6) aumentare la sensibilità del pubblico sui temi della biodiversità in generale e in particolare sulla conservazione degli squali e delle razze.

Nelle acque sarde sono presenti 58 specie delle 71 che costituiscono la selacofauna italiana (Follesa *et al.*, 2003; Relini *et al.*, 2010), una delle più alte diversità di selaci tutti inclusi nelle Liste Rosse. Di queste, 28 specie (48.3%) sono classificate come specie minacciate di estinzione e 10 (17.2%) incluse nelle categorie Data Deficient (per cui non si dispone di dati sufficienti). Questo non vuol dire che le specie in questione non siano minacciate, ma che con l'avanzare delle conoscenze si potrebbe scoprire essere molto vulnerabili alle attività antropiche.

1.2 OBIETTIVI GENERALI DELLA TESI.

Il primo passo che ha portato alla realizzazione di questa tesi di dottorato è stato quello di identificare quali specie di Condroitti fossero più frequenti nelle diverse zone della Sardegna e alle differenti batimetrie, stabilendo le distribuzioni preferenziali di ognuna delle 25 specie finora reperite dalla pesca demersale nei nostri mari. In secondo luogo si è deciso di valutare i trend temporali dei principali indici di abbondanza (indice di densità e indice di biomassa) per valutare se ci fossero eventuali diminuzioni e identificare le principali specie che necessitassero una maggior attenzione e studi più approfonditi sulla loro biologia. Dai risultati ottenuti in queste analisi, si è deciso di porre l'attenzione su 6 specie: tre squaliformi (*Galeus melastomus*, *Etmopterus spinax* e *Squalus blainville*) che hanno presentato una predilezione per la vita a batimetrie profonde dove le risorse alimentari sono limitate e le probabilità di accoppiamento sono scarse rispetto alle specie che abitano gli ambienti costieri, e tre specie appartenenti all'ordine Rajiformes (*Dipturus oxyrinchus*, *Raja brachyura* e *R. miraletus*) che stanno subendo notevoli pressioni, dovute sia alla loro predominanza come catture accidentali nella pesca demersale, sia all'azione della pesca selettiva (Walker e Heesen, 1996; Walker e Hislop, 1998; Stevens *et al.*, 2000; Gaichas *et al.*, 2003; Raje, 2006; Tamini *et al.*, 2006).

Alla base della valutazione della vulnerabilità e di una corretta gestione della risorsa vi è la necessità, inizialmente, di reperire informazioni sul ciclo biologico di una specie e in particolar modo su quello riproduttivo. Nel bacino del Mediterraneo le conoscenze sul ciclo riproduttivo dei Condroitti, sono ascrivibili ancora a poche specie e per questa ragione, in questa tesi, viene trattato il tema della maturità sessuale indagato specificamente per le sei specie sopraccitate. Innanzitutto si è deciso di dare un contributo nel miglioramento delle scale di maturità sessuale (Follesa *et al.*, 2012b), richiesto anche in ambito del Data Collection Framework tra i Terms of Reference, utilizzate per le specie ovipare e vivipare. Infatti, la comprensione delle differenti fasi che caratterizzano lo sviluppo sessuale rappresenta il passo iniziale per conoscere e comprendere a pieno il ciclo riproduttivo di queste specie, al fine di stimare correttamente parametri fondamentali come taglia di maturità sessuale ed periodo riproduttivo.

In aggiunta, di alcune specie tra cui *D. oxyrinchus*, *E. spinax*, *R. miraletus* e *S. blainville* vengono forniti i risultati sulla micro-architettura di organi accessori quali le ghiandole oviducali coinvolte nella produzione degli strati principali che proteggono le uova, nella produzione dell'involucro terziario che le ricopre (capsula o candela) e, occasionalmente, come sito di stoccaggio degli spermatozoi. L'importanza biologica di questa struttura è legata

alle peculiarità della strategia riproduttiva dei Condriotti e alla loro filogenesi. Inoltre, la conoscenza dello sviluppo, della struttura e della maturazione della ghiandola oviducale è di vitale importanza per la comprensione della biologia riproduttiva delle specie.

In aggiunta, delle sei specie più comuni di raiformi che abitano i mari sardi (*D. oxyrinchus*, *R. brachyura*, *R. clavata*, *R. miraletus* e *R. polystigma*) vengono riportati i dati relativi alla morfologia e alla morfometria delle capsule ovigere rinvenute *in situ* al fine di creare una tavola dicotomica utile per il riconoscimento in mare delle stesse, qualora vengano reperite nelle reti da pesca, e poter quindi approfondire i dati riguardanti alla distribuzione spaziale e temporale delle specie e identificare eventualmente le aree di nursery.

Il contributo conoscitivo sulla stima dei parametri riproduttivi riportati in questa tesi ha permesso di individuare, attraverso l'analisi dei trend temporali dei riproduttori e le differenti concentrazioni preferenziali, delle zone specifiche dove le specie dovrebbero essere tutelate, specialmente durante il periodo riproduttivo. Inoltre, per la maggior parte delle specie indagate viene proposta una taglia minima di cattura.

Ci si auspica che i dati forniti da questa tesi possano essere migliorati e approfonditi anche in associazione ai dati di accrescimento e stock assessment in modo da poter sviluppare piani di gestione efficaci in una regione come la Sardegna che non presenta una legislazione preposta alla salvaguardia di questi grandi predatori marini.

CAPITOLO 2

LA RIPRODUZIONE

I condroitti sono caratterizzati da una strategia riproduttiva di tipo K, che consiste in una crescita lenta, età di prima maturità tardiva, bassa fecondità, uova di grosse dimensioni e ricche di tuorlo e scarsa mortalità naturale (Hoenig e Gruber 1990). Tali peculiarità fanno sì che essi abbiano una riproduzione piuttosto limitata, impiegando le loro energie in pochi giovanili ben sviluppati fin dalla nascita che ricordano gli adulti. Probabilmente a causa del percorso evolutivo lungo e indipendente, all'interno di questo gruppo di specie, le strategie riproduttive si sono evolute per potersi adattare a tutte le condizioni ambientali. Pertanto, i Condritti mostrano tutte le principali modalità riproduttive dei vertebrati (Musick e Ellis, 2005). Tutti gli elasmobranchi possiedono una fecondazione interna e producono un numero relativamente modesto di uova di grandi dimensioni. La fecondità varia generalmente da uno a due figli all'anno fino a un massimo di 300 nella squalo balena (Compagno, 1990; Joung *et al*, 1996). Le strategie riproduttive proprie di queste specie includono l'oviparità, la viviparità aplacentata e quella placentata (Wourms, 1977). Le specie ovipare racchiudono una o più uova all'interno di capsule ovigere (oviparità singola e multipla) e le depositano nell'ambiente, e perciò gli embrioni si sviluppano esternamente al corpo della madre. Gli embrioni si sviluppano all'interno della capsula per un periodo variabile da meno di due mesi a oltre un anno (Compagno, 1990) e il loro sostentamento è garantito solamente dal tuorlo. Le specie vivipare, invece, mantengono le uova all'interno degli uteri, luogo in cui avverrà lo sviluppo degli embrioni. Il sacco vitellino, proprio delle specie vivipare placentate, interagisce con la parete uterina per formare una placenta in cui i nutrienti, provenienti dalla madre, sono trasferiti all'embrione. Nella maggior parte delle specie l'involucro dell'uovo viene inserito nel complesso utero-placentare (Hamlett *et al*, 1985). Nelle specie vivipare la gestazione varia da meno di sei mesi a più di due anni (Compagno, 1990) e possono avere uno sviluppo o lecitotrofico o matrotrofico. Lo sviluppo lecitotrofico, come detto precedentemente, si verifica quando gli embrioni traggono il loro nutrimento esclusivamente dalle riserve di tuorlo ed è tipico delle specie vivipare aplacentate. Lo sviluppo matrotrofico, si verifica invece quando gli embrioni integrano le riserve di tuorlo attingendo ai nutrienti di origine materna durante la gestazione; questo fatto si verifica anche in molte specie aplacentate e in tutte le specie placentate (Wourms e Lombardi, 1992). Il vantaggio della matrotrofia può essere dato dall'aumento delle dimensioni dell'embrione alla sua nascita garantendone quindi una

maggiore sopravvivenza. Un'altra considerazione importante nell'evoluzione delle strategie riproduttive degli elasmobranchi è la presenza o l'assenza di compartimenti uterini. Questi vengono prodotti in tutte le specie con lo sviluppo della placenta e in alcune specie con lo sviluppo aplacentato e si ritiene siano un passo importante nell'evoluzione della viviparità placentata (Otake, 1990).

OVIPARITA'

L'oviparità è una strategia riproduttiva che viene adottata da tutti i batoidei della famiglia Rajidae e da sei famiglie e oltre 100 specie di squali degli ordini Heterodontiformes, Orectolobiformes e Carcharhiniformes (Compagno, 1990; Compagno, 2001). Nelle specie ovipare, le uova sono racchiuse all'interno di una capsula e depositate sul substrato. Questa strategia riproduttiva è limitata agli individui che presentano abitudini tipicamente bentoniche. Può essere divisa in due diversi tipi: singola e multipla. Il primo tipo di strategia viene utilizzato da pochissime specie all'interno della sottoclasse Elasmobranchii, e dagli Olocefali; è inoltre l'unica forma di riproduzione nell'ordine Heterodontiformes e nella maggior parte delle specie della famiglia Rajidae. Nell'oviparità singola (un embrione per capsula), le uova vengono solitamente deposte con un intervallo di pochi giorni nel corso della stagione riproduttiva: viene deposto un uovo alla volta da ciascun ovidotto, di solito in coppia, e depositate sul fondo sul qual si schiederanno dopo un periodo fino a 15 mesi circa; in questa modalità riproduttiva quasi tutto lo sviluppo embrionale avviene prevalentemente al di fuori del corpo della madre; il risultato è che la fecondità annuale può andare dalle 20 a più di 100 uova all'anno, nella maggior parte delle specie (Musick e Ellis, 2005). L'oviparità multipla è presente, invece, solo in un numero ridotto di specie della famiglia Scyliorhinidae, forse negli Orectolobiformi e in alcuni rappresentanti della famiglia Rajidae: *Raja pulchra* (Ebert e Davis 2007) e *R. binocularata* (Ebert *et al*, 2008). In questa strategia riproduttiva le femmine, per la maggior parte del periodo di sviluppo, conservano le uova nell'utero per poi depositarle prima che si schiudano (Nakaya, 1975). Questo ovviamente limita la fecondità, ed è probabile che tale strategia si sia evoluta in risposta all'altissimo tasso di predazione delle uova (Musick e Ellis, 2005).

La capsula ovigera, in cui le uova vengono incubate, presenta generalmente viticci e filamenti appiccicosi che la aiutano nell'ancoraggio al substrato. La capsula si indurisce ulteriormente dopo essere stata depositata, un meccanismo essenziale per proteggere gli embrioni dalla predazione e solitamente, esse vengono deposte a coppie (Mellinger, 1983). Gli embrioni delle specie ovipare tendono ad essere relativamente piccoli rispetto a quelli delle specie

vivipare e questo è dato da una limitata quantità di tuorlo inizialmente presente nel sacco vitellino (Hamlett, 1997). Compagno (1990) suggerì che gli elasmobranchi ovipari potessero selezionare supporti adeguati per la deposizione delle uova, come avviene negli squali testa di toro (Heterodontiformes) in cui la femmina, una volta deposta la capsula, la raccoglie e la nasconde in cunei rocciosi o nella vegetazione marina.

Un'altra curiosità legata alla capsula ovigera è il tempo di sviluppo impiegato dall'embrione e che dipende strettamente dalla temperatura esterna. Un esempio è stato riscontrato nella razza chiodata *Raja clavata* nella quale si è notato, in due diversi esperimenti, come ci fossero differenze nella lunghezza del periodo di incubazione di uova deposte dallo stesso esemplare e tenute a temperature diverse in due acquari separati (Clark 1922, Ellis e Shackley 1995).

VIVIPARITA'

Viviparità aplacentata

In questa modalità riproduttiva gli embrioni vengono mantenuti all'interno del corpo materno per tutta la durata dello sviluppo, ma senza avere nessun collegamento tramite placenta con essa. Questa forma di sviluppo offre una protezione dai predatori, per un periodo di tempo più esteso rispetto agli ovipari (Hamlett, 1997).

Esistono diverse forme di sviluppo dell'embrione che Wourms (1977) ha diviso sostanzialmente in tre gruppi: quelli che dipendono interamente dalle riserve di tuorlo, quelli che si nutrono di altre uova o embrioni e quelli che possiedono forme analoghe della placenta. Fanno parte del primo gruppo le specie definite lecitotrofiche (l'embrione non riceve alimentazione supplementare dalla madre) mentre le specie appartenenti agli altri due gruppi sono considerate matrotrofiche (la nutrizione dell'embrione è affidata sia al tuorlo che ai nutrienti di origine uterina).

Il sacco vitellino

Gli embrioni delle specie appartenenti a questo gruppo dipendono interamente dalle riserve di tuorlo per completare il loro sviluppo. Questa è la strategia riproduttiva più utilizzata dagli squali e da alcuni batoidei. Essa è propria anche degli ordini Hexanchiformes, Squaliformes, Pristiophoriformes, Squatiniformes, Rhinobatiformes, Pristiformes, Torpediniformes e alcune specie negli ordini Orectolobiformes e Carcharhiniformes (Compagno, 1990).

Oofagia e adelfofagia

L'oofagia si verifica quando gli embrioni, all'interno dell'utero, consumano uova supplementari che continuano ad essere prodotte mentre l'embrione si sviluppa. Questa modalità è presente negli squali nell'ordine Lamniformes (Gilmore, 1993; Compagno, 1990). Esempi specifici descritti nella letteratura comprendono lo squalo volpe occhione (*Alopias superciliosus*), lo squalo volpe pelagico (*A. pelagicus*), lo squalo mako (*Isurus oxyrinchus*) e lo squalo smeriglio (*Lamna nasus*) (Moreno e Moron, 1992; Liu *et al*, 1999; Francis e Stevens, 1999; Mollet *et al*, 2000).

Nello squalo toro (*Carcharias taurus*), il primo embrione che si sviluppa in ogni utero consuma tutti gli altri (adelfofagia o cannibalismo intrauterino) nonché ulteriori uova prodotte (Gilmore *et al*, 1983). Questa strategia può facilitare lo sviluppo di grandi embrioni incrementando il loro stile di vita predatorio (Wourms, 1977).

Analoghi della placenta: istotrofia e trofonemi.

Questo tipo di sviluppo è presente in tutte le specie dell'ordine Myliobatiformes. I trofonemi sono lunghe estensioni dei villi dell'epitelio uterino che secernono il cosiddetto "latte uterino" (istotrofia) che può essere ingerito o assorbito dall'embrione. La quantità e la composizione dell'istotrofia varia notevolmente tra le specie. Quando le riserve di tuorlo sono esaurite, i trofonemi aumentano di dimensioni e rilasciano secrezioni uterine ricche di proteine e lipidi (Wourms, 1981).

Viviparità placentata

Questa modalità si verifica quando, nel corso dello sviluppo embrionale, dopo un periodo iniziale di dipendenza dal sacco vitellino, esso si attacca alla parete uterina e forma una sorta di cordone ombelicale. Nella maggior parte delle specie l'involucro dell'uovo viene mantenuto e inserito nel complesso utero-placentare (Hamlett, Wourms e Hudson, 1985). Il 30% degli squali vivipari forma una placenta col sacco vitellino (Hamlett, 1997). Questo tipo di sviluppo riproduttivo si verifica solo in squali dell'ordine Carcharhiniformes (Compagno, 1990). Wourms e Lombardi (1992) stimano che la placenta formata col sacco vitellino si sia evoluta in maniera indipendente 11-20 volte nella sottoclasse degli elasmobranchi. Ciò ha portato ad una grande varietà nella struttura placentare. Dopo l'ovulazione, le specie placentate subiscono un periodo di dipendenza riserve tuorlo che possono durare per diverse settimane o mesi prima che la placenta si formi.

2.1 ANATOMIA DI BASE

2.1.1 Maschi

Il sistema riproduttivo maschile è composto dai testicoli, dai dotti genitali (dotto efferente, epididimo, dotto deferente e vescicole seminali), da ghiandole accessorie e organi sessuali secondari (Hamlett, 1999), (Fig. 2).

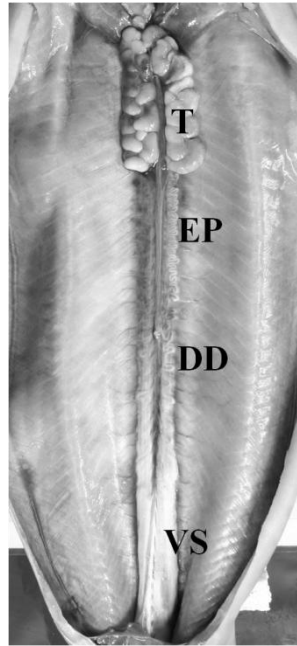


Figura 2. Apparato riproduttore maschile dello squaliforme *Centrophorus granulosus*. DD- dotto deferente, EP- epididimo, T- testicolo, VS- vescicola seminale.

I testicoli sono strutture appaiate sostenute da un mesorchio e, in alcune specie, avvolte dall'organo epigonale. Una sorta di zona pre-germinale percorre il testicolo ed è l'origine del processo spermatogenico. I testicoli sono il luogo dove avviene la spermatogenesi e giocano anche un ruolo fondamentale nella formazione degli ormoni steroidei. Pratt (1988) ha individuato tre tipi di testicoli negli elasmobranchi: radiali, diametrali e composti, definiti da come si originano e propagano i follicoli seminiferi. L'epididimo è collegato al testicolo tramite il dotto efferente, tubuli sottili che attraversano il mesorchio lungo il bordo anteriore del testicolo. Gli spermatozoi maturi sono emessi dal testicolo attraverso questo dotto (Wourms, 1977). I condotti efferenti uniscono l'epididimo, che si espande a formare un lungo tubo con circonvoluzioni complesse. L'epididimo prosegue con la sezione successiva del condotto genitale: il dotto deferente o dotto di Wolff e che prosegue a sua volta con le vescicole o ampolle (dotto deferente seminale). Il dotto deferente e le vescicole seminali sono utilizzate come aree di stoccaggio per i prodotti seminali e in alcune specie gli spermatozoi sono impacchettati in spermatofore (Wourms, 1977). L'uretere si intreccia con la porzione

terminale della vescicola seminale ed entrambi terminano nella parete anteriore del seno urogenitale. Quest'ultimo sbocca in una cloaca comune mediante un'unica grande papilla. Sono inoltre presenti due ghiandole accessorie: le ghiandole di Leydig e la ghiandola alcalina. Le prime sono una serie di ghiandole tubolari ramificate che secernono il liquido seminale nell'epididimo e nel dotto deferente. Invece la ghiandola alcalina, nei batoidei, può essere coinvolta nella protezione dello sperma (Hamlett, 1999). Gli organi sessuali secondari includono gli pterigopodi e le sacche sifonali associate. Gli pterigopodi sono appendici modificate che originano dalla pinna pelvica e che agiscono come organi copulatori per trasferire lo sperma e la matrice seminale dal maschio alla femmina. Tutti gli elasmobranchi possiedono una fecondazione interna e due pterigopodi che variano da specie a specie. Questi organi presentano una scanalatura longitudinale-dorsale attraverso la quale lo sperma passa alla femmina durante l'accoppiamento. Gli pterigopodi consistono di due elementi intermedi noti come cartilagini articolari e beta-cartilagini che si estendono verso il basso dal metapterigio della pinna pelvica (il ramo principale della cartilagine al quale le due cartilagini marginali sono fuse), e da quattro rami terminali cartilaginei: l'artiglio, il rhipidion, il distale-basale e lo sperone. Le due cartilagini marginali contribuiscono a formare la crescita dello pterigopodio con l'apertura terminale, ed un'apertura anterodorsale (Compagno, 1988).

La maggior parte degli Elasmobranchi di sesso maschile sono in possesso delle sacche del sifone (muscoli sottocutanei), situate su ciascun lato della linea mediana tra la pelle e la muscolatura del ventre. Ogni sacco termina anteriormente alla cieca e si apre nello pterigopodio posteriormente (Gilbert e Heath, 1972). Questi ultimi hanno esaminato la struttura e la funzione delle sacche sifonali negli spinaroli, *Squalus acanthias* e *Mustelus canis*, ed hanno stabilito che la funzione della sacche è quella di trattenere l'acqua di mare, che viene poi utilizzata per eliminare gli spermatozoi dalla scanalatura degli pterigopodi, per poterli inserire nell'ovidotto della femmina.

2.1.2 Femmine

Il sistema riproduttivo femminile è composto da uno o due ovari e una coppia di ovidotti che si differenziano ciascuno in un *ostium*, un ovidotto anteriore, una ghiandola oviducale, un istmo (Fig. 3).

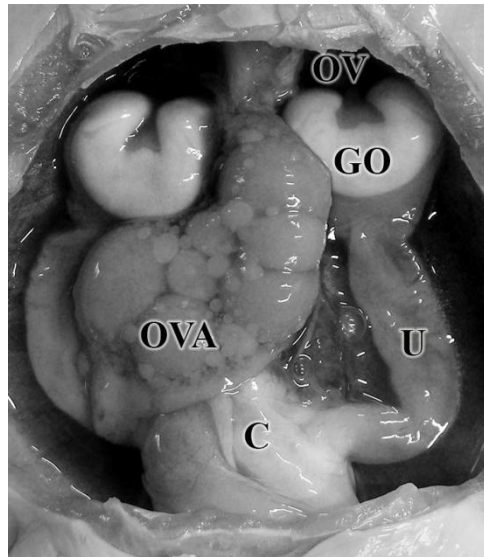


Figura 3. Apparato riproduttore femminile di *R. miraletus*. C-cervice, GO-ghiandola oviducale, OV-ovidotto anteriore, OVA-ovario, U-utero.

L'ovario e gli ovidotti sono in stretta associazione, ma non sono due strutture continue. In molti individui adulti, il tratto riproduttivo, che in genere è composto da una coppia di ovari e da due ovidotti, può diventare asimmetrico. In molti squaliformi l'unico ovario che si sviluppa pienamente è quello destro, mentre in molte specie di razze sia l'ovario che l'ovidotto destri possono avere dimensioni ridotte. Sembra non esserci comunque alcuna correlazione tra le modalità di riproduzione e la simmetria degli ovari.

Le ovaie sono attaccate alla parete del corpo tramite un mesovario (Wourms, 1977). Pratt (1988) descrisse due tipi di ovaie: un tipo, trovato nei Lamniformes, in cui l'ovaia era cava e contenuta all'interno dell'organo epigonale, e l'altro, trovato in altre specie elasmobranchi, più esterno e sostenuto dalla superficie piana dell'organo epigonale o sospeso direttamente nel mesovario. Le funzioni degli ovari sono essenzialmente quelle di generare le cellule germinali, acquisire e accumulare il tuorlo e bio-sintetizzare e secernere gli ormoni. Essi sono costituiti da ovociti, follicoli in via di sviluppo e uno stroma di tessuto connettivo lasso. L'organo epigonale è presente nella maggior parte delle specie e supporta gli ovari. L'ostio è l'apertura a forma di imbuto anteriore dell'ovidotto che ha la funzione di raccogliere le uova una volta mature. La ghiandola oviducale è una porzione specializzata dell'ovidotto dove vengono prodotti i vari strati protettivi dell'uovo, la capsula ovigera o la candela a seconda

che la specie sia, rispettivamente, ovipara o vivipara, ed è il luogo dove la fecondazione può avvenire, anche se può verificarsi nell'ovidotto superiore, ed è occasionalmente utilizzata come sito di stoccaggio degli spermatozoi (Hamlett *et al*, 1998). L'istmo si può rinvenire poco prima dell'ampliamento dell'ovidotto tra la ghiandola oviducale e l'utero e può funzionare per isolare il contenuto di quest'ultimo. L'utero, nelle specie ovipare, è specializzato per la formazione delle capsule e fornisce modifiche strutturali per il movimento della capsula attraverso il lume stesso (Koob e Hamlett, 1998). Nelle specie vivipare, esso è molto sviluppato e modificato per la preservazione delle uova e degli embrioni in via di sviluppo. Subito dopo l'utero si trova la cervice collegata a sua volta al seno urogenitale ed è costretta in questo settore. Gli uteri aderiscono separatamente al seno urogenitale (Hamlett e Koob, 1999).

2.2 LO STUDIO DELLA RIPRODUZIONE APPLICATO ALLA PESCA SCIENTIFICA.

La valutazione delle popolazioni delle specie di Condrotti richiede diversi approcci sullo studio della riproduzione. La stima dei tassi riproduttivi insieme a quelli di mortalità sono un requisito fondamentale per valutare lo stock assessment di quelle specie catturate dalla pesca e per la valutazione dei rischi ecologici delle specie che rappresentano la frazione del “by-catch” (Walker, 2004). La demografia delle specie è basata su semplici modelli utili per costruire tabelle di vita dai dati derivanti da parametri riproduttivi e di mortalità o su modelli di età che utilizzano le matrici di Leslie. Lo stock assessment delle specie investigate per la gestione della pesca richiede un modello più complesso basato sulla raccolta di dati per conto di meccanismi densità-dipendenti in modo da gestire correttamente una popolazione (Wood *et al.*, 1979; Walker, 1992), la crescita somatica e i trend di abbondanza, e un data-history delle catture effettuate dalla pesca (Punt e Walker, 1998).

Tutti questi tipi di valutazione, indipendentemente dai modelli di complessità, richiedono gli stessi parametri specifici che sono rappresentati dalle tre componenti chiave, proprie della riproduzione. La prima di queste componenti è la rilevazione della sex-ratio alla nascita, che può essere determinata contando il numero di embrioni di ogni sesso. La seconda componente è data dalle relazione che intercorre tra il numero annuale della prole e l'età o la taglia degli animali, ed è determinata dall'età o taglia di un campione di femmine mature e dal numero della rispettiva prole generata. La terza componente è data dalla relazione della proporzione delle femmine che contribuiscono all'annuale reclutamento dei giovanili e dalla loro età o taglia (ogiva maturativa). Questa componente ha una determinazione molto complessa e richiede informazioni riguardanti la periodicità del ciclo ovarico e di quello gestazionale, oltre ad altri indici riproduttivi e di maturità, prima di determinare l'ogiva maturativa (Walker, 2005). Una quarta componente è richiesta nella gestione di questa risorsa ed è espressa in termini di biomassa degli esemplari maturi. E' chiaro che tutti questi modelli dipendono strettamente da una corretta definizione del termine maturità (Walker, 2005).

Una componente che non va assolutamente sottovalutata è quella della determinazione di tutti i parametri riproduttivi separatamente per maschi e femmine, viste le differenze nei tassi di crescita e nelle taglie raggiunte, rispettivamente, da questi ultimi.

I Condrotti sono anche rinomati, come sappiamo, dall'aver una vasta gamma di strategie riproduttive. La diversità delle modalità riproduttive tra le specie o tra le diverse popolazioni appartenenti ad una stessa specie, sono essenziali per comprendere il periodo di deposizione. Un altro fattore certamente importante da valutare è quello di stabilire i tempi di ovulazione e

gestazione che in molte specie avvengono durante tutto l'anno, in altre invece sono anche biennali o addirittura triennali e a volte possono verificarsi insieme (sincroni) o separatamente (asincroni).

Per meglio comprendere la complessità delle strategie riproduttive che caratterizzano questo grande gruppo di animali, l'analisi di caratteri sessuali secondari, quale per esempio la ghiandola oviducale, risulta essere utile per una miglior comprensione delle stesse.

MATURITÀ

Il significato del termine "maturità" nella letteratura recente spazia dal periodo in cui le gonadi di un individuo iniziano a maturare a quello in cui un esemplare di sesso femminile partorisce (Conrath, 2005). Dal momento che in molte specie il periodo tra l'inizio del processo di maturazione fino al parto o deposizione può durare anche degli anni, un animale maturo sarà definito come uno che è in grado di accoppiarsi e produrre progenie vitale o uno che lo ha già fatto. Pertanto, come suggerito da Conrath (2005), devono essere considerati maturi gli esemplari che hanno già compiuto almeno un ciclo riproduttivo o abbiano completamente sviluppati sia i gameti che tutte le strutture secondarie necessarie per l'accoppiamento e garantire perciò la fecondazione.

Per gli elasmobranchi di sesso maschile il successo riproduttivo è garantito da pterigopodi pienamente sviluppati e spermatozoi maturi pronti per essere trasportati nelle appendici della femmina. Perciò, la maturità maschile può essere valutata determinando se gli organi copulatori sono calcificati e se gli spermatozoi si trovano all'interno delle vescicole seminali del tratto riproduttivo. Clark e Von Schmidt (1965) considerarono maturi quei maschi che presentavano gli pterigopodi calcificati. Tuttavia, la sola valutazione dello sviluppo delle appendici sessuali può non fornire una corretta valutazione della maturità. Infatti, anni dopo, Pratt (1979), in uno studio sulla riproduzione della verdesca *Prionace glauca*, dichiarò che molti squali che mostravano pterigopodi calcificati e che sembravano maturi, in realtà non presentavano aggregazioni di sperma e avevano dotti deferenti poco sviluppati e perciò si mostravano chiaramente ancora immaturi. Perciò pensò che il modo più corretto di attribuire la maturità fosse quello di rilevare la presenza o l'assenza di spermatozoi nelle ampole dei dotti deferenti (vescicole seminali). Anni dopo però, Pratt e Tanaka (1994) affermarono che maschi maturi in una fase di riposo non presentavano spermatozoi nelle ampole del tratto riproduttivo, ma che le dimensioni e la forma di queste ultime dovrebbero essere un buon indicatore di maturità. Perciò, anche in questo caso, la sola valutazione della maturità in base alla presenza di spermatozoi nel tratto riproduttivo, si rivelò essere imprecisa. Clark e Von

Schmidt (1965) ritrovarono che gli individui di almeno due specie (lo squalo pinna nera *Carcharhinus limbatus* e lo squalo tigre *Galeocerdo cuvier*) possedevano spermatozoi maturi nelle vescicole seminali nonostante gli pterigopodi non fossero ancora completamente sviluppati. Quindi l'approccio migliore per determinare la maturità negli elasmobranchi di sesso maschile dovrebbero essere il risultato di una combinazione tra la valutazione della calcificazione degli organi copulatori e una conferma (possibilmente istologica) che determini se gli spermatozoi maturi siano presenti sia nelle gonadi che all'interno delle vescicole seminali del tratto riproduttivo e determinare se queste ultime risultino essere ingrossate a causa di un evento riproduttivo precedente.

Gli esemplari femminili sono considerati maturi se vi è un evidente stato di gravidanza in corso o precedente o che sono pronte per riprodursi. In questo caso la maturità può essere determinata valutando la condizione maturativa degli ovuli presenti nelle ovaie e le dimensioni della ghiandola oviducale e dell'ovidotto. Femmine mature avranno follicoli vitellogenici ricchi di tuorlo e ghiandole ben sviluppate. Le femmine che hanno già compiuto almeno un ciclo riproduttivo avranno un ovidotto esteso contenente ghiandole oviducali ben formate e uteri ben sviluppati. La maturità femminile può quindi essere determinata valutando la condizione del tratto riproduttivo e rilevando la presenza o l'assenza di ovuli ben sviluppati nelle ovaie, capsule o embrioni all'interno del tratto riproduttivo, e ovidotti sviluppati. Bass *et al.* (1973) definirono maturi quegli esemplari di sesso femminile che mostravano ovuli distinti nelle ovaie e uteri ben sviluppati. Nei casi dubbi la presenza o l'assenza di un imene (una piega trasversale circolare che separa la vagina dalla cloaca) intatto venne utilizzato per mostrare se la femmina erano ancora in via di maturazione o avevano già affrontato una gravidanza. La valutazione del tratto riproduttivo è stata utilizzata per determinare la maturità negli squali grigi (*Carcharhinus plumbeus*) e negli spinaroli (Springer, 1960; Jones e Geen, 1977). In molti studi venne identificata una fase di maturazione intermedia. Durante questa fase l'ovidotto inizia ad espandersi o gli ovuli all'interno dell'ovaio cominciano a presentare lo stato di vitellogenesi, nonostante le ghiandole oviducali e gli uteri non siano ancora completamente sviluppati. Anche in questo caso, una corretta valutazione macroscopica e istologica del tratto riproduttivo risulta essere determinante nella corretta attribuzione della maturità sessuale, come peraltro detto precedentemente per gli esemplari di sesso maschile.

Determinare la taglia di prima maturità sessuale

Assegnare un corretto stadio di maturità sessuale è determinante per poter calcolare la taglia di prima maturità. Questi parametri riproduttivi sono di solito determinati anche da un'analisi della crescita degli organi riproduttivi secondari che ci permettono di quantificare più correttamente la percentuale di animali maturi a cui corrispondono determinate misure di lunghezza o gruppi di età e che ci permettono di determinare la lunghezza o l'età alla quale il 50% degli individui di una classe risulta essere maturo. La lunghezza degli pterigopodi, nei maschi, le dimensioni della ghiandola oviducale o altre strutture (es. la larghezza degli uteri) nelle femmine, sono utilizzati per valutare la taglia di prima maturità, perché esiste una correlazione nota tra lo sviluppo dei caratteri sessuali secondari, quello degli organi riproduttivi e la maturità. La lunghezza totale correlata alle misure rilevate dagli organi sessuali secondari determina la gamma delle lunghezze alla quale una popolazione è matura come chiaramente osservabile da un cambio repentino nella pendenza dei grafici (Wass, 1973; Parsons, 1981; Castro *et al.*, 1988; Yano, 1993).

L'altro metodo comunemente usato per determinare la taglia di prima maturità è quello di utilizzare un'ogiva. Questa equazione di tipo logistico ci permette di determinare la percentuale a quale lunghezza o età il 50% della popolazione è maturo (Conrath e Musick, 2002).

Il ciclo riproduttivo

Wourms (1977) definì tre tipi di cicli riproduttivi propri degli elasmobranchi:

- 1) una riproduzione continua che si svolge durante tutto l'anno,
- 2) un ciclo annuale prolungato con uno o due picchi di attività,
- 3) un ciclo annuale o biennale ben definito.

Esempi della diversa estensione dei cicli riproduttivi furono descritti da Chen *et al.* (1996) i quali trovarono, durante il corso di tutte le stagioni, femmine di gattuccio della specie *Galeus sauteri* che portavano capsule completamente formate negli uteri: questo indicava come questa specie si riproduce durante tutto l'anno senza una stagione riproduttiva ben definita. Caratteristica comune di alcuni elasmobranchi profondi, come ritrovato nel pescecane nero *Centroscyllium fabricii* (Yano, 1995). Rispetto ai due esempi precedenti, il piccolo gattuccio *Scyliorhinus canicula* sembra anch'esso avere un periodo riproduttivo annuale, ma con due picchi che si verificano durante i mesi invernali e primaverili (Sumpter e Dodd, 1979). Il palombo *Mustelus canis*, specie vivipara, mostra invece un periodo riproduttivo annuale ben

definito con una gestazione da che va da 11 a 12 mesi, subito seguito da un'ovulazione di un gruppo di uova entro un periodo che va da giorni a settimane (Conrath e Musick, 2002).

Per determinare correttamente la tempistica riproduttiva di una specie, prima e dopo l'accoppiamento, i cicli riproduttivi di maschi e femmine vengono generalmente considerati separatamente.

Il ciclo riproduttivo maschile

La tempistica del ciclo riproduttivo nei maschi è generalmente determinata utilizzando vari indici gonadici, attraverso l'esame istologico dei testicoli, o osservando la presenza e la quantità degli spermatozoi prodotti e presenti nel tratto riproduttivo durante tutto l'anno. L'indice gonado-somatico (IGS), parimenti alle altre relazioni che intercorrono, per esempio, tra lo sviluppo degli organi riproduttivi e la dimensione dell'animale, è spesso utilizzato per determinare quando i prodotti sessuali vengano generati. L'IGS, che non è altro che il peso del testicolo espresso come percentuale del peso corporeo, si rivela essere molto utile nel fornire dati sul periodo riproduttivo. Infatti, confrontando l'IGS dei maschi maturi catturati durante i vari periodi dell'anno, si può stimare il periodo nel quale dovrebbe avvenire l'accoppiamento, che si dovrebbe verificare quando l'IGS raggiunge il suo valore massimo. I valori di picco dell'IGS potrebbero però non coincidere sempre esattamente con la stagione riproduttiva; infatti i prodotti sessuali devono muoversi lungo il tratto riproduttivo prima dell'accoppiamento e quindi può accadere che lo sperma possa essere conservato nel tratto riproduttivo per un periodo di tempo. Simpfendorfer (1992) trovò che il picco dell'IGS dei maschi di *Rhizoprionodon taylori* si verificava circa un mese prima del periodo di accoppiamento effettivo. E perciò se l'IGS può dare informazioni preziose circa i tempi di produzione degli spermatozoi, bisogna essere cauti quando si usa questo dato come approssimazione di quando inizia il periodo degli accoppiamenti. Sarebbe più corretto utilizzare i dati forniti dall'IGS in combinazione con altri dati di supporto, ad esempio, la presenza e la quantità di sperma nelle porzioni inferiori del tratto riproduttivo, la presenza di prodotti sessuali nella femmina o la presenza di ferite date dal corteggiamento sulla stessa come determinato da Stevens e Wiley (1986) per due specie di squali carcarinidi.

Un metodo certamente più dettagliato e sicuro per monitorare la formazione di spermatozoi nel testicolo è dato dall'analisi delle sezioni istologiche. L'unità funzionale del testicolo è definita da Callard (1991) come "le cellule germinali associate a quelle del Sertoli e racchiuse all'interno di un'unità sferica delimitato da una membrana basale". Parsons e Grier (1992) chiamarono questo sistema unitario "spermatocisti" e definirono le fasi di sviluppo dalla zona

germinale alla zona degenerativa, che comprendono zone con spermatocisti in vari stadi di sviluppo. Parsons e Grier (1992) definirono anche sette fasi di sviluppo così come fecero Maruska *et al.* (1996). Mentre questi due lavori differiscono leggermente nella definizione delle diverse fasi di sviluppo, entrambi definiscono il processo della spermatogenesi dall'origine delle cellule germinali liberamente organizzate, a spermatogoni, spermatociti, spermatidi e spermatozoi maturi. In *Mustelus canis* la percentuale media delle sette fasi di sviluppo delle spermatocisti definite da Maruska *et al.* (1996) presenti nel testicolo, è stata misurata e confrontata durante i diversi mesi l'anno per determinare se ci fosse un andamento stagionale riconoscibile nello sviluppo del testicolo. Le sette fasi individuate sono: 1) il primo stadio comprende spermatogoni e cellule germinali non ancora impacchettate tramite una membrana basale in una spermatocisti; 2) il secondo, è simile al primo solo che gli spermatogoni e le cellule del Sertoli sono associati e delimitati da una membrana basale che formano la spermatocisti; 3) in questo stadio gli spermatogoni subiscono una mitosi e diventano spermatociti primari, che poi subire la prima divisione meiotica per diventare spermatociti secondari; 4) successivamente le spermatociti secondarie vanno incontro alla seconda divisione meiotica per diventare spermatidi; 5) questa fase è composta da spermatozoi immaturi, che possiedono una testa e una coda, ma non sono ancora organizzati in fasci; 6) durante questa tappa gli spermatozoi si organizzano in pacchetti e si dispongono a spirale lungo la parte esterna della spermatocisti.

Furono Conrath e Musick (2002) a dare la definizione della settima fase della spermatogenesi chiamata "degenerativa" e che consiste di spermatocisti vuote al cui interno sono presenti spermatogoni e spermatozoi liberi.

Il ciclo riproduttivo femminile

Nelle femmine la tempistica degli eventi riproduttivi è solitamente determinata mediante l'osservazione diretta del tratto riproduttivo, tenendo conto delle dimensioni delle uova durante tutto l'anno (ciclo di ovulazione) e tracciando le dimensioni dei cuccioli all'interno dell'utero (ciclo di gestazione). Una comparazione tra i tempi dei cicli di ovulazione e di gestazione possono aiutare a determinare l'intervallo di riposo riproduttiva. Il ciclo di ovulazione viene determinata misurando i follicoli in via di sviluppo e confrontando la loro dimensione durante l'anno. Capapé *et al.* (1990) hanno studiato due specie di squalo angelo e rilevato il diametro degli oociti e di quello delle uova presenti nell'utero per determinare la tempistica degli eventi riproduttivi. La tempistica e la durata della gestazione delle specie

vivipare è di solito determinata rilevando le dimensioni di uova ed embrioni trovati all'interno dell'utero.

La durata e la tempistica di gestazione è stata determinata confrontando il diametro e il peso delle uova uterine e degli embrioni durante tutto l'anno per la specie *Rhizoprionodon terraenovae* e per il *Mustelus canis* (Parsons, 1981; Conrath e Musick, 2002). Questo approccio può anche essere utilizzata per determinare la dimensione degli embrioni alla nascita e la relativa tempistica. Un metodo sicuramente più accurato per determinare la dimensione alla nascita e la tempistica di nascita è confrontare le dimensioni degli embrioni più grandi ritrovati all'interno dell'utero con la dimensione dei piccoli animali catturati durante l'anno. Questo approccio è stato adottato per determinare la dimensione alla nascita degli esemplari di verdesca *Prionace glauca* e del *Mustelus lenticulatus* (Pratt, 1979; Francis e Mace, 1980).

Un altro parametro di interesse per l'ecologia dei Condroitti è stimare la lunghezza del ciclo riproduttivo. Oltre ad avere diversi periodi di gestazione, molte specie di elasmobranchi hanno un periodo di riposo tra una gravidanza e l'altra che può durare fino a due anni. Per specie con un ciclo riproduttivo ben definito, la proporzione delle femmine gravide in un dato momento del ciclo, può essere usata come un'indicazione preliminare o meno delle femmine che subiscono una fase di riposo tra una gravidanza e l'altra. Se tutte, o quasi, le femmine mature sono in stato di gravidanza durante il corso dell'anno, questo può indicare che non vi è alcuna fase di riposo. Jensen *et al.* (2002) proposero un ciclo riproduttivo annuale per lo squalo smeriglio *Lamna nasus* sulla base del fatto che tutte le femmine campionate nel mese di dicembre erano gravide. Questo approccio deve essere però usato con cautela in quanto le femmine in gravidanza possono avere un modello migratorio diverso da quello delle femmine non gravide. Questo sembra essere il caso degli squali toro *Carcharias taurus* campionati da Lucifora *et al.* (2002), che scoprirono come le femmine gravide si trovavano preferibilmente in acque brasiliane mentre quelle non gravide venivano reperite in acque argentine. E perciò proposero una fase di riposo di circa un anno per questa specie.

Stabilire se una specie possiede o no un ciclo di riposo, può essere determinato verificando se i cicli di ovulazione e gestazione sono concomitanti o sequenziali. Nel *Mustelus canis* i cicli di ovulazione e di gestazione si verificano nello stesso momento, ovvero, gli ovuli si sviluppano nello stesso periodo in cui gli embrioni crescono all'interno dell'utero, con il diametro massimo degli ovuli e la lunghezza massima degli embrioni raggiunte contemporaneamente nel mese di maggio (Conrath e Musick, 2002). Gli esemplari di questa specie hanno probabilmente una breve "periodo di riposo" di giorni o al massimo di un mese.

Simpfendorfer e Unsworth (1998) rilevarono, invece, come lo squalo baffuto *Furgaleus macki* presentasse un ciclo biennale con una fase di riposo di un anno, notando la presenza di due gruppi di femmine mature, un gruppo incinta presentante follicoli ovarici non sviluppati e un altro non in stato di gravidanza con follicoli ovarici ben sviluppati. Essi proposero perciò l'idea che le femmine di squalo baffuto fossero in grado di produrre una figliata ogni anno senza alcuna fase di riposo.

FECONDITÀ

La fecondità è spesso determinata semplicemente contando il numero di uova o embrioni all'interno dell'utero delle specie vivipare. Ci sono però delle potenziali difficoltà che possono sorgere utilizzando questo metodo. Innanzitutto, in alcune specie, il numero di cuccioli che effettivamente sopravvivono alla gestazione può essere considerevolmente inferiore rispetto al numero iniziale di uova presenti nell'utero. Ciò si verifica nella specie *Urolophus lobatus*. White *et al.* (2001) determinarono che il numero medio degli embrioni prodotti diminuiva a meno della metà durante tutto il ciclo riproduttivo annuale e attribuirono questo declino a probabili aborti. Pertanto, per evitare sovrastime, sarebbe preferibile contare solo il numero di embrioni presenti nelle ultime fasi della gravidanza. Un altro problema potenziale è che gli elasmobranchi potrebbero abortire i piccoli durante lo stress causato dalla cattura. Pertanto, la conta del numero degli embrioni in utero può essere influenzata negativamente da questo fattore di cui non si può non tenere conto.

La fecondità può anche essere stimata calcolando il numero di ovuli ben sviluppati nell'ovaio, ma questo è un metodo meno affidabile. Wetherbee (1996) ha stimato la fecondità dello squalo lanterna del sud *Etmopterus granulosus* contando il numero dei follicoli vitellogenici nelle femmine mature. In alcune specie la fecondità ovarica e quella uterina sono stati ritrovati essere simili. Piccole differenze sono state invece riscontrate nelle popolazioni dello spinarolo *Squalus mitsukurii*, in due specie di squali angelo, *Squatina squatina* e *S. oculata*, e nel gattuccio *Galeorhinus galeus* (Capapé *et al.*, 1990; Peres e Vooren, 1991; Wilson e Seki, 1994). Tuttavia, in altre specie, la fecondità ovarica è notevolmente superiore a quella uterina, indicando che alcune uova in via di sviluppo verranno riassorbite. Queste differenze sono state notate per le popolazioni del *Carcharinus isodon* e del pesce chitarra comune (Abdel-Aziz, 1993; Castro, 1993). È importante ricordare che il solo utilizzo della fecondità ovarica potrebbe portare ad una sovrastima, mentre l'utilizzo di quella uterina potrebbe, al contrario, portare a una sottostima.

Determinare la fecondità nelle specie ovipare è più difficile. La fecondità, come accennato in precedenza, può essere stimata contando il numero di uova in vitellogenesi presenti nelle ovaie. Ma molte specie ovipare hanno un periodo di riproduzione esteso con uova che continuano a svilupparsi durante tutto l'anno e per cui, questo approccio potrebbe portare ad una sottovalutazione delle uova prodotte. Un metodo per stimare la fecondità nelle specie ovipare è quello di determinare il tasso di ovulazione e la durata del periodo di deposizione e di utilizzare tali valori per calcolare il numero di uova deposte dalla femmina durante il suddetto periodo. Molte stime sulla fecondità e la frequenza di deposizione delle uova sono state determinate per animali tenuti in cattività. Esemplari di gattuccio catena *Scyliorhinus retifer*, di *S. canicula* e di *Raja clavata*, sono stati tenuti in cattività per determinare i tassi di ovulazione e periodi di deposizione delle uova. La fecondità annuale stimata per queste specie variava da 20 a 140 uova all'anno con tassi di deposizione (a coppie di uova) che variano da ogni due giorni per la razza chiodata, ad ogni 15,3 giorni per il gattuccio comune (Holden, 1975; Mellinger, 1983; Castro *et al.*, 1988; Ellis e Shackley, 1995).

In molte specie di elasmobranchi esiste una correlazione positiva tra fecondità e le dimensioni corporee delle femmine. Presumibilmente, più una femmina si accresce, più avrà una cavità corporea capiente in modo da poter accogliere lo sviluppo della prole. Relazioni lineari positive sono state riscontrate in molte specie di squali comprese le popolazioni di squalo martello *Sphyrna lewini*, gli spinaroli e i gattucci (Chen *et al.*, 1988; Hanchet, 1988; Peres e Vooren, 1991).

ANALISI DI CARATTERI SESSUALI SECONDARI: GHIANDOLA OVIDUCALE E CONSERVAZIONE DEGLI SPERMATOZOI.

L'analisi delle strutture sessuali secondarie è certamente un metodo molto utile per amplificare le conoscenze sulle strategie riproduttive degli elasmobranchi. In particolare, la comprensione della struttura e della funzione svolta dalla ghiandola oviducale, principale responsabile non solo della protezione delle uova in ovipari e vivipari mediante la formazione di involucri primari, secondari e terziari (capsula e candela), nonché possibile sito di conservazione degli spermatozoi, ci può dare informazioni sia sulla differente struttura e composizione delle capsule ovigere, ad esempio, che sulle diverse modalità di sopperire a delle difficoltà legate all'impossibilità di accoppiarsi in ogni momento Hamlett *et al.* (1998). La conservazione dello sperma, meglio nota come "sperm-storage", è stata suggerita per la prima da Lo Bianco (1909) che aveva notato come esemplari di sesso femminile del genere *Raja* tenuti in cattività negli acquari e separati da lungo tempo dai loro conspecifici di sesso

maschile, continuavano a deporre le capsule ovigere. Il sito di stoccaggio degli spermatozoi si rivelò essere la ghiandola oviducale, come dimostrato da Pratt (1993), che condusse uno studio su nove specie di squali nell'Atlantico Nord-occidentale. Egli propose tre tipi di fecondazione: 1) una immediatamente dopo l'evento dell'accoppiamento senza la conservazione degli spermatozoi, 2) una conservazione a breve termine degli stessi in specie in cui l'ovulazione è prolungata per lunghi periodi, e 3) una conservazione a lungo termine per poter ripetere la fecondazione nel tempo.

Lo sperm-storage si presume che si verifichi in specie dove non c'è una sincronizzazione immediata tra l'accoppiamento e l'ovulazione ed è stato proposto per diverse specie di elasmobranchi sia ovipari che vivipari. La conservazione dello sperma può essere studiata attraverso l'esame istologico della ghiandola oviducale. Hamlett *et al.* (1998) descrissero e diedero un nome alle quattro zone fondamentali che costituiscono la ghiandola oviducale degli elasmobranchi, basata sulla morfologia dell'epitelio: la zona prossimale detta club, seguita dalla papillary, dalla baffle e dalla terminal. Gli strati gelatinosi che circondano l'uovo sono prodotti dalla club e dalla papillary mentre il terzo involucro che ricopre l'uovo fecondato (capsula o candela) viene prodotto nella baffle zone (Hamlett e Koob, 1999). Pratt (1993) trovò che la maggior parte spermatozoi vengono di solito conservati nei tubuli della zona inferiore della ghiandola oviducale. Questi sono stati successivamente identificati da Hamlett *et al.* (1998) come i tubuli della terminal zone. Hamlett *et al.* (2002) notarono la presenza di spermatozoi impacchettati, durante la gestazione, nella zona terminale della ghiandola oviducale del *Mustelus canis*. Studi condotti successivamente, hanno confermato sostanzialmente che gli spermatozoi, impacchettati o no, si ritrovano o nella baffle zone o nella terminal, o in entrambe, sia in specie ovipare (Metten, 1939; Knight *et al.*, 1996; Hamlett *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2004; Galindez *et al.*, 2010; Serra-Pereira *et al.*, 2011) che vivipare (Pratt, 1993; Manire *et al.*, 1995; Fishelson e Baranes, 1998; Hamlett *et al.*, 1998; Conrath e Musick, 2002; Storrie *et al.*, 2008; Moura *et al.*, 2011; Farrell *et al.*, 2014; Porcu *et al.*, 2014).

CAPITOLO 3

MATERIALI E METODI

3.1 Campionamenti

In questa tesi vengono analizzati gli esemplari delle specie di Condroitti che abitano i mari di Sardegna e che sono stati reperiti finora dalla pesca a strascico demersale. Gli individui sono stati campionati principalmente durante il progetto internazionale MEDITS (Mediterranean Trawl Survey) (Bertrand *et al*, 2000) che coinvolge i principali stati che si affacciano sul Mar Mediterraneo e al quale la regione Sardegna partecipa come unità operativa, denominata GSA 11 (Fig. 4).

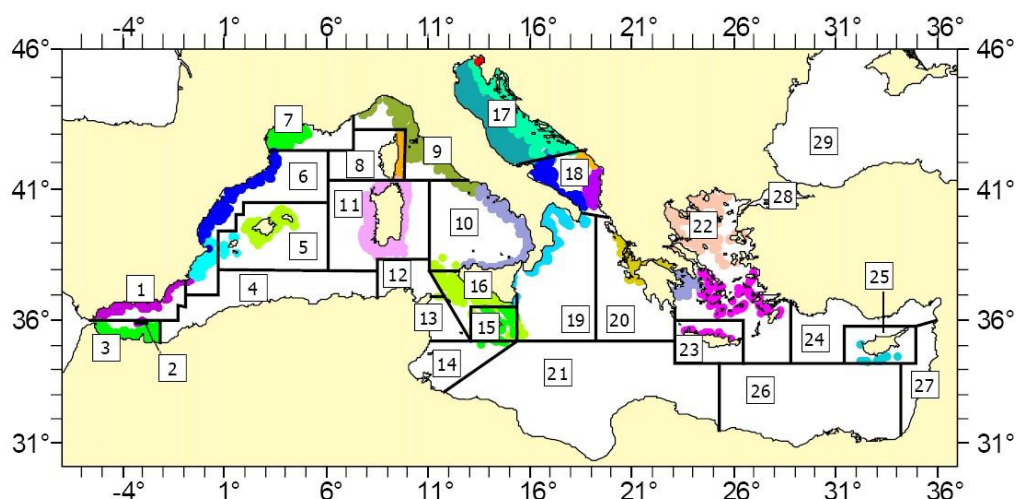


Figura 4. In questa cartina sono visibili gli Stati che si affacciano sul Mar Mediterraneo e che prendono parte al progetto internazionale MEDITS.

La Sardegna è una delle aree più interessanti del Mediterraneo centro-occidentale non solo per la sua posizione ma anche per le caratteristiche geomorfologiche dei fondali marini. La superficie totale dell'area stimata è di circa 27000 km² di cui circa 23700 km² (con profondità comprese tra 0-800 m) potenzialmente strascicabili, ma la loro dislocazione lungo le coste non è omogenea, sia dal punto di vista dell'estensione che per quanto riguarda le caratteristiche geomorfologiche e bionomiche. Infatti le superfici strascicabili a Sud-Ovest ed Ovest della Sardegna sono notevolmente più estese di quelle orientali. Nella parte orientale del Golfo di Cagliari e lungo le coste orientali, la piattaforma e la scarpata continentale

rappresentano la continuazione della particolare conformazione orografica dell'entroterra: strette insenature, intervallate da alte e ripide montagne, corrispondono, ad eccezione di alcuni tratti, ad una platea continentale pressoché inesistente e a fondi irregolari, intervallati, nella scarpata, da rapidi canyons sottomarini. Nella costa occidentale e nella parte sud-occidentale, invece, la platea risulta essere molto più estesa con un pendio poco marcato al quale segue una scarpata continentale leggermente inclinata.

Per questi motivi e per evitare l'addensamento in zone ristrette, ai fini di uno studio uniforme dell'area, i mari circostanti la Sardegna sono stati suddivisi in sette zone numerate in senso antiorario: la prima e la seconda nella costa orientale, la terza nella costa settentrionale, la quarta, la quinta e la sesta nella costa occidentale e la settima nella zona meridionale (Cau *et al.*, 1994). Ciascuna zona è a sua volta suddivisa in 5 strati batimetrici (10 - 50 m; 51 - 100 m; 101 - 200 m; 201 - 500 m; 501 - 800 m) come previsto dal protocollo MEDITS (Fig. 5).

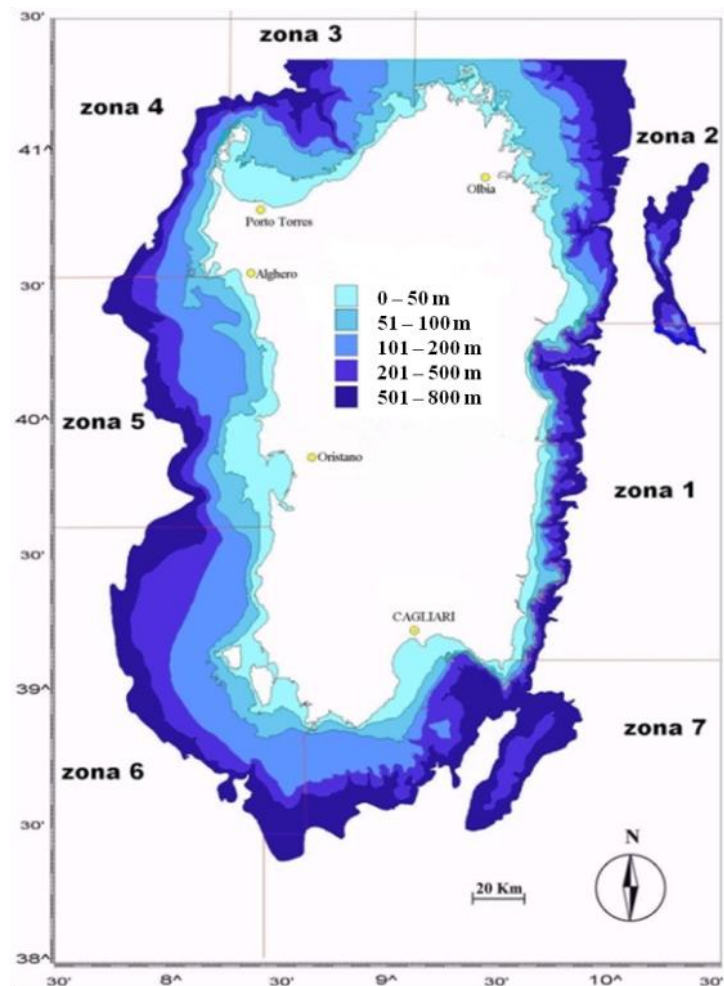


Figura 5. Suddivisione delle aree strascicabili circostanti la Sardegna suddivise nelle 7 zone e nei 5 strati batimetrici.

Dal 1994 al 2013, questo progetto di pesca scientifica incentra l'attività nel periodo primaverile-estivo (Maggio-Agosto). Le cale sono posizionate secondo uno schema di campionamento a profondità stratificate con estrazione casuale della posizione delle cale all'interno di ogni strato. Le seguenti profondità sono fissate in tutte le aree come limiti dei cinque strati batimetrici precedentemente citati.

Per ogni anno e per ciascuno strato batimetrico e per ognuna delle 7 zone, è stata calcolata la percentuale di frequenza (occurrence) di ciascuna delle specie catturate usando la seguente formula:

$$F\% = \frac{N \text{ cale positive} * 100}{N \text{ cale totali}}$$

Inoltre sono stati calcolati anche i principali indici di abbondanza: l'indice di biomassa (IB) e l'indice di densità (ID) considerando i macro-strati batimetrici 10-800 m (totale), 10-200 m (platea continentale) e 200-800 m (scarpata continentale):

$$IB = \frac{Kg}{Km^2}; ID = \frac{N}{Km^2}$$

Differenze statisticamente significative sono state indagate tramite il test di Spearman (Zar, 1999).

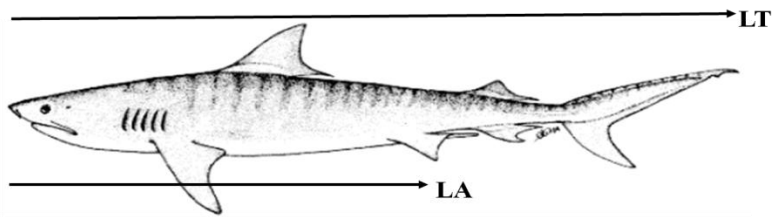
Per poter offrire un quadro più completo del periodo riproduttivo delle specie 6 specie scelta per le analisi (*Dipturus oxyrinchus*, *Etmopterus spinax*, *Galeus melastomus*, *Raja brachyura*, *R. miraletus* e *Squalus blainville*) i dati MEDITS sono stati integrati con quelli provenienti dalla campagna di pesca a strascico autunnale GRUND (Gruppo Nazionale Demersali) e da cale commerciali CampBiol (Campionamento biologico delle catture commerciali; Data Collection Framework, Regolamento CE 199/2008) e di pesca profonda (PSP) in modo da ricoprire tutte le stagioni dell'anno, fino alla profondità massima di 1600 m.

Per ogni individuo sono state rilevate le seguenti biometrie, registrate in centimetri:

Squaliformi: lunghezza totale (LT), lunghezza all'ano (LA) (Fig. 6)

Batoidei: lunghezza totale (LT), lunghezza alla prima pinna dorsale (L1D), lunghezza del disco (LD), larghezza del disco (LAD), lunghezza all'ano (LA) (Fig. 6).

Misure squaliformi



Misure batoidei

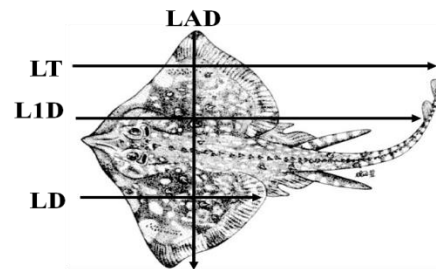


Figura 6. Principali biometrie rilevate per gli squaliformi e i batoidei.

Inoltre, per entrambe le sottoclassi, sono state rilevate, in millimetri, la lunghezza degli pterigopodi (LP) nei maschi e la larghezza della ghiandola oviducale (LGO) nelle femmine.

Il peso totale (PT), il peso delle gonadi (PG) e del fegato (PF) sono stati, invece, registrati in grammi.

I campioni sono stati sessati e gli stadi maturativi sono stati determinati seguendo le scale specifiche per elasmobranchi vivipari e ovipari stilate nel manuale MEDITS (2013) (Tab. 1 e 2) e che sono in accordo con le scale di maturità adottate precedentemente durante i workshop internazionali dell'ICES (2010, 2012). Gli individui sono stati fotografati utilizzando una fotocamera Sony Cyber-shot DSC-HX200V.

Tabella 1. Scala di maturità proposta per squaliformi e batoidei vivipari.

FEMMINE			MASCHI		
Stadio 1	IMMATURO Immaturato	Ovari: piccoli e biancastri. Follicoli ovarici indistinguibili. Ghiandola oviducale: spesso non è visibile. In alcune specie un ispessimento della cervice in cui la ghiandola svilupperà può essere visibile. Uteri: filiformi e stretti.	Stadio 1	IMMATURO Immaturato	Pterigopodi: flessibili, non calcificati e più corti delle pinne pelviche. Testicoli: piccoli e non sviluppati (nelle razze, a volte con lobuli visibili). Dotti: filiformi.
Stadio 2	IN SVILUPPO Immaturato	Ovari: follicoli in diversi stadi di sviluppo. Alcuni follicoli vitellogenici di piccole e medie dimensioni possono essere presenti. Ghiandola oviducale: distinguibili e in via di sviluppo. Uteri: allargati.	Stadio 2	IN SVILUPPO Immaturato	Pterigopodi: flessibili, parzialmente calcificate e di solito lunghi quanto o poco più delle pinne pelviche. Testicoli: in sviluppo (nelle razze i lobuli sono chiaramente visibili ma non completamente sviluppati). Dotti: sviluppati. Iniziano a spiralizzarsi.
Stadio 3a	CAPACE DI RIPRODURSI Maturo	Ovari: presenza di grandi follicoli vitello genici. Ghiandola oviducale: completamente sviluppata. Uteri: completamente sviluppati.	Stadio 3a	CAPACE DI RIPRODURSI Maturo	Pterigopodi: rigidi, completamente calcificati, e più lunghi delle pinne pelviche (in alcuni squali possono essere lunghi quanto le pinne pelviche). Testicoli: in pieno sviluppo (nelle razze, con lobuli completamente formati). Dotti: ben spiralizzati e pieni di sperma.
Stadio 3b	INIZIO GRAVIDANZA Maternità	Uteri: pieni e arrotondati contenenti tuorlo (formazione delle candele). Gli embrioni non possono ancora essere osservati.	Stadio 3b	ATTIVO Maturo	Pterigopodi: simili allo stadio precedente, ma con vescicole dilatate, a volte gonfie e rossastre. Lo sperma può essere presente nelle scanalature degli pterigopodi. Testicoli: simili allo stadio precedente. Dotti: spermatozoi osservati all'interno (dopo un taglio) o che scorrono sotto pressione nella cloaca.
Stadio 3c	MEDIA GRAVIDANZA Maternità	Uteri: ben pieni e arrotondati. Embrioni in sviluppo dotati di un sacco vitellino relativamente grande.	Stadio 4	IN REGRESSIONE Maturo	Pterigopodi: completamente formato, simile agli stadi precedenti. Testicoli: rattrappiti e flaccidi, (nelle razze i lobuli sono poco visibili). Lo sperma sotto pressione non scorre. Dotti: vuoti e flaccidi.
Stadio 3d	TARDA GRAVIDANZA Maternità	Uteri: embrioni completamente formati. sacco vitellino ridotto o assente.			
Stadio 4a	POST-PARTO Maternità	Ovari: rimpiccioliti. Assenza follicoli in sviluppo e presenza di quelli atresici Uteri: allargati e flaccidi.			
Stadio 4b	IN RIGENERAZIONE Maturo	Ovari: grandi con follicoli vitellogenici. Follicoli pre-ovulatori assenti. Ghiandola oviducale: sviluppata, ma può essere di dimensioni ridotte. Uteri: allargati.			

Tabella 2. Scala di maturità proposta per squaliformi e batoidei ovipari.

FEMMINE			MASCHI		
Stadio 1	IMMATURO Immaturato	Ovari: piccoli e biancastri. Follicoli ovarici indistinguibili. Ghiandola oviducale: spesso non è visibile. In alcune specie un ispessimento della cervice in cui la ghiandola svilupperà può essere visibile. Uteri: filiformi e stretti.	Stadio 1	IMMATURO Immaturato	Pterigopodi: flessibili, non calcificati e più corti delle pinne pelviche. Testicoli: piccoli e non sviluppati (nelle razze, a volte con lobuli visibili). Dotti: filiformi.
Stadio 2	IN SVILUPPO Immaturato	Ovari: follicoli in diversi stadi di sviluppo. Alcuni follicoli vitellogenici di piccole e medie dimensioni possono essere presenti. Ghiandola oviducale: distinguibili e in via di sviluppo. Uteri: allargati.	Stadio 2	IN SVILUPPO Immaturato	Pterigopodi: flessibili, parzialmente calcificate e di solito lunghi quanto o poco più delle pinne pelviche. Testicoli: in sviluppo (nelle razze i lobuli sono chiaramente visibili ma non completamente sviluppati). Dotti: sviluppati. Iniziano a spiralizzarsi.
Stadio 3a	CAPACE DI RIPRODURSI Maturo	Ovari: presenza di grandi follicoli vitello genici. Ghiandola oviducale: completamente sviluppata Uteri: completamente sviluppati.	Stadio 3a	CAPACE DI RIPRODURSI Maturo	Pterigopodi: rigidi, completamente calcificati, e più lunghi delle pinne pelviche (in alcuni squali possono essere lunghi quanto le pinne pelviche). Testicoli: in pieno sviluppo (nelle razze, con lobuli completamente formati). Dotti: ben spiralizzati e pieni di sperma.
Stadio 3b	IN DEPOSIZIONE Maturo	Uteri: presenza di capsule ovariche.	Stadio 3b	ATTIVO Maturo	Pterigopodi: simili allo stadio precedente, ma con vescicole dilatate, a volte gonfie e rossastre. Lo sperma può essere presente nelle scanalature degli pterigopodi. Testicoli: simili allo stadio precedente. Dotti: spermatozoi osservati all'interno (dopo un taglio) o che scorrono sotto pressione nella cloaca.
Stadio 4a	IN REGRESSIONE Maturo	Ovari: flaccidi con pochi follicoli di varie dimensioni. Pochi grandi follicoli vitello genici. Follicoli atresici possono essere visibili. Ghiandola oviducale: sviluppata, ma può essere di dimensioni ridotte. Uteri: ampliati e flaccidi.	Stadio 4	IN REGRESSIONE Maturo	Pterigopodi: completamente formato, simile agli stadi precedenti. Testicoli: rattrappiti e flaccidi, (nelle razze i lobuli sono poco visibili). Lo sperma sotto pressione non scorre. Dotti: vuoti e flaccidi.
Stadio 4b	IN RIGENERAZIONE Maturo	Ovari: grandi con follicoli vitellogenici. Follicoli pre-ovulatori assenti. Ghiandola oviducale: sviluppata, ma può essere di dimensioni ridotte. Uteri: allargati.			

3.2 Procedure istologiche

Per le specie analizzate, di un sub-campione di 10 esemplari per ogni stadio maturativo, sono state prelevate sezioni trasversali di gonadi femminili e maschili; le ghiandole oviducali, invece, sono state rimosse per intero e tagliate lungo il centro dall'ovidotto all'utero, in modo da fornire un pezzo di tessuto che rappresenta il piano sagittale. I tessuti sono stati fissati in formaldeide tamponata al 5% (0.1 M pH 7.4) e disidratati progressivamente tramite una scala di etanolo a concentrazioni sempre maggiori (70-100%), inclusi in resina sintetica (GMA, Technovit 7100, Bio-Optica) e sezionati a 3.5 micron utilizzando un microtomo rotativo (LKB, Historange).

Successivamente i tessuti sono stati colorati con diverse tecniche di colorazione seguendo il protocollo di colorazione proposto per sezioni di tessuto inclusi in resina glicol-metacrilata da Cerri e Sasso-Cerri (2003):

- (1) ematossilina Gill e eosina alcolica (H&E) per analizzare la struttura istologica delle gonadi e delle ghiandole oviducali;
- (2) acido periodico di Schiff (PAS) e Alcian blu (AB 8GX, pH 2,5) combinati o separatamente, per indagare la natura chimica delle secrezioni prodotte dalle diverse zone ghiandolari della ghiandola oviducale. Questa tecnica è utile per rilevare la presenza di glicogeno, sialomucine neutre e glicoproteine (PAS+ colora con diverse sfumature di magenta); la tecnica AB permette di evidenziare mucine acide come solfomucine e sialomucine (reazione AB+ di colore blu); la combinazione PAS/AB colora in varie tonalità di viola.

Le sezioni sono state poi disidratate rapidamente in una scala ascendente di etanolo (95-100%), chiarificate in Histolemon e montate in Eukitt. I vetrini così allestiti sono stati osservati al microscopio ottico (Zeiss Axioskop) con ingrandimenti totali compresi tra 40 e 400 x e fotografati con una fotocamera digitale (Canon PowerShot G2).

Per le specie prese in esame, le caratteristiche macroscopiche e microscopiche del sistema riproduttivo maschile e femminile durante le diverse fasi maturative sono state accuratamente descritte e i follicoli ovarici e le diverse fasi di sviluppo delle cellule germinali testicolari sono state identificate in base alla scala proposta da Hamlett e Koob (1999).

3.3 Analisi dei dati

La Sex-Ratio (SR, femmine: maschi) è stata stimata per l'intera popolazione e occasionalmente in base anche agli strati batimetrici. Differenze statisticamente significative sono state verificate con il test chi-quadrato (χ^2) (Zar, 1999).

Il test di Kolmogorov-Smirnov (KS) è stato utilizzato per testare eventuali differenze significative nella frequenza delle lunghezze per sesso (Zar, 1999).

La relazione tra la lunghezza totale e il peso è stata calcolata separatamente per maschi e femmine in funzione della curva: $PT = a LT^b$

dove PT rappresenta il peso totale e LT la lunghezza totale, a è l'intercetta della retta di regressione e b è il coefficiente di regressione. La funzione è stata trasformata da equazione logaritmica a lineare per poter applicare i test statistici. In aggiunta, per i batoidei, è stata calcolata la relazione lineare che intercorre tra la larghezza del disco e la lunghezza totale, secondo la seguente formula: $LAD = a LT + b$.

Il test t di Student è stato utilizzato per testare l'uguaglianza del coefficiente di regressione tra le equazioni di regressione lineare (Zar, 1999) di maschi e femmine.

3.4 Maturità

Le misure rilevate dagli organi riproduttivi secondari di maschi (pterigopodi) e femmine (ghiandole dell'ovidotto) sono state analizzate per ogni stadio maturativo. Eventuali differenze statisticamente significative sono state testate tramite il test ANOVA (Zar, 1999).

La taglia di prima maturità sessuale è stata considerata in base agli esemplari maturi che presentavano la taglia più piccola, sia per i maschi che per le femmine

La taglia alla maturità (L_{50}), che indica la lunghezza alla quale il 50% della popolazione risulta essere matura, è stata calcolata, per ciascun sesso, in base alla proporzione degli individui attivi dal punto di vista riproduttivo in ciascuna classe di taglia stabilite diversamente per ogni specie analizzata, attraverso un modello logistico rappresentato graficamente da un'ogiva:

$$P = \frac{100}{(1 + e^{-(a+b*LT)})}$$

dove P è la percentuale di individui maturi in funzione della lunghezza LT, e a e b sono parametri specifici che possono cambiare durante il ciclo vitale. Una trasformazione logaritmica è applicata all'equazione per il calcolo dei parametri a e b dalle medie della regressione lineare (Tuset *et al.*, 2005). La taglia alla maturità risulta quindi essere espressa dalla seguente formula: $L_{50} = (a \times b)^{-1}$.

Il periodo riproduttivo è stato dedotto, per entrambi i sessi, attraverso un'analisi dell'evoluzione stagionale della percentuale delle fasi maturative.

Le variazioni dell'indice gonado-somatico $IGS = \left(\frac{PG}{PT}\right) * 100$

e dell'indice epato-somatico $IES = \left(\frac{PF}{PT}\right) * 100$

sono risultate utili per meglio comprendere quando i prodotti sessuali vengano generati e che energie vengono impiegate in queste fasi. L'IGS è stato utilizzato anche per avere una conferma del periodo riproduttivo.

3.5 Fecondità

La fecondità ovarica, sia per le specie ovipare che vivipare, è stata definita come il numero totale di follicoli vitellogenici rinvenuti all'interno dell'ovario in fase matura individuabili per la colorazione giallo-ocra. In aggiunta, è stato rilevato il diametro, in mm, dei follicoli maturi. Per le specie vivipare è stata inoltre stimata la fecondità uterina, intesa come numero di embrioni presenti all'interno degli uteri. Di ciascuno di essi, è stato inoltre rilevato il sesso e la lunghezza corporea (LT).

3.6 Analisi delle capsule ovigere nelle specie ovipare

Di sei delle otto specie più comuni di Raiformi presenti nelle acque sarde (*Dipturus oxyrinchus*, *Raja asterias*, *R. brachyura*, *R. clavata*, *R. miraletus* e *R. polystigma*) sono state analizzate le capsule ovigere. Per confermare la loro identificazione specifica, esse sono state prelevate direttamente a fresco dagli uteri delle femmine gravide.

La morfologia generale, il colore a fresco (rilevato utilizzando il Pantone Matching System, Carlstadt, NJ, USA), la consistenza, la presenza e la posizione di fibrille di adesione, la presenza di chiglie e undici misure morfometriche, in accordo con Concha *et al* (2012), sono state registrate in millimetri (Fig. 7).

- LC = lunghezza capsula
- LAC = larghezza capsula
- SC = spessore capsula
- LAA = lunghezza apertura anteriore
- LAP = lunghezza apertura posteriore
- LACD = larghezza chiglia destra
- LACS = larghezza chiglia sinistra
- LCDA = lunghezza corno destro anteriore
- LCSA = lunghezza corno sinistro anteriore
- LCDP = lunghezza corno destro posteriore
- LCSP = lunghezza corno sinistro posteriore

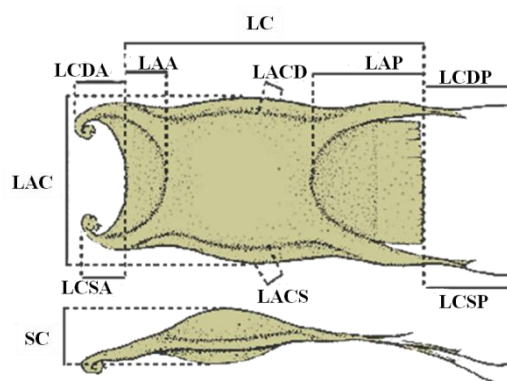


Figura 7. Principali biometrie rilevate dalle capsule ovigere in accordo con la terminologia proposta da Concha *et al.*, (2012).

Per ciascuna variabile morfometrica sono stati rilevati i principali indici di posizione e dispersione e per ciascuna coppia di variabili sono state analizzate le relative funzioni di correlazione al fine di evidenziare eventuali relazioni di dipendenza tra le variabili.

Infine sono state condotte analisi multidimensionali di cluster Analysis e Multidimensional Scaling (MDS) sui dati biometrici raccolti attraverso il software Primer v6 (Clarke e Gorley, 2006).

3.7 Analisi dei riproduttori e andamento delle taglie medie

Delle specie analizzate che presentavano un ciclo riproduttivo preferenziale nella stagione estiva, è stata condotta un'analisi sulla frequenza dei riproduttori e sull'andamento delle taglie medie nelle diverse zone in cui sono suddivise le acque sarde, utilizzando i dati provenienti dalle campagne MEDITS (2005-2013).

CAPITOLO 4

I CONDROITTI NEI MARI DI SARDEGNA

Nei mari di Sardegna, finora, la pesca demersale ha delineato la presenza di 28 specie di Condroitti appartenenti a sei ordini e tredici famiglie (Tab. 3). L'ordine dei Rajiformes è certamente quello che mostra il numero maggiore di specie (12), seguito da quello degli Squaliformes (8 specie), dai Carchariniformes (4 specie) e dagli Hexanchiformes (2 specie); a queste si aggiunge l'unica specie, *Chimaera monstrosa*, presente in Mediterraneo per l'ordine dei Chimaeriformes.

Tabella 3. Qui di seguito viene riportato l'elenco delle 28 specie reperite finora dalla pesca demersale nei mari di Sardegna suddivise nei loro ordini e famiglie di appartenenza.

ORDINE	FAMIGLIA	SPECIE
Carchariniformes	Scyliorhinidae	<i>Galeus melastomus</i> Rafinesque, 1810 <i>Scyliorhinus canicula</i> (Linnaeus, 1758)
	Triakidae	<i>Mustelus mustelus</i> (Linnaeus, 1758) <i>Mustelus punctulatus</i> Risso, 1827
Chimaeriformes	Chimaeridae	<i>Chimaera monstrosa</i> Linnaeus, 1758
Hexanchiformes	Hexanchidae	<i>Hepranchias perlo</i> (Bonnaterre, 1788)
		<i>Hexanchus griseus</i> (Bonnaterre, 1788)
Rajiformes	Dasyatidae	<i>Dasyatis centroura</i> (Mitchill, 1815)
		<i>Dasyatis patinaca</i> (Linnaeus, 1758)
		<i>Pteroplatytrygon violacea</i> (Bonaparte, 1832)
	Myliobatidae	<i>Myliobatis aquila</i> (Linnaeus, 1758)
		<i>Pteromylaeus bovinus</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817)
	Rajidae	<i>Dipturus nidarosiensis</i> (Storm, 1881)
	<i>Dipturus oxyrinchus</i> (Linnaeus, 1758)	
	<i>Leucoraja circularis</i> (Couch, 1838)	
	<i>Raja asterias</i> Delaroche, 1809	
	<i>Raja brachyura</i> Lafont, 1871	
	<i>Raja miraletus</i> Linnaeus, 1758	
	<i>Raja polystigma</i> Regan, 1923	
Squaliformes	Centrophoridae	<i>Centrophorus granulosus</i> (Bloch e Schneider, 1801)
	Dalatidae	<i>Dalatias licha</i> (Bonnaterre, 1788)
	Etmopteridae	<i>Etmopterus spinax</i> (Linnaeus, 1758)
	Oxynotidae	<i>Oxynotus centrina</i> (Linnaeus, 1758)
	Squalidae	<i>Squalus blainville</i> (Risso, 1827)
Torpediniformes	Torpedinidae	<i>Torpedo marmorata</i> Risso, 1810
		<i>Torpedo nobiliana</i> Bonaparte, 1835
		<i>Torpedo torpedo</i> (Linnaeus, 1758)

L'analisi ventennale (1994-2013) dei dati raccolti dalle campagne di pesca a strascico sperimentale MEDITS, ha permesso di reperire dati su 25 delle 28 specie sopracitate (*Mustelus punctulatus*, *Pteromylaeus bovinus* e *Pteroplatytrygon violacea* non sono mai state catturate durante questa specifica campagna di pesca).

In particolare, analizzando i valori di occurrence delle specie si è notato come il gattuccio comune *Scyliorhinus canicula* (Fig. 8) sia la specie che costituisce la frazione maggiore delle catture (19%) seguito dal gattuccio boccanera *Galeus melastomus* (13%) (Fig. 8). Questi due

piccoli gattucci, ed in particolare *S. canicula* (41%), sono le due specie più frequentemente catturate tra gli squaliformi (Fig. 9). La razza chiodata *Raja clavata* (12%), la razza polistima *R. polystigma* (12%), la razza bruna *R. miraletus* (9%) e la razza a muso lungo *Dipturus oxyrinchus* (9%) costituiscono anch'esse una frazione piuttosto cospicua delle specie catturate (Fig. 8 e 10). Il piccolo sagrì nero *Etmopterus spinax* (8%) e lo spinarolo bruno *Squalus blainville* (4%) sono stati catturati con percentuali inferiori rispetto alle specie precedenti (Fig. X), ma tra gli squaliformi, sono le due specie più comuni, dopo i due gattucci, rispettivamente con una frequenza del 17% e 10% (Fig. 9).

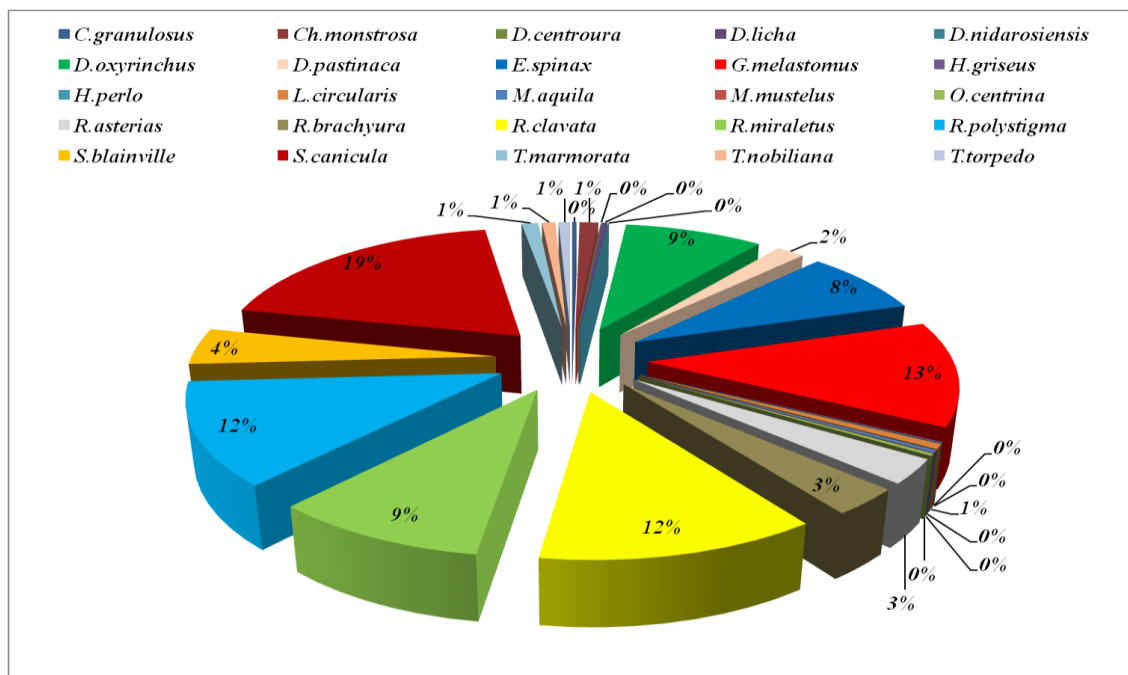


Figura 8. Frequenza percentuale delle 25 specie di Condroidi reperite durante le campagne di pesca sperimentale MEDITS dal 1994 al 2013.

La razza bionda *R. brachyura* e la razza stellata *R. asterias* hanno mostrato percentuali di frequenza nettamente inferiori sul totale delle specie catturate (Fig. 8) entrambe con percentuali di poco superiori al 3% e anche tra i batoidei questa proporzione viene perfettamente rispecchiata con frequenze del 6% e 5% rispettivamente per la razza bionda e quella stellata (Fig. 10).

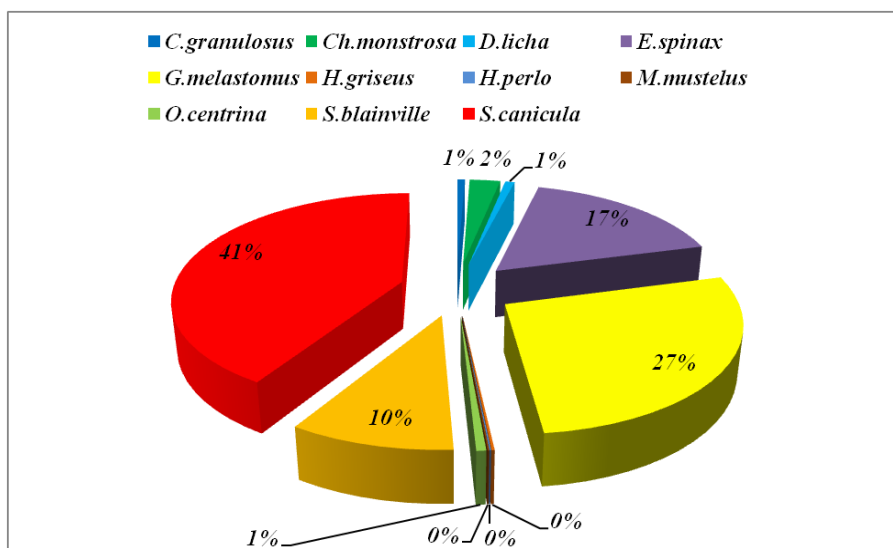


Figura 9. Frequenza percentuale delle 10 specie di squaliformi e dell'unico chimeriforme reperiti durante le campagne di pesca sperimentale MEDITS dal 1994 al 2013.

Per quanto riguarda tutte le altre specie, ovvero la pastinaca comune *Dasyatis pastinaca* (~2%), l'unico esemplare di chimera *Chimaera monstrosa* (~1%), le tre specie di torpedini (*Torpedo marmorata*, *T. nobiliana* e *T. torpedo*) (~1% rispettivamente per ogni specie), e tutti gli altri esemplari di squaliformi (*Centrophorus granulatus*, *Dalatias licha*, *Heptranchias perlo*, *Hexanchus griseus*, *Mustelus mustelus*, *Oxynotus centrina*) e di batoidei (*Dasyatis centroura*, *Dipturus nidarosiensis*, *Leucoraja circularis*, *Myliobatis aquila*) sono stati catturati con le frequenze più basse registrate, di poco superiori all'1% e allo 0%.

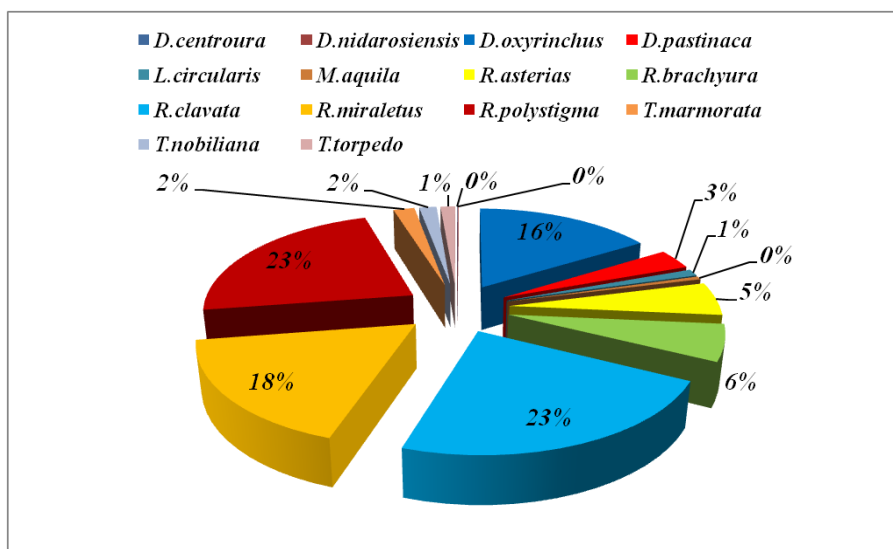


Figura 10. Frequenza percentuale delle 14 specie di batoidei reperiti durante le campagne di pesca sperimentale MEDITS dal 1994 al 2013.

4.1 Analisi della frequenza (occurrence) media.

In questa sezione vengono riportati i dati relativi alla frequenza media totale (occurrence) di tutte le specie catturate durante le campagne MEDITS (Tab. 5), nonché di quelle relative alle 7 sub-aree di campionamento in cui la Sardegna è stata convenzionalmente suddivisa (Tab. 6) e ai relativi 5 strati batimetrici (Tab. 7).

Tabella 5. Frequenza media dell'occurrence % delle 25 specie registrate durante le campagne di pesca MEDITS (1994-2013) e relativa deviazione standard (D.S.).

Specie	Media occurrence totale	D.S.
<i>C.granulosus</i>	0,69	1,02
<i>Ch.monstrosa</i>	2,86	1,58
<i>D.centroura</i>	0,05	0,22
<i>D.licha</i>	0,88	1,21
<i>D.nidarosiensis</i>	0,10	0,31
<i>D.oxyrinchus</i>	21,18	2,39
<i>D.pastinaca</i>	4,33	2,82
<i>E.spinax</i>	18,96	3,07
<i>G.melastomus</i>	30,65	2,23
<i>H.griseus</i>	0,19	0,40
<i>H.perlo</i>	0,09	0,28
<i>L.circularis</i>	1,47	1,20
<i>M.aquila</i>	0,68	0,82
<i>M.mustelus</i>	0,09	0,28
<i>O.centrina</i>	0,64	0,74
<i>R.asterias</i>	7,13	3,54
<i>R.brachyura</i>	7,79	5,21
<i>R.clavata</i>	29,92	3,84
<i>R.miraletus</i>	23,16	5,80
<i>R.polystigma</i>	29,86	6,46
<i>S.blainville</i>	10,75	4,08
<i>S.canicula</i>	46,16	8,35
<i>T.marmorata</i>	2,54	2,27
<i>T.nobiliana</i>	2,06	1,96
<i>T.torpedo</i>	1,75	1,88

Questi risultati sono perfettamente in linea con quelli della frequenza delle catture percentuali sul totale di tutte le specie mostrate nel paragrafo precedente.

Il gattuccio comune è certamente la specie risultata più frequente nei mari di Sardegna (46.16 ± 8.35 , media \pm D.S.). Questo piccolo squaliforme è distribuito quasi uniformemente in tutte le sub-aree della Sardegna (Tab. 6) con una leggera preferenza per la costa occidentale e in particolare per la zona 4 dove viene registrato il valore medio massimo (70.81 ± 18.67 , media \pm D.S.). *S. canicula* ha mostrato anche una distribuzione batimetrica piuttosto ampia,

andando a ricoprire tutti gli strati batimetrici (Tab. 7) anche se le frequenze maggiori sono state registrate dai 50 ai 500m con il valore più alto nello strato batimetrico dei 100-200m (80.47 ± 11.35 , media \pm D.S.).

Il gattuccio boccanera è la seconda specie catturata con maggior frequenza (30.65 ± 2.23 , media \pm D.S.). Anch'esso risulta essere distribuito piuttosto uniformemente nei mari circostanti la Sardegna, anche se mostra una frequenza maggiore nella parte meridionale della Sardegna (Zona 7) (Tab. 6). Per quanto riguarda la sua distribuzione batimetrica, *G. melastomus* è presente dai 50 m, seppur con frequenze piuttosto esigue, ma è dai 200 m in poi che presenta le frequenze più alte, e in particolare nell'ultimo strato batimetrico indagato dove mostra una netta predominanza (94.02 ± 7.45 , media \pm D.S.) (Tabella 7). Tra gli esemplari della famiglia Rajidae, *Raja clavata* (29.92 ± 3.84 , media \pm D.S.), *R. polystigma* (29.86 ± 6.46 , media \pm D.S.), *R. miraletus* (23.16 ± 5.80 , media \pm D.S.) e *Dipturus oxyrinchus* (21.18 ± 2.39 , media \pm D.S.) sono tra le specie pescate con maggior frequenza (Tab. 5) e si distribuiscono abbastanza similmente nei mari sardi (Tab. 6) seppur con batimetrie differenti. La razza chiodata è quella che ha mostrato la distribuzione più ampia nei 5 strati (Tab. 7), ma con una frequenza maggiore nel terzo (57.05 ± 12.53 , media \pm D.S.) e quarto strato (58.10 ± 10.91 , media \pm D.S.); la razza polistima, ha anch'essa presentato una distribuzione ampia nella colonna d'acqua (Tab. 6), anche se differentemente da *R. clavata*, questa piccola razza è più frequente nelle zone costiere e in particolare tra i 50-100 m (45.59 ± 17.22 , media \pm D.S.) e tra i 100-200 m (44.93 ± 7.78 , media \pm D.S.); la razza bruna si è dimostrata essere una specie che predilige nettamente gli ambienti costieri (Tab. 7) pur essendo registrata anche tra i 200 e 500 m ma con una frequenza piuttosto esigua (2.76 ± 3.25 , media \pm D.S.), ed in particolare la sua frequenza massima è registrata tra i 50-100 m (44.93 ± 7.78 , media \pm D.S.); infine, la razza a muso lungo non presente solo nel primo strato batimetrico, ha mostrato una netta preferenza per gli ambienti più profondi (Tab. 7) ed in particolare tra i 200-500 m (63.73 ± 9.87 , media \pm D.S.), mentre tra il terzo (17.34 ± 7.23 , media \pm D.S.) e quarto strato (16.93 ± 8.79 , media \pm D.S.) le frequenze sono risultate piuttosto simili.

I due squaliformi *Etmopterus spinax* (18.96 ± 3.07 , media \pm D.S.) e *Squalus blainville* (10.75 ± 4.08 , media \pm D.S.), pur essendo presenti con frequenze decisamente inferiori rispetto alle specie precedenti (Tab. 5) hanno mostrato una distribuzione lungo tutta la Sardegna e in particolare il sagrì nero, mostra una predominanza nella parte sud-orientale (Zona 7, 1 e 2, Tab. 6) e una predilezione per gli ambienti più profondi, in particolare nell'ultimo strato batimetrico (87.72 ± 10.14 , media \pm D.S.) (Tab. 7), mentre lo spinarolo bruno sembra essere

maggiormente distribuito nelle zone meridionali (Zona 7) e settentrionali (Zona 3) (Tab. 6) e nello strato batimetrico dei 200-500 m (33.41 ± 10.90 , media \pm D.S.) (Tab. 7).

La razza bionda *R. brachyura* (7.79 ± 5.21 , media \pm D.S.) e la razza stellata *R. asterias* (7.13 ± 3.54 , media \pm D.S.), certamente meno frequenti rispetto alle altre specie (Tab. 5), hanno mostrato una predilezione per la costa occidentale (Tab. 6) e in particolare per la Zona 5 rispettivamente per la razza bionda con 20.89 ± 18.43 (media \pm D.S.) e per la razza stellata con 16.47 ± 12.97 (media \pm D.S.) e per gli ambienti costieri ed in particolare per lo strato batimetrico dei 10-50 m dove mostrano le frequenze più alte (Tab. 7).

Per quanto riguarda tutte le altre specie, reperite con una frequenza media nettamente inferiore (Tab. 5), la pastinaca comune *Dasyatis pastinaca* mostra una distribuzione simile alla razza bionda e a quella stellata prediligendo la vita a batimetrie inferiori (10-50 m, Tab. 7) e nelle coste occidentali (in particolare nelle Zone 5, 4 e 6, Tab. 6); anche la *Chimaera monstrosa* ha mostrato una distribuzione piuttosto specifica ed in particolare, rispettivamente nella Zona 2 e nella Zona 7 (Tab. 6) dove sono state registrate le frequenze maggiori e nello strato batimetrico più profondo, ovvero tra i 500-800 m (Tab. 7). Le tre specie di torpedini, la torpedine mazzata *Torpedo marmorata*, la torpedine nera *T. nobiliana* e la torpedine ocellata *T. torpedo*, hanno mostrato una distribuzione lungo tutte le coste sarde (Tab. 6) e un'ampia distribuzione nella colonna d'acqua seppur con una preferenza per le batimetrie inferiori (Strato dei 10-50m, Tab. 7). Le restanti specie hanno mostrato le frequenze più basse in assoluto (Tab. 5) e si possono differenziare in specie con una preferenza per le batimetrie meno profonde (10-50 m) come il trigone spinoso *Dasyatis centroura*, l'aquila di mare *Myliobatis aquila* e il palombo *Mustelus mustelus*, e specie più profonde quali la razza norvegese *Dipturus nidarosiensis* e la razza rotonda *Leucoraja circularis* (con una netta preferenza per la zona orientale dove si registra la frequenza maggiore, Zona 2) (Tab. 6) e gli squaliformi *Centrophorus granulosus*, *Dalatias licha*, *Heptranchias perlo*, *Hexanchus griseus*, e *Oxynotus centrina* (Tab. 5).

Tabella 6. In questa tabella vengono riportati i dati dell'occurrence % (espresso come media±Deviazione Standard) decorrenti dal 1994 al 2013 delle specie di condroitti reperiti durante la MEDITS nelle diverse sub-aree indagate nei mari sardi.

SPECIE	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 3	ZONA 4	ZONA 5	ZONA 6	ZONA 7
<i>C. granulatus</i>	1,04±2,75	1,13±3,00				0,71±1,48	1,44±3,08
<i>Ch. monstrosa</i>	3,09±4,41	10,03±6,29	0,42±1,86	0,38±1,72	0,41±1,60	0,35±1,08	8,37±4,98
<i>D. centroura</i>		0,27±1,24					
<i>D. licha</i>	1,89±3,95	1,92±3,18	1,89±4,71			0,94±1,69	0,94±2,92
<i>D. nidarosiensis</i>					0,56±2,48	0,31±1,40	
<i>D. oxyrinchus</i>	17,68±9,95	21,58±7,40	29,59±12,50	20,07±8,67	21,00±10,94	17,93±5,86	23,64±6,90
<i>D. pastinaca</i>	2,82±4,49	2,81±2,89	0,50±2,24	7,41±10,59	14,35±9,27	4,64±3,79	0,26±1,18
<i>E. spinax</i>	21,74±10,57	23,86±7,38	12,35±7,25	17,04±8,38	15,14±6,46	18,13±6,31	24,51±5,51
<i>G. melastomus</i>	35,45±10,65	32,13±4,87	25,91±6,76	24,57±12,01	24,20±6,70	29,56±5,98	43,36±3,58
<i>H. griseus</i>						0,34±1,08	0,33±1,49
<i>H. perlo</i>			0,41±1,86				0,31±1,40
<i>L. circularis</i>		5,21±5,42	1,82±4,05	2,73±4,67	1,01±3,35		
<i>M. aquila</i>	0,56±2,48	0,28±1,24	4,27±5,82	0,5±2,24			0,31±1,40
<i>M. mustelus</i>	0,5±2,24						0,26±1,18
<i>O. centrina</i>		0,42±1,86			1,73±3,66	1,19±1,68	0,65±1,99
<i>R. asterias</i>	7,72±6,06	3,68±5,81	3,28±6,23	9,16±12,14	16,47±12,97	8,45±5,37	1,92±3,07
<i>R. brachyura</i>	4,38±6,02	4,78±5,87	0,5±2,24	8,08±11,99	20,89±18,43	9,61±7,83	3,26±9,36
<i>R. clavata</i>	24,58±9,56	36,35±8,51	31,53±11,32	32,13±15,65	32,23±15,65	28,83±7,56	26,55±9,59
<i>R. miraletus</i>	9,05±9,45	25,21±10,06	26,74±9,45	23,76±14,47	30,92±13,76	28,59±8,86	12,05±7,03
<i>R. polystigma</i>	21,68±12,26	32,84±8,28	26,18±12,29	30,60±16,25	43,55±13,30	31,96±10,28	23,61±11,80
<i>S. blainville</i>	4,65±6,18	9,75±7,69	16,58±9,31	9,76±11,91	5,93±5,31	11,17±7,90	16,08±6,87
<i>S. canicula</i>	31,79±13,14	55,24±10,27	45,00±11,10	70,81±18,67	53,10±11,38	40,91±10,22	41,39±16,69
<i>T. marmorata</i>	1,80±3,73	2,03±2,84	2,88±5,59	2,30±5,25	1,97±4,11	1,49±2,33	1,04±3,28
<i>T. nobiliana</i>	2,90±4,80	2,46±4,45	3,60±5,61	0,92±2,83	1,75±4,33	1,64±2,87	1,75±3,42
<i>T. torpedo</i>	2,90±4,80	2,46±4,45	3,60±5,61	0,92±2,83	1,75±4,33	1,64±2,87	1,75±3,42

Tabella 7. In questa tabella vengono riportati i dati dell'occurrence % (espresso come media±Deviazione Standard) decorrenti dal 1994 al 2013 delle specie di condroitti reperiti durante la MEDITS nei diversi strati batimetrici indagati nei mari sardi.

SPECIE	10-50m	50-100m	100-200m	200-500m	500-800m
<i>C. granulatus</i>				0,74±1,80	2,92±4,41
<i>Ch. monstrosa</i>				1,19±2,11	14,18±8,10
<i>D. centroura</i>	0,25±1,12				
<i>D. licha</i>					4,74±6,57
<i>D. nidarosiensis</i>			0,20±0,93	0,23±1,06	
<i>D. oxyrinchus</i>		2,25±3,03	17,34±7,23	63,73±9,87	16,93±8,79
<i>D. pastinaca</i>	22,87±14,29	0,96±2,43	0,17±0,75		
<i>E. spinax</i>			0,42±1,86	16,29±7,32	87,72±10,14
<i>G. melastomus</i>		0,46±1,44	1,69±2,52	63,36±8,83	94,02±7,45
<i>H. griseus</i>				0,2±0,89	0,6±1,87
<i>H. perlo</i>				0,43±1,33	
<i>L. circularis</i>				6,58±5,80	0,63±1,77
<i>M. aquila</i>	3,77±4,48				
<i>M. mustelus</i>	0,25±1,11			0,25±1,11	
<i>O. centrina</i>			0,58±1,43	1,53±2,16	0,98±2,09
<i>R. asterias</i>	24,99±14,73	8,60±6,08	1,76±3,76	1,60±2,81	
<i>R. brachyura</i>	29,73±18,57	9,49±7,95	1,40±3,33		
<i>R. clavata</i>	3,82±5,50	18,81±9,49	57,05±12,53	58,10±10,91	2,19±3,47
<i>R. miraletus</i>	29,56±9,93	61,36±20,05	22,33±8,07	2,76±3,25	
<i>R. polystigma</i>	27,07±12,07	45,59±17,22	44,93±7,78	26,09±9,89	0,71±1,78
<i>S. blainville</i>	0,26±1,18	0,26±1,18	8,16±5,34	33,41±10,90	6,11±6,61
<i>S. canicula</i>	11,91±7,82	55,65±13,72	80,47±11,35	67,04±12,99	3,53±4,65
<i>T. marmorata</i>	5,01±6,76	1,11±2,37	1,57±2,76	1,49±2,63	
<i>T. nobiliana</i>	3,22±4,00	2,13±3,92	2,89±4,60	1,68±2,43	0,21±0,91
<i>T. torpedo</i>	4,37±6,59	2,39±4,8	1,27±3,25	0,96±2,55	

4.2 Analisi dei principali indici di abbondanza (indice di densità e indice di biomassa).

Considerati i risultati ottenuti nel paragrafo precedente ed in particolare per quanto riguarda la frequenza della distribuzione delle specie nei diversi strati batimetrici, per l'analisi degli indici di abbondanza (indice di densità e indice di biomassa) abbiamo deciso di valutare l'andamento delle specie e i loro trend, considerando i macro-strati batimetrici, ovvero, lungo tutta la colonna d'acqua indagata durante i campionamenti MEDITS (10-800 m), lungo la zona costiera, denominata platea continentale (10-200 m) e lungo la scarpata continentale (200-800 m) per avere una distribuzione più uniforme ed omogenea delle specie analizzate (Tab. 8). Questo ci ha permesso sostanzialmente di individuare le sei specie più rappresentative e che sono state catturate durante tutto l'arco ventennale delle campagne MEDITS effettuate nei mari sardi e che sono, per quanto riguarda la platea continentale, il gattuccio comune *Scyliorhinus canicula*, le razze *Raja clavata*, *R. polystigma* ed *R. miraletus*, la pastinaca comune *Dasyatis pastinaca* e la razza bionda *R. bracyura*, rispettivamente in ordine per quanto riguarda la loro abbondanza, come visibile in Fig. 11. mentre, per quanto riguarda la scarpata continentale, le sei specie più rappresentative sono state, rispettivamente, gli squaliformi *Galeus melastomus*, *S. canicula* ed *Etmopterus spinax*, la razza chiodata *R. clavata*, lo spinarolo bruno *Squalus blainville* e la razza a muso lungo *Dipturus oxyrinchus* (Fig. 12).

Per quanto riguarda le specie che abitano nella platea continentale, il gattuccio comune è sicuramente la specie più rappresentativa mostrando una distribuzione molto ampia e un'abbondanza piuttosto rilevante sia in termini di densità che di biomassa in entrambi i macro-strati batimetrici (Tab. 8); il test di Spearman ha messo in luce differenze statisticamente significative per quanto riguarda entrambi gli indici solo nello strato della platea continentale, mentre per quanto riguarda l'andamento temporale della specie, i nostri dati ci indicano che la popolazione di questa specie abbia un trend in crescita (Tab. 8). Tre specie di raiformi, *R. polystigma*, *R. clavata*, e *R. miraletus* costituiscono una frazione molto importante delle specie che abitano le zone costiere (Tab. 8) ed in particolare, la razza polistima si è dimostrata essere leggermente più abbondante rispetto alle altre specialmente per quanto riguarda la densità (ID= 54.3 ± 20.2 , media \pm D.S.; IB= 15.0 ± 6.7 , media \pm D.S.); nessuna differenza statisticamente significativa è stata rilevata e dall'analisi temporale dei nostri dati, la specie appare in condizioni stabili (Tab. 8). La razza chiodata (ID= 52.5 ± 19.3 , media \pm D.S.; IB= 40.6 ± 19.6 , media \pm D.S.) e la razza bruna (ID= 50.4 ± 30.9 , media \pm D.S.; IB= 7.6 ± 4.2 , media \pm D.S.; P-value < 0.05) sono invece apparse in condizioni migliori rispetto alla

precedente, infatti, dalle nostre analisi risulta che entrambe queste specie sembrerebbero avere un trend in crescita (Tab. 8). La pastinaca comune (ID= 42.6 ± 39.5 , media \pm D.S.; IB= 26.4 ± 21.7 , media \pm D.S.) e la razza bionda (ID= 37.9 ± 47.0 , media \pm D.S.; IB= 20.8 ± 28.4 , media \pm D.S.) hanno presentato entrambe differenze statisticamente significative (test di Spearman, P-value < 0.05) e, similmente a *R. clavata* e *R. miraletus* mostrano un trend in crescita (Tab. 8).

Oltre a queste sei specie, la razza stellata *R. asterias* mostra un'abbondanza nettamente inferiore (ID= 16.0 ± 14.1 , media \pm D.S.; IB= 11.5 ± 8.0 , media \pm D.S.), ma anch'essa sembra mostrare un trend in crescita. Infine, le tre torpedini, la marezzata, la nera e la ocellata, hanno mostrato tra le più basse abbondanze nelle coste sarde (Tab. 8) e trend completamente diversi l'una dall'altra; infatti *T. marmorata* sembra essere in crescita, *T. nobiliana* invece sembra subire una leggera flessione nel corso degli anni, mentre *T. torpedo* sembra avere condizioni stabili (Tab. 8). Anche l'aquila di mare *M. aquila* sembra mostrare un trend in crescita (Tab. 8).

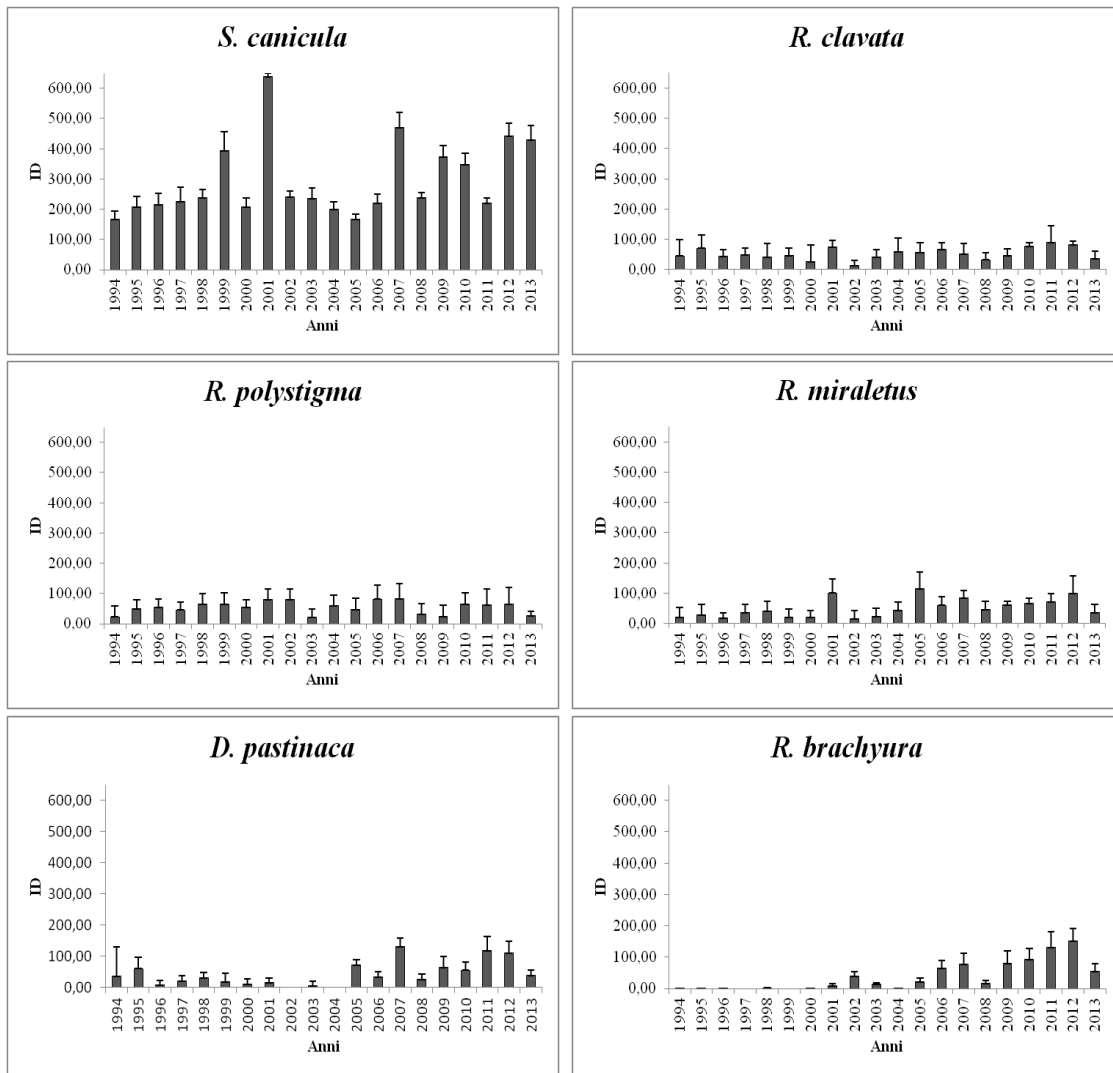


Figura 11. Indici di densità (ID) delle sei specie più rappresentative (*S. canicula*, *R. clavata*, *R. polystigma*, *R. miraletus*, *D. pastinaca* e *R. brachyura*) reperite nella platea continentale (10 - 200 m) investigate durante le campagne MEDITS dal 1994 al 2013.

Il gattuccio boccanera è sicuramente la specie più rappresentativa e abbondante della scarpata continentale (ID= 819.6±256.2, media±D.S.; IB= 51.1±14.4, media±D.S.); nessuna differenza statisticamente significativa è stata riscontrata nell'andamento temporale e la popolazione di questo piccolo squaliforme profondo appare essere in condizioni stabili (Tab. 8). Anche il gattuccio comune, come *G. melastomus*, risulta essere molto abbondante in questo strato batimetrico (ID= 406.6±168.5, media±D.S.; IB= 18.0±6.4, media±D.S.) e, anche in questo caso, nessuna differenza significativa è stata riscontrata, ma l'andamento del trend temporale risulta essere in crescita (Tab. 8). Il piccolo sagrì nero *Etmopterus spinax*, tra gli squaliformi, è la terza specie più abbondante (ID= 86.8±40.4, media±D.S.; IB= 4.8±2.2, media±D.S.); differenze statisticamente significative (test di Spearman, P-value <0.05) sono state riscontrate per entrambi gli indici di abbondanza e l'analisi del trend temporale ha messo in luce un apparente buono stato di questa risorsa (trend in crescita) (Tab. 8). La razza chiodata dimostra avere una notevole rilevanza anche nella scarpata continentale (ID= 38.8±17.4, media±D.S.; IB= 18.2±6.2, media±D.S.), seppur in misura minore rispetto ai dati rilevati nella platea (Tab. 8); il test di Spearman non ha messo in evidenza differenze significative (P-value >0.05). Lo spinarolo bruno *S. blainville* (ID= 24.04±27.3, media±D.S.; IB= 13.9±11.6, media±D.S.) ha mostrato differenze statisticamente significative (test di Spearman, P-value <0.05) ed è l'unica specie, tra quelle analizzate, che ha mostrato un trend temporale dell'andamento della popolazione in calo (Tab. 8). La razza a muso lungo *D. oxyrinchus*, la seconda specie tra i raiformi più rappresentativa di questo strato batimetrico (ID= 20.7±17.6, media±D.S.; IB= 15.2±7.8, media±D.S.) non ha presentato differenze significative (test di Spearman, P-value >0.05) e dall'analisi del trend temporale le condizioni sono apparse stabili (Tab. 8).

Altre due specie rilevanti, e che sono state rilevate a partire dalla scarpata continentale, seppure abbiano mostrato abbondanze nettamente inferiori rispetto alle sei specie precedenti, sono sicuramente *Chimaera monstrosa* (ID= 1.81±1.66, media±D.S.; IB= 0.12±0.11, media±D.S.) e *Leucoraja circularis* (ID= 1.4±0.9, media±D.S.; IB= 0.9±0.6, media±D.S.) che sembrano mostrare entrambe un trend in crescita delle rispettive popolazioni (Tab. 8).

Delle restanti otto specie (*C. granulatus*, *D. centroura*, *D. licha*, *D. nidarosiensis*, *H. griseus*, *H. perlo*, *M. mustelus* e *O. centrina*), seppure vengono forniti i dati di abbondanza, non è stato possibile stimare lo stato di salute delle popolazioni in quanto nel corso dei vent'anni di campionamento, sono stati catturati in maniera piuttosto sporadica (es. il trigone spinoso è stato rilevato per la prima volta nel 2013) e perciò il trend di queste specie è risultato essere "non valutabile" (Tab. 8).

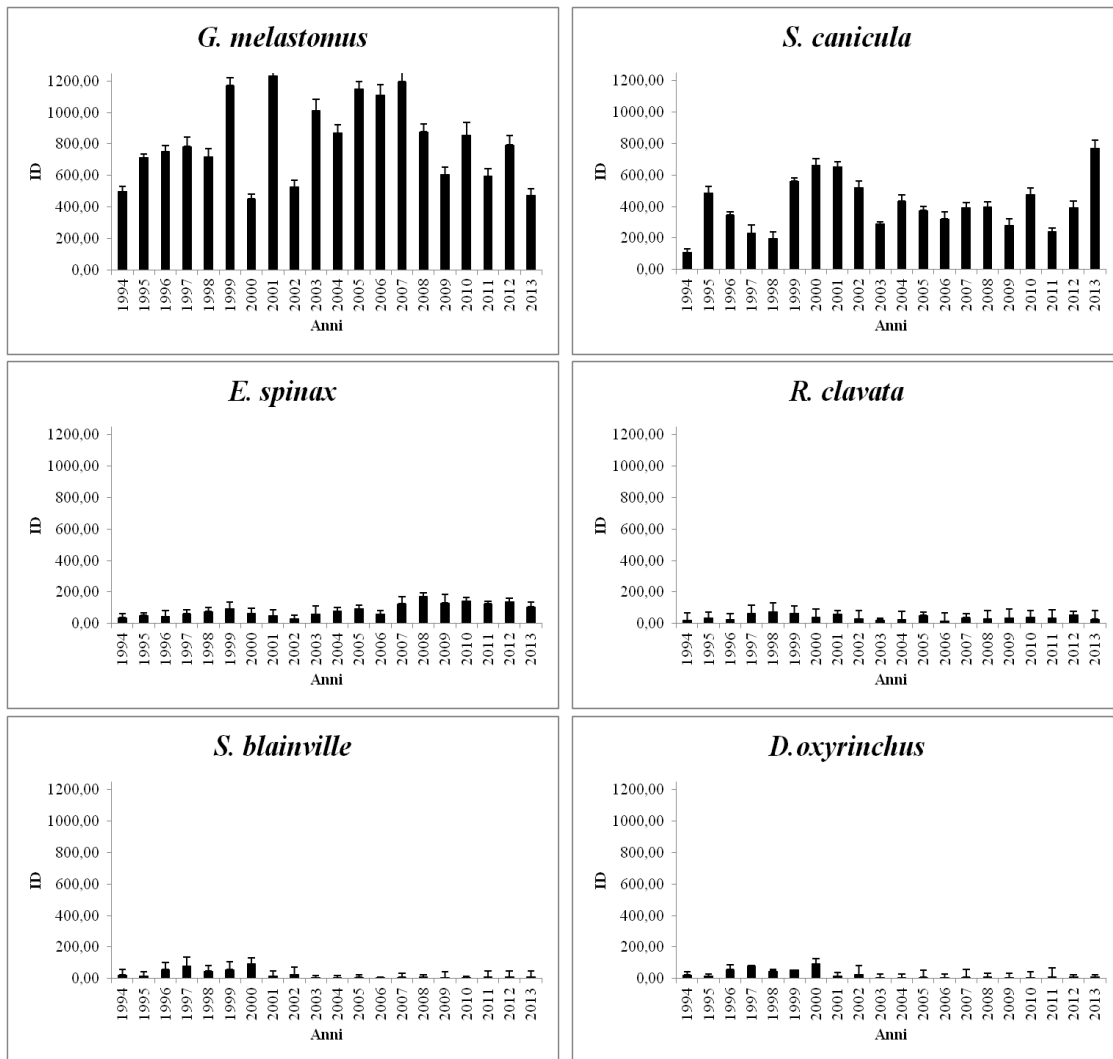


Figura 12. Indici di densità (ID) delle sei specie più rappresentative (*G. melastomus*, *S. canicula*, *E. spinax*, *R. clavata*, *S. blainville* e *D. oxyrinchus*) reperite nella scarpata continentale (200 - 800 m) investigate durante le campagne MEDITS dal 1994 al 2013.

Tabella 8. Media degli indici di densità (ID±D.S.) e di biomassa (IB±D.S.) relativi alle 25 specie di Condroitti analizzate dal 1994 al 2013 e suddivise per macro-strati batimetrici.

SPECIE	Strato totale 10-800 m	Platea continentale 10-200 m	Scarpata continentale 200-800 m	Trend temporale
<i>C. granulatus</i>	ID= 0.32±0.22 IB= 1.07±1.02	- -	ID= 0.82±0.66 IB= 2.93±2.81	NV
<i>Ch. monstrosa</i>	ID= 0.66±0.61 IB= 0.04±0.03	- -	ID= 1.81±1.66 IB= 0.12±0.11	C
<i>D. centroura</i>	ID= 0.03±0.13 IB= 1.15±5.13	ID= 0.05±0.31 IB= 1.81±8.09	- -	NV
<i>D. licha</i>	ID= 0.18±0.12* IB= 0.51±0.72	- -	ID= 0.52±0.36* IB= 1.40±1.96	NV
<i>D. nidarosiensis</i>	ID= 0.01±0.05 IB= 0.001±0.003	ID= 0.02±0.07 IB= 0.001±0.004	ID= 0.01±0.06 IB= 0.002±0.008	NV
<i>D. oxyrinchus</i>	ID= 12.3±6.4 IB= 12.0±6.8	ID= 7.8±7.5 IB= 10.6±10.3	ID= 20.7±17.6 IB= 15.2±7.8	S
<i>D. pastinaca</i>	ID= 27.0±25.0* IB= 16.8±13.7	ID= 42.6±39.5* IB= 26.4±21.7	- -	C
<i>E. spinax</i>	ID= 35.1±20.7* IB= 2.22±2.08*	ID= 0.26±1.17 IB= 0.04±0.18	ID= 86.8±40.4* IB= 4.8±2.2*	C
<i>G. melastomus</i>	ID= 297.9±94.9 IB= 18.5±4.8	ID= 1.15±2.58 IB= 0.22±0.51	ID= 819.6±256.2 IB= 51.1±14.4	S
<i>H. griseus</i>	ID= 0.02±0.03 IB= 0.26±0.83	- -	ID= 0.04±0.1 IB= 0.72±2.27	NV
<i>H. perlo</i>	ID= 0.02±0.03 IB= 0.01±0.03	- -	ID= 0.02±0.07 IB= 0.03±0.09	NV
<i>L. circularis</i>	ID= 0.37±0.37* IB= 0.24±0.25		ID= 1.4±0.9 IB= 0.9±0.6	C
<i>M. aquila</i>	ID= 0.27±0.33 IB= 0.31±0.49	ID= 0.43±0.52 IB= 0.49±0.78	- -	C
<i>M. mustelus</i>	ID= 0.06±0.21 IB= 0.01±0.05	ID= 0.37±0.02 IB= 0.04±0.01	ID= 0.60±0.58 IB= 0.14±0.16	NV
<i>O. centrina</i>	ID= 0.07±0.10 IB= 0.18±0.26	ID= 0.06±0.21 IB= 0.01±0.05	ID= 0.38±0.13 IB= 1.52±0.29	NV
<i>R. asterias</i>	ID= 10.2±8.3 IB= 7.5±4.9	ID= 16.0±14.1 IB= 11.5±8.0	ID= 0.98±0.46 IB= 0.61±0.65	C
<i>R. brachyura</i>	ID= 30.1±38.4* IB= 13.2±18.0*	ID= 37.9±47.0* IB= 20.8±28.4*		C
<i>R. clavata</i>	ID= 47.5±14.4 IB= 32.4±11.8	ID= 52.5±19.3 IB= 40.6±19.6	ID= 38.8±17.4 IB= 18.2±6.2	C
<i>R. miraletus</i>	ID= 32.5±19.3* IB= 4.9±2.6*	ID= 50.4±30.9* IB= 7.6±4.2*	ID= 1.0±2.0 IB= 0.1±0.2	C
<i>R. polystigma</i>	ID= 38.7±13.0 IB= 11.6±7.0	ID= 54.3±20.2 IB= 15.0±6.7	ID= 10.6±6.3 IB= 1.6±1.7*	S
<i>S. blainville</i>	ID= 14.0±20.5* IB= 6.2±4.9*	ID= 4.1±6.2 IB= 1.8±2.8	ID= 24.04±27.3* IB= 13.9±11.6*	D
<i>S. canicula</i>	ID= 353.6±136.6 IB= 27.4±12.0	ID= 294.0±125.4* IB= 32.8±18.6*	ID= 406.6±168.5 IB= 18.0±6.4	C
<i>T. marmorata</i>	ID= 0.58±0.96 IB= 0.29±0.53*	ID= 0.87±1.44* IB= 0.44±0.84*	ID= 0.08±0.16 IB= 0.02±0.05	C
<i>T. nobiliana</i>	ID= 0.54±0.54 IB= 0.27±0.40*	ID= 0.77±0.83 IB= 0.36±0.52	ID= 0.15±0.23 IB= 0.12±0.29*	D
<i>T. torpedo</i>	ID= 0.68±1.30 IB= 0.32±0.79	ID= 1.02±2.06 IB= 0.50±1.25	ID= 0.08±0.21 IB= 0.01±0.03	S

ID = indice di densità; IB = indice di biomassa; (*) differenze statisticamente significative: test di Spearman $P < 0.05$. C = trend in crescita; D = trend in decremento; NV= trend non valutabile; S= trend stabile.

4.3 Conclusioni

I risultati riportati in questo capitolo e ottenuti sulle 25 specie reperite durante l'arco ventennale delle campagne di pesca scientifica MEDITS hanno sostanzialmente confermato le precedenti analisi effettuate da Follesa *et al.* (2013). Infatti considerando i dati ricavati dall'occurrence e dagli indici di abbondanza, le specie più rappresentative che abitano i mari sardi sono, rispettivamente, il gattuccio comune *S. canicula*, il gattuccio boccanera *G. melastomus*, i Rajidi *R. clavata*, *R. polystigma*, *R. miraletus* e *D. oxyrinchus*, il piccolo sagri nero *E. spinax*, lo spinarolo bruno *S. blainville* e la razza bionda *R. brachyura*. Le restanti specie mostrano frequenze e abbondanze nettamente inferiori. Per quanto riguarda la distribuzione dei campioni nelle 7 zone della Sardegna, si è potuto notare come 7 specie (*D. oxyrinchus*, *E. spinax*, *G. melastomus*, *R. clavata*, *R. miraletus*, *R. polystigma* e *S. canicula*) siano distribuite quasi uniformemente nei mari sardi anche se, nello specifico, gli squaliformi profondi *G. melastomus* ed *E. spinax*, hanno mostrato frequenze leggermente superiori nella parte sud-orientale delle coste sarde, e le due piccole razze *R. miraletus* e *R. polystigma* hanno mostrato una frequenza maggiore nelle coste occidentali. La pastinaca comune *D. pastinaca*, la razza stellata *R. asterias* e quella bionda *R. brachyura*, che hanno mostrato avere una predilezione esclusiva per gli ambienti costieri, sembrano essere maggiormente presenti nella costa occidentale, mentre specie che prediligono batimetrie più profonde quali *C. granulatus*, *Ch. monstrosa*, *D. licha* e *L. circularis*, sono maggiormente presenti nelle acque orientali. Questa apparente differenza nelle distribuzioni delle specie potrebbe essere giustificata dal fatto che nella zona orientale, caratterizzata da una platea continentale molto ridotta e da una scarpata molto estesa e ripida potrebbe essere più semplice catturare specie che abitano preferibilmente gli ambienti profondi, mentre, al contrario, nella costa occidentale, che è caratterizzata da una platea continentale piuttosto estesa, potrebbe essere più comune catturare le specie che prediligono la vita a batimetrie inferiori. Mentre specie che mostrano un range batimetrico più ampio come *R. clavata* e *S. canicula* si ritrovano in tutte le zone di campionamento, seppur con frequenze leggermente superiori in alcune zone.

I risultati dei nostri studi per quanto riguarda l'occurrence e l'abbondanza dei Condroitti nei mari di Sardegna, sembrerebbero essere in contrasto con quelli riportati in letteratura nel bacino mediterraneo, che vedrebbe un chiaro decremento dei trend di queste specie (Serena, 2005). Infatti, la maggior parte delle specie analizzate in questa tesi, sia nella platea che nella scarpata continentale, mostrano tutte dei trend in crescita o stabili e solo lo spinarolo bruno *S. blainville* sembrerebbe avere un trend inverso. Una situazione analoga è stata segnalata anche nei mari di Sicilia (Ragonese *et al.*, 2013) dove molte specie analizzate sembrano mostrare

trend stabili o in crescita, ma nonostante ciò gli autori evidenziano un possibile rischio di estinzione delle specie analizzate e specialmente di quelle più rare o che abitano le batimetrie meno profonde e che potrebbero risentire maggiormente dello sforzo di pesca. Una differenza sicuramente netta tra la situazione nei nostri mari e quella evidenziata nei mari di Sicilia è quella che riguarda lo spinarolo bruno che vede, nelle coste siciliane, un trend in crescita di questa specie, contrariamente ai nostri risultati.

Una panoramica delle tendenze riportate in letteratura suggerisce che, escludendo la specie tradizionalmente considerate rare (es. *D. licha*, *O. centrina* ecc.), la risposta alle attività di pesca non è sempre la stessa (Rogers e Ellis, 2000). Esistono alcune differenze di resilienza che potrebbero essere principalmente correlate con l'interazione tra diversi fattori (Jukic-Peladic *et al.*, 2000). I fattori più rilevanti possono includere: un intervallo preferenziale di profondità, le caratteristiche riproduttive e quelle trofiche (in particolare gli scavenger), la capacità di sopravvivenza dopo le operazioni di scarto, e il valore commerciale delle specie. Nonostante ciò, come evidenziato precedentemente, le specie costiere e profonde analizzate sembrano avere una risposta simile.

Anche se i risultati ottenuti sembrano evidenziare un apparante buono stato della risorsa nei mari di Sardegna, bisogna necessariamente migliorare la ricerca scientifica ed estenderla in futuro per poter così appurare l'andamento dello stato dei Condroidi, dato il rischio reale di estinzione a cui sono sottoposti (Bradai, 2012). Per avere un quadro generico più completo dello status della risorsa, i dati provenienti dalla pesca scientifica dovrebbero essere integrati con quelli provenienti dalla pesca commerciale e infine, come riportato da Fiorentino *et al.* (2011), la scarsità di conoscenze sulla distribuzione, sulla biologia ed ecologia di alcune specie, deve essere un punto di partenza fondamentale per migliorare la ricerca e estenderla possibilmente a tutte le aree del Mediterraneo. Migliorare la gestione della pesca a strascico, ad esempio, utilizzando reti selettive, cercare di proteggere le zone di nursery o le zone dove presumibilmente si verificano gli accoppiamenti protezione di riproduzione e vivai (no-take areas) o estendere i confini di aree marine protette già esistenti, potrebbero rappresentare possibili alternative (Walker, 2005), anche se tali strumenti di gestione richiederanno molto tempo per un efficace sperimentazione e la realizzazione e i risultati potrebbero essere non soddisfacenti se non verranno applicate una politiche rigorose.

CAPITOLO 5

LE SPECIE OVIPARE

Considerati i risultati ottenuti nel capitolo 4, tra le specie ovipare che abitano i mari di Sardegna abbiamo deciso di porre l'attenzione su quattro specie: il gattuccio boccanera *G. melastomus* e tre specie della famiglia Rajidae, *R. brachyura*, *R. miraletus* e *D. oxyrinchus* e analizzare la biologia riproduttiva.

Si è deciso, innanzitutto, di analizzare il gattuccio boccanera (Marongiu *et al.*, 2013a) non solo perchè è la seconda specie più abbondante e presente nei nostri mari e rappresenta una frazione molto elevata delle catture accessorie di specie pregiate come gamberi rossi e gamberi viola della famiglia Aristeidae (Di Natale *et al.*, 1995; Ragonese *et al.*, 2000), ma anche e soprattutto perchè gli squaliformi risentono notevolmente degli alti tassi di mortalità dovuti alla pesca e in particolare, questa vulnerabilità è maggiore negli ambienti batiali (in cui questa specie vive) dove le risorse alimentari sono scarse e limitate e le probabilità di accoppiamento sono scarse rispetto alle specie che abitano gli ambienti costieri.

Relativamente alle specie appartenenti all'ordine Rajiformes, un problema sempre più rilevante è diventato la valutazione dello stato della risorsa. Le loro popolazioni infatti stanno subendo notevoli pressioni, dovute sia alla loro predominanza come catture accidentali nella pesca demersale, sia all'azione della pesca selettiva (Walker e Heesen, 1996; Walker e Hislop, 1998; Stevens *et al.*, 2000; Gaichas *et al.*, 2003; Raje, 2006; Tamini *et al.*, 2006). Tali popolazioni risultano inoltre più vulnerabili alla pesca a strascico a causa delle loro grandi dimensioni e del loro stile di vita demersale. Tuttavia sono considerati più resilienti al sovrasfruttamento rispetto agli squaliformi (Stevens *et al.*, 2000) a causa della modalità riproduttiva adottata, l'oviparità, che li avvantaggia rispetto agli altri Elasmobranchi per via della maggiore fecondità che li caratterizza (Dulvy *et al.*, 2000). La disponibilità di informazioni biologiche aggiornate è essenziale per qualsiasi piano di gestione della pesca. L'analisi delle principali morfometrie, associati a studi sulla riproduzione e la crescita, risultano essere utili per migliorare le conoscenze relative a queste specie, specialmente in Mediterraneo dove le informazioni sono piuttosto scarse (Porcu *et al.*, 2014a).

Tra le specie della famiglia Rajidae si è deciso di focalizzare l'attenzione su *R. brachyura* (Porcu *et al.*, 2015), una specie commercialmente importante (seppur non abbondante quanto le altre specie di Rajidi presenti nei nostri mari) e per questo comunemente catturata; per

questi motivi si dovrebbe cercare di gestire al meglio questa risorsa che potrebbe subire un declino se la pressione di pesca dovesse aumentare.

Nel contesto Mediterraneo, le notizie relative alla biologia di *R. miraletus* sono riferite principalmente alla stima dell'età e all'accrescimento, (Abdel-Aziz *et al.*, 1987; Kadri *et al.*, 2012). Pochi studi sulla biologia riproduttiva (fecondità, taglia di prima maturità, ciclo riproduttivo) delle razza bruna, vengono riportati per le acque italiane, tunisine ed egiziane (Capapé e Quignard, 1975; Ungaro, 2004; Kadri *et al.*, 2012) e per questo motivo abbiamo scelto di studiare questa piccola razza e approfondire le conoscenze sulla biologia riproduttiva studiando anche approfonditamente la ghiandola oviducale delle femmine (Marongiu *et al.*, 2013b).

Anche le informazioni sulla biologia di *D. oxyrinchus* sono relativamente scarse, probabilmente a causa della difficoltà nel reperimento della specie per via della sua distribuzione batimetrica. In Mediterraneo vengono riportati dati relativi alle abitudini alimentari (Costa, 1991; Vannucci, 2005; Mulas *et al.*, 2015) e ad alcuni aspetti riproduttivi quali taglia di prima maturità (Stehmann, 1990; Serena *et al.*, 2010), periodo di deposizione (Stehmann e Burkel, 1984; Bauchot, 1987; Notarbartolo di Sciara e Bianchi, 1998; Serena, 2005), età di maturità sessuale, stima dell'età e analisi sull'accrescimento (Yigin e Ismen, 2010). Per questi motivi, anche per questa razza si è deciso di approfondire le conoscenze sulla biologia e strategia riproduttiva, indagando anche la microstruttura della ghiandola oviducale (Porcu *et al.*, 2013).

Infine, sempre per quanto riguarda le specie appartenenti alla famiglia Rajidae, si è deciso di fornire ulteriori informazioni riguardo alla morfologia e morfometrie delle capsule ovigere (Marongiu *et al.*, 2014) delle sei specie più presenti nei mari sardi (*D. oxyrinchus*, *R. asterias*, *R. brachyura*, *R. clavata*, *R. miraletus* e *R. polystigma*) in modo tale da poter istituire una tavola dicotomica utile per il riconoscimento in mare delle stesse, qualora vengano reperite nelle reti da pesca, e poter quindi approfondire i dati riguardanti alla distribuzione spaziale e temporale delle specie e identificare eventualmente le aree di nursery.

5.1 *Galeus melastomus* Rafinesque, 1810



REGNO	Animalia
PHYLUM	Chordata
SUBPHYLUM	Vertebrata
SUPERCLASSE	Gnathostomata
CLASSE	Chondrichthyes
SUPERORDINE	Galeomorpii
ORDINE	Carcharhiniformes
FAMIGLIA	Scyliorhinidae
GENERE	Galeus
SPECIE	<i>Galeus melastomus</i>

Questo piccolo gattuccio oviparo risulta essere ampiamente distribuito nel nord-est Atlantico, dal sud-ovest dell'Islanda e di Trondheim, dal sud della Norvegia al Senegal, comprese le isole Fær Øer, le isole britanniche, le Azzorre, e la parte settentrionale della dorsale medio-atlantica. Si ritrova nel Mar Mediterraneo, eccetto le acque del nord dell'Adriatico e del Mar Egeo ed è assente dal Mar Nero (Serena *et al.*, 2003). Questa specie vive preferenzialmente nella scarpata continentale, a profondità tra 150 e 1.400 m. La sua presenza è stata documentata sia in acque poco profonde sui 50-60 m al largo del sud della Francia, sia in acque molto profonde tra 2300 e 3850 m nel Mediterraneo orientale (Ragonese *et al.*, 2009). Le profondità più comuni alle quali possiamo ritrovare questa specie nelle diverse regioni sono, ad esempio, 300-500 m nel Golfo di Biscaglia (Olaso *et al.*, 2005), 400-800 m al largo del Portogallo (Costa *et al.*, 2005), 500-800 m nel Canale di Sicilia (Ragonese *et al.*, 2009), 1000-1400 m nel Mar Catalano (Carrassón *et al.*, 1992) e 1500-1830 m nella parte orientale del Mediterraneo (Jones *et al.*, 2003). A differenza di molti congeneri, *G. melastomus* presenta un'oviparità multipla, in cui più di un uovo può maturare all'interno di ogni ovidotto simultaneamente. Le femmine possono contenere fino a 13 uova in via di sviluppo, anche se è tipico ritrovarne da 1 a 4 in ciascun ovidotto (Compagno, 1984; Ragonese *et al.*, 2009). Il numero di uova deposte da ogni femmina all'anno è stato stimato tra 60 e 100, aumentando in proporzione all'aumentare della dimensione del corpo (Capapé e Zaouali, 1977). Nelle femmine mature è funzionale solo l'ovario destro. Le capsule hanno un bordo sottile lungo i margini laterali; l'estremità anteriore è squadrata, con un paio di corna tozze a spirale agli

angoli; mentre la parte posteriore è arrotondata. Innocuo per l'uomo e di scarso valore economico (Froese *et al.*, 2010), il boccanera è generalmente catturato nella pesca a strascico commerciale e a palangari. Questa specie risulta essere estremamente abbondante in numerose aree e i dati di rilevamento dei campionamenti e della pesca non hanno mostrato nessun segno di declino della popolazione complessiva. Infatti, la sua distribuzione a varie profondità gli garantisce probabilmente una certa protezione contro la pesca unitamente al divieto sulla pesca a strascico a profondità superiori di 1000 m nel Mediterraneo (Regolamento del Consiglio Europeo 1967/2006) (Serena *et al.*, 2003; Ragonese *et al.*, 2009). Pertanto, l'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN) ha inserito *G. melastomus* nelle liste rosse come "least concern" (LC) (Serena *et al.*, 2003).

Risultati

Un totale di 1207 esemplari di *G. melastomus* (717 femmine e 490 maschi) sono stati analizzati a profondità comprese tra 120 e 1600 m. Il rapporto fra sessi si è mostrato leggermente a favore delle femmine presentando differenze statisticamente significative (S.R. = 0.6, $\chi^2 = 17,63$; P-value < 0,05).

Le femmine hanno presentato un intervallo di LT compreso fra 11 e 53 cm (media LT = $34,6 \pm 9,9$ cm), mentre i maschi hanno presentato un intervallo tra 11 e 59 cm (è stato preso un solo esemplare maschio di tale lunghezza) (media LT = $32,1 \pm 10,1$ cm) (Fig. 13). Il test statistico di Kolmogorov-Smirnov non ha messo in evidenza alcuna differenza significativa fra i due sessi (P-value > 0.05).

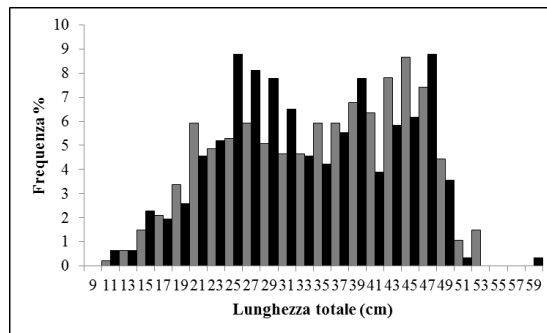


Figura 13. Distribuzione percentuale delle lunghezze totali della popolazione maschile (in nero) e femminile (in grigio) di *Galeus melastomus*.

Le relazioni taglia-peso sono risultate essere espresse dall'equazione $PT = 0.0022 * TL^{3.0663}$ ($r^2 = 0.99$) per le femmine (Fig. 12A) and $PT = 0.0019 * TL^{3.1063}$ ($r^2 = 0.99$) per i maschi (Fig. 14B). Gli esponenti delle due regressioni hanno presentato valori significativamente differenti da 3 (> 3) esibendo un'allometria positiva. Alcune differenze statisticamente significative è stata riscontrata fra le pendenze "b" nei due sessi (test ANOVA, P-value < 0.05).

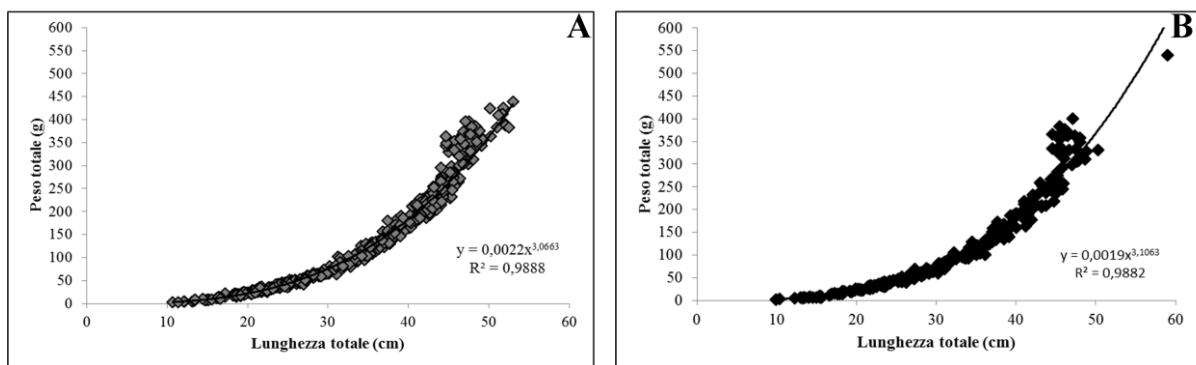


Figura 14. Relazione tra la lunghezza totale (LT) e il peso (PT) della popolazione femminile (A) e maschile (B) di *Galeus melastomus*.

La figura 15 mostra la media delle lunghezze totali della popolazione di *G.melastomus* per strati batimetrici con intervallo di 200 m. E' evidente come nelle batimetrie meno profonde e fino ai 900 m si concentrano individui con LT che non superano i 32 cm Negli strati superiori ai 900 m la lunghezza media aumenta (39,5±5,2 cm, media ±DS) per rimanere piuttosto costante fino al penultimo intervallo di profondità (1300-1500 m); nello strato batimetrico più profondo, invece, si ha la LT media più elevata pari a 42 cm (± 4,16 cm).

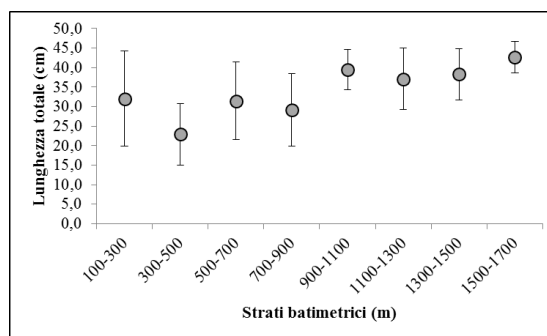


Figura 15. Lunghezza media della popolazione di *Galeus melastomus* in relazione alla batimetria.

Relativamente alla distribuzione dei due sessi in base alla profondità (Tab. 8), si osserva che negli strati batimetrici inferiori dei 100-300 m (SR= 0,68) e di 300-500 m (SR= 0,62), la sex ratio è sempre leggermente a favore delle femmine, mentre negli strati batimetrici intermedi tra 500-700 m (SR= 0,47) e 700-900 m (SR= 0,40) la sex ratio è a favore degli esemplari maschili. Oltre i 900 m, invece, la popolazione femminile si distribuisce maggiormente rispetto a quella maschile con un loro aumento proporzionale all'aumentare della profondità. Il test del χ^2 (Tab. 9) ha messo in luce che negli strati batimetrici tra i 100 e 1100 m la sex ratio non presenta differenze significative (P-value < 0,05), mentre dai 1100 m ai 1700 m esistono differenze rilevanti.

Tabella 9. Sex ratio della popolazione di *Galeus melastomus* con relativi valori del χ^2 e p-value. PROF (profondità strati batimetrici); TOT (n° esemplari totale per strato batimetrico); F (n° esemplari femminili per strato batimetrico); M (n° esemplari maschili per strato batimetrico).

PROF (m)	TOT	F	M	SEX RATIO	χ^2	P-value
100-300	31	21	10	0,68	2,02	> 0,05
300-500	113	70	43	0,62	3,27	> 0,05
500-700	290	137	153	0,47	0,44	> 0,05
700-900	5	2	3	0,40	0,1	> 0,05
900-1100	84	44	40	0,52	0,1	> 0,05
1100-1300	120	81	39	0,68	7,58	< 0,05
1300-1500	130	112	18	0,86	39,09	< 0,05
1500-1700	7	7	0	1	4,67	< 0,05

Stadi maturativi e istologia dell'ovario

Dall'analisi macroscopica dell'apparato riproduttore delle femmine di *G. melastomus*, durante il loro ciclo biologico, si sono identificati 6 stadi di maturità sessuale in accordo con le scale utilizzate (Tab. 10), che hanno trovato un pieno riscontro con l'analisi istologica.

Negli esemplari immaturi (Stadio 1) Il tessuto ovarico è costituito da follicoli in previtellogenesi precoce (50-100 μm), collegati all'epitelio germinale e alla tunica albuginea. L'epitelio follicolare che circonda il follicolo è singolo e costituito principalmente da cellule squamose (Fig. 16A). Negli esemplari in sviluppo (Stadio 2) l'ovario contiene follicoli in tardiva previtellogenesi di dimensioni maggiori rispetto allo stadio precedente (~500 μm). L'epitelio follicolare risulta essere monostratificato e nel citoplasma sono visibili inclusioni lipidiche (Fig. 16B). Finalmente, negli esemplari maturi (Stadio 3a e 3b), l'ovario presenta follicoli in tutte le fasi di sviluppo, ma con una netta predominanza di quelli vitellogenici. Questi ultimi, di elevate dimensioni (fino a 3000 μm), presentano gocce di vitello proteico nel citoplasma (Fig. 16C). Le femmine in regressione (Stadio 4A) presentano follicoli postovulatori e atresici in cui appare collassata la lamina basale che invade il lume centrale (Fig. 16D). Infine nelle femmine in fase di rigenerazione (Stadio 4B) l'ovario mostra follicoli previtellogenicici molto simili a quelli ritrovati nello Stadio 2 (Fig. 16E).

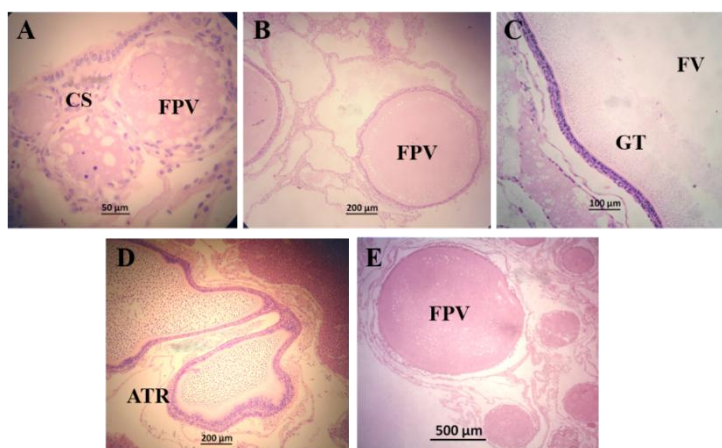
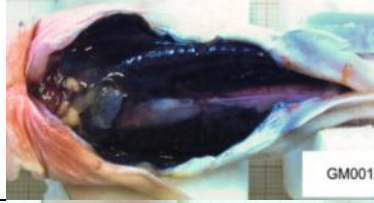
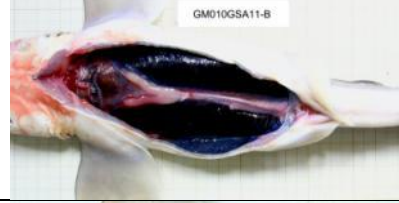








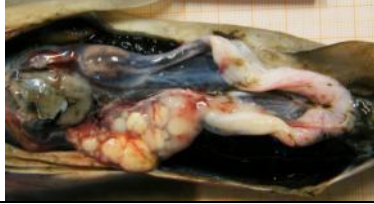


Figura 16. Follicoli previtellogenicici (FPV) circondati dall'epitelio follicolare costituito da cellule squamose (CS) (A); follicolo in tarda previtellogenesi (FPV) in cui sono visibili gocce lipidiche (B); follicolo vitellogenicico (FV) in cui sono visibili gocce di tuorlo (GT) (C); follicolo atresico (ATR) dove si nota la lamina basale collassata (D) e follicoli previtellogenicici (FPV) di varie dimensioni in una femmina in rigenerazione (E).

Tabella 10. Scala di maturità macroscopica di *G. melastomus*.

FEMMINE		MASCHI	
Stadio 1 IMMATURO		Stadio 1 IMMATURO	
Stadio 2 IN SVILUPPO		Stadio 2 IN SVILUPPO	
Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI		Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI	
Stadio 3B IN DEPOSIZIONE		Stadio 3B ATTIVO	
Stadio 4A IN REGRESSIONE		Stadio 4 IN REGRESSIONE	
Stadio 4B IN RIGENERAZIONE			

Stadi maturativi e istologia del testicolo

Come riscontrato per gli esemplari femminili, anche in quelli maschili sono stati individuati i 5 stadi di maturità in accordo con la scala seguita (Tab. 10) e confermati dall'analisi istologica. Negli individui immaturi (Stadio 1) i testicoli contenevano spermatocisti aventi spermatogoni in prevalenza (Fig. 17A) e spermatociti primari e secondari. Negli individui in sviluppo (Stadio 2) i testicoli contengono spermatocisti in tutte le fasi della spermatogenesi: in genere gli spermatociti secondari sono i più abbondanti, ma spermatidi e spermatozoi (Fig. 17B, C) costituiscono una frazione importante del testicolo. Nei maschi maturi (Stadio 3A e 3B) i testicoli contengono spermatocisti in tutte le fasi di sviluppo. Le spermatocisti contenenti spermatidi e spermatozoi sono molto abbondanti ed occupano una grossa porzione della sezione testicolare; gli spermatozoi sono disposti in fascetti e le cellule del Sertoli si collocano tra di essi (Fig. 17D). Infine, gli esemplari cosiddetti in regressione (Stadio 4A) mostrano spermatocisti svuotate dagli spermatozoi e che si possono ritrovare liberi e disaggregati tra un lobulo e l'altro. (Fig. 17E, F).

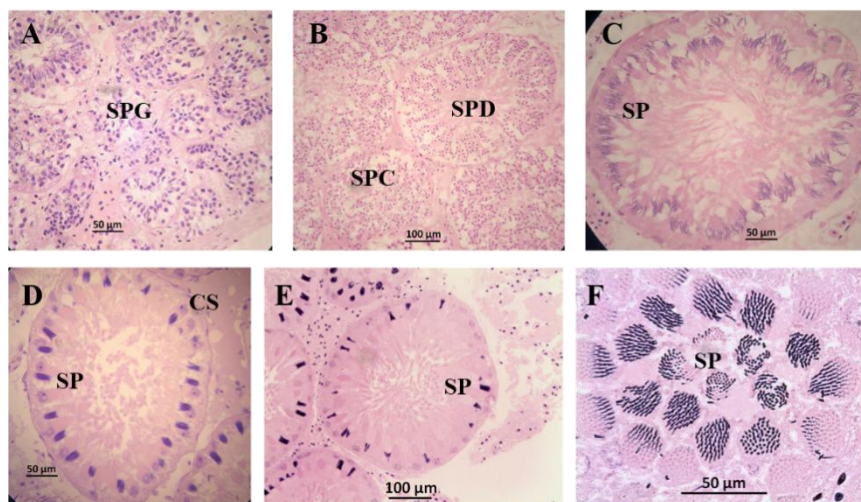


Figura 17. Stadi della spermatogenesi in *Galeus melastomus*: (A) Spermatogoni (SPG), (B) spermatocisti con, al loro interno, spermatociti (SPC) e spermatidi (SPD), (C) lobulo contenente spermatozoi (SP) e cellule del Sertoli (CS) situate alla periferia in una fase ancora immatura alla periferia; (D) spermatozoi (SP) maturi e cellule del Sertoli (CS) presenti tra di essi visibili nella fase matura; (E) spermatocisti svuotate dove sono visibili pochi fasci di spermatozoi (SP); (F) spermatozoi (SP) disaggregati situati tra i lobuli testicolari.

Maturità

Le ghiandole dell'ovidotto hanno mostrato un netto incremento in ampiezza con l'avanzare della maturità sessuale (a partire dallo stadio 2). Nello specifico, considerando la relazione tra lunghezza corporea e larghezza delle ghiandole dell'ovidotto, infatti, è osservabile incremento piuttosto rapido delle dimensioni delle ghiandole all'aumentare delle taglie (Fig. 18A). Sono state riscontrate differenze statisticamente nei diversi stadi maturativi (ANOVA, $F=23.15$; $P\text{-value} < 0.05$). La stessa relazione è apprezzabile anche per quanto riguarda lo sviluppo degli pterigopodi che si accrescono man mano che l'individuo avanza verso la piena maturità (Fig.18B) (ANOVA, $F=73.44$, $P\text{-value} < 0.05$). Lo sviluppo in lunghezza degli organi copulatori, tuttavia, risulta essere lento rispetto a quello delle ghiandole dell'ovidotto.

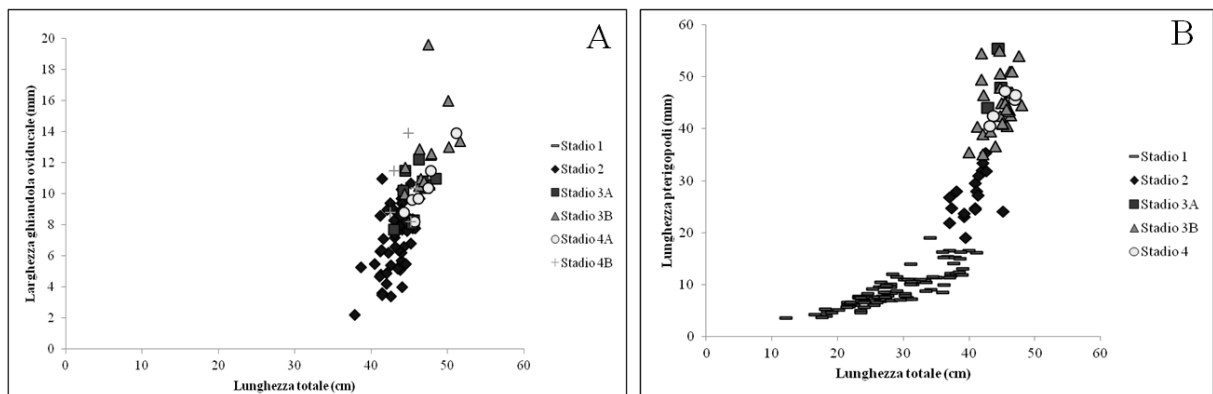


Figura 18. A) Relazione tra la lunghezza totale (LT) e la larghezza della ghiandola dell'ovidotto (LGO) delle femmine di *Galeus melastomus*. B) Relazione tra la lunghezza totale (LT) e la lunghezza degli pterigopodi (LP) dei maschi di *Galeus melastomus*.

Gli esemplari femminili maturi (LT= 40.8-53 cm) di *Galeus melastomus* hanno riportato un valore della taglia di prima maturità sessuale (L_{50}) pari a 45 cm ($r^2= 0,78$) (Fig. 19A), mostrando un range compreso tra 40.8 – 53 cm. Gli esemplari maschili mostrano una taglia di prima maturità (L_{50}) inferiore rispetto alle femmine con un valore pari a 42,4 cm ($r^2= 0,98$) (Fig. 19B) con un range che varia da 40.7 a 59 cm.

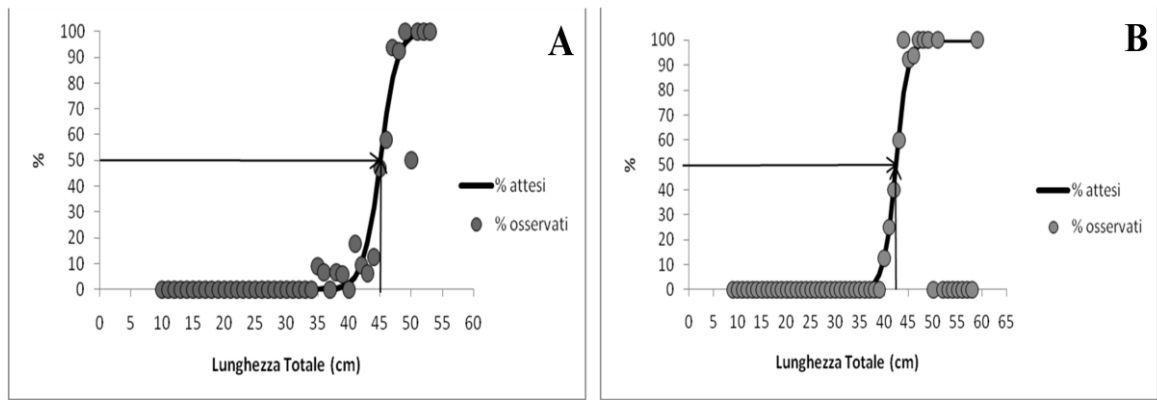


Figura 19. Taglia di prima maturità sessuale degli esemplari femminili (A) e maschili (B) di *Galeus melastomus*.

Periodo riproduttivo

Durante il periodo di campionamento tutti gli stadi maturativi sono stati registrati con alcune variazioni. In particolare, per quanto riguarda le femmine, una predominanza di esemplari immaturi è stata osservata durante tutto l'anno. Le femmine mature sono state campionate anch'esse tutto l'anno, ma quelle con le capsule ovigere sembrano mostrare un picco in inverno, primavera ed estate (Fig. 20A). Come le femmine, anche i maschi immaturi sono risultati essere predominanti in tutte le stagioni. Esemplari maturi sono stati trovati in inverno, primavera ed estate così come i riproduttori che hanno mostrato le percentuali maggiori in estate, primavera ed inverno (Fig. 20B).

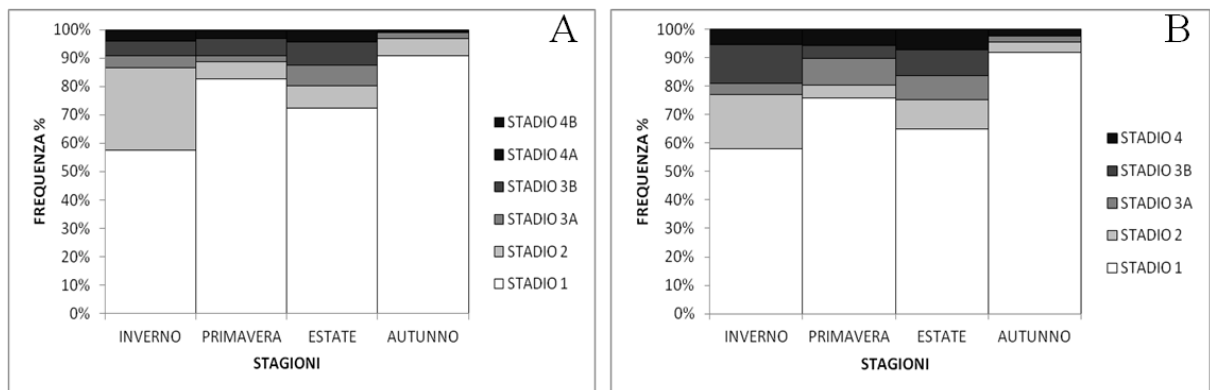


Figura 20. Distribuzione delle frequenze percentuali degli stadi maturativi di femmine (A) e maschi (B) di *Galeus melastomus* nel corso delle stagioni.

L'analisi dell'indice gonado-somatico applicata agli esemplari in via di maturazione e maturi durante tutto l'anno ha mostrato che le femmine hanno raggiunto il valore più alto durante la primavera e l'estate (Fig. 21A). Il test ANOVA ha messo in evidenza differenze statisticamente significative fra i valori IGS per le 4 stagioni messe a confronto (F-ratio=6.26,

P-value<0.05). Nei maschi, i valori dell'IGS (Fig. 21B) si sono mostrati piuttosto simili durante tutto il corso dell'anno anche se i valori più alti sono stati registrati in primavera ed estate (ANOVA, F-ratio= 4.41, P-value<0.05).

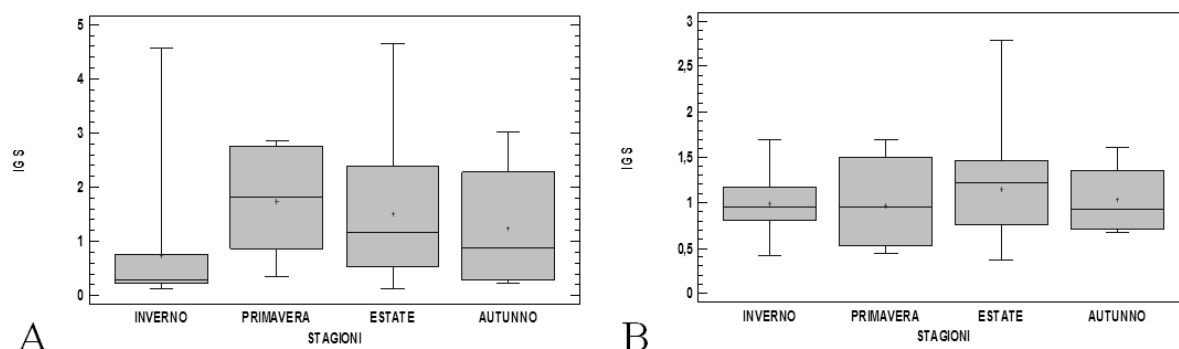


Figura 21. Valori dell' Indice Gonado-Somatico della popolazione femminile (a) e maschile (b) di *Galeus melastomus*.

Fecondità

La fecondità ovarica nelle femmine mature di *G. melastomus* è variata tra 5-14 follicoli maturi nell'unico ovario funzionante (il destro) ($7,9 \pm 3,6$ follicoli maturi, media \pm D.S.). Il diametro dei follicoli vitellogenici è variato tra 9,8-44,7 mm con una dimensione media di 10,2 mm ($\pm 3,3$ D.S. millimetri).

Conclusioni

La popolazione di *G. melastomus*, distribuita tra i 100 e i 1700 m, ha presentato un range di taglie compreso tra 11 cm e 59 cm; la taglia massima è mediamente simile a quella riportata per il Mediterraneo (Ragonese *et al.*, 2009), ma leggermente inferiore a quelle dell'Oceano Atlantico (coste meridionali del Portogallo, Costa *et al.*, 2005). La specie ha inoltre mostrato uno spiccato dimorfismo sessuale, in accordo con altri studi effettuati in Mediterraneo (Rinelli *et al.*, 2005; Ragonese *et al.*, 2009) e in Atlantico (Costa *et al.*, 2005), con le femmine che raggiungono dimensioni maggiori rispetto ai maschi, caratteristica piuttosto comune negli squalidi (Jakobsdottir, 2001; Clarke *et al.*, 2002; Sion *et al.*, 2003): le prime hanno infatti mostrato una LT media di 34,6 cm contro i 32,1 cm dei maschi.

I campioni di *G. melastomus* hanno, inoltre, mostrato, nei mari di Sardegna, una distribuzione verticale preferenziale tra i 500 e i 700 m dove viene ritrovata la maggior parte degli individui aventi taglie sempre inferiori a 32 cm. Con l'aumentare della profondità diminuisce l'abbondanza degli esemplari, ma di contro aumenta la loro taglia (42 cm), per cui si può ipotizzare che ci sia una differente distribuzione dei giovanili e dei sub-adulti rispetto agli

adulti che si localizzano preferenzialmente, i primi due nelle fasce batimetriche meno profonde, mentre i secondi abitano a profondità superiori. Uno studio effettuato da Fanelli *et al.* (2009) nel Mediterraneo occidentale conferma quanto detto giustificando questa differente distribuzione con il fatto che a profondità inferiori si concentrano prede piccole, mentre a profondità superiori si ritrovano prede di dimensioni maggiori che solo gli adulti possono cacciare.

La distribuzione per sessi del boccanera ha messo in evidenza, inoltre, una leggera abbondanza delle femmine rispetto ai maschi, con differenze statisticamente significative, in contrasto con quanto riportato per il Mediterraneo sud-occidentale (Rey *et al.*, 2005), ma in accordo con i risultati dell'Atlantico (Costa *et al.*, 2005). Se si considera la sex-ratio per classi di taglia si nota che è quasi sempre a favore delle femmine con una netta dominanza di queste dalla classe di 47 cm in poi e lo stesso trend si osserva anche per quanto riguarda la distribuzione delle taglie e dei sessi in base alla profondità.

L'osservazione macroscopica dell'apparato riproduttore ha permesso l'identificazione, in entrambi i sessi, di tutti gli stadi maturativi sulla base delle dimensioni e della struttura delle gonadi, confermati pienamente dall'analisi istologica. Lo sviluppo delle ghiandole dell'ovidotto, nelle femmine, e degli pterigopodi, nei maschi, si sono rivelati, inoltre, un valido supporto nell'identificazione degli stadi di maturità poiché si è osservato che esiste una relazione tra la loro evoluzione, l'incremento della lunghezza degli individui e l'avanzare della maturità sessuale.

Wourms (1977) identificò tre diversi tipi di cicli riproduttivi nei Condroitti: (1) una riproduzione continua durante tutto l'anno; (2) un ciclo annuale avente uno o due picchi riproduttivi; (3) un ciclo annuale o biennale ben definito. I risultati dell'evoluzione stagionale delle percentuali degli stadi maturativi hanno suggerito che l'accoppiamento e la deposizione delle capsule in *G. melastomus*, nei mari circostanti la Sardegna, si verificano durante tutto l'anno data la presenza di esemplari maturi e in deposizione in tutte le stagioni (analogamente ad altre zone del Mediterraneo, Rinelli *et al.*, 2005), e che in inverno ed in estate sembrano presentare due picchi dell'attività riproduttiva come ritrovato nelle popolazione atlantiche da Costa *et al.* (2005); questi risultati sono stati ampiamente confermati anche dall'andamento stagionale dei valori dell'IGS. Le femmine mature hanno mostrato un intervallo di taglie compreso tra 40,8 e 53 cm e i maschi tra 40,7 e 59 cm. La taglia di prima maturità sessuale (L_{50}) di entrambi i sessi è risultata piuttosto tardiva con i maschi che raggiungano la maturità a taglie ($L_{50}=42,4$ cm) inferiori rispetto alle femmine ($L_{50}=45$ cm), come riportato in altri studi (Costa *et al.*, 2005; Rey e Sola, 2005; Ragonese *et al.*, 2009).

Le femmine mature, inoltre, hanno presentato una bassa fecondità con una media di circa 8 uova e non più di 5 capsule ovigere per individuo, in linea con quanto già riportato in letteratura (Compagno, 1984; Ragonese *et al.*, 2009).

Concludendo, il gattuccio boccanera, date le caratteristiche della biologia riproduttiva analizzate in questo studio, si è mostrato essere una specie poco resiliente che non sarebbe in grado di recuperare in caso di un'improvvisa e drastica riduzione della popolazione se lo sforzo di pesca dovesse aumentare.

5.2 *Raja brachyura* Lafont, 1871



REGNO	Animalia
PHYLUM	Chordata
SUBPHYLUM	Vertebrata
SUPERCLASSE	Gnathostomata
CLASSE	Chondrichthyes
SUPERORDINE	Hypotremata
ORDINE	Rajiformes
FAMIGLIA	Rajidae
GENERE	Raja
SPECIE	<i>Raja brachyura</i>

La razza bionda *Raja brachyura* Lafont, 1873 è una specie bentonica che mostra una netta preferenza per i fondali sabbiosi della piattaforma continentale superiore (Serena, 2005). E' distribuita nella parte nordorientale dell'Atlantico dalla Norvegia fino al Marocco e nel Mediterraneo occidentale (Ellis *et al.*, 2005, Serena *et al.*, 2010). In generale, è considerata una specie non comune nel Mediterraneo (Matallanas, 1974, Serena, 2005), ma le ultime osservazioni di Follesa *et al.* (2003, 2010), Catalano *et al.* (2007) e Ragonese *et al.* (2003) indicano che le coste della Sardegna e della Sicilia occidentale rappresentano una zona del bacino dove *R. brachyura* è relativamente abbondante. Tuttavia, la lista rossa IUCN la classifica, a livello mondiale, come quasi a rischio (NT, Near Threatened) (Ellis *et al.*, 2009), e specificatamente per il Mar Mediterraneo, come Data Deficient (Cavanagh e Gibson, 2007). La razza bionda è una specie commercialmente importante e per questo è comunemente catturata (Catchpole *et al.*, 2007). A volte la sua cattura è incentrata soprattutto in quelle aree dove risulta più abbondante, ma è normalmente pescata come cattura accessoria specialmente dalla pesca demersale utilizzando reti da traino, reti da posta e palangari (Gibson *et al.*, 2006). Gli studi sulla biologia di questa specie sono stati effettuati principalmente nell'Oceano Atlantico nord-orientale. Essi si sono concentrati sui tassi di crescita e l'età (Holden, 1972;

Fahy, 1991; Gallagher *et al.*, 2005;. Serra-Pereira *et al.*, 2005a.), fattori di conversione (Dorel, 1986; Serra-Pereira *et al.*, 2010; McCully *et al.*, 2012), alcuni aspetti riproduttivi (Clarke, 1922; Holden *et al.*, 1971; Gallagher *et al.*, 2005; McCully *et al.*, 2012) e sulla dieta (Holden e Tucker, 1974;. Farias *et al.*, 2005). Tuttavia, le informazioni sulla sua biologia generale nel Mediterraneo sono molto limitate. Nei decenni precedenti, il trofismo di *R. brachyura* è stato studiato da Quiniou e Rabarison Andriamirado (1979), mentre di recente, solo Catalano *et al.* (2007) hanno dato informazioni sulla riproduzione, sulla struttura della popolazione e sulle abitudini alimentari e, in particolare, Follesa *et al.* (2010) riguardo alla sua dieta nei mari sardi. Fornire informazioni sulla maturità di questi esemplari, l'accoppiamento e il periodo di deposizione, nonché individuare il periodo riproduttivo sulla base di cambiamenti morfologici degli organi riproduttivi durante la maturazione e stimare l'ogiva maturativa per entrambi i sessi, risulta essere importante per fornire dati ulteriori su questa specie in Mediterraneo. I risultati ottenuti sono stati in seguito confrontati con i dati precedentemente pubblicati per valutare se questa specie può presentare strategie riproduttive regionali specifiche nelle acque europee. La stima di questi parametri sarà importante per un'eventuale gestione futura di questa specie commercialmente sfruttata e così importante nel Mediterraneo.

Risultati

Un totale di 1792 esemplari di *R. brachyura* sono stati catturati e misurati: 862 erano femmine e 930 maschi; maschi e femmine sono risultati essere distribuiti equamente ($SR = 0,52$, $\chi^2 = 1.29$, $P\text{-value} > 0.05$).

La taglia delle femmine è variata tra 13,1-105,5 cm di LT, mentre la massa corporea tra 5,8-9145 g, mentre i maschi hanno mostrato taglie comprese tra 12-96,5 cm di LT (Fig. 22) con una massa corporea compresa tra 6,37-7.912 g. Anche sugli esemplari maschili e femminili hanno mostrato un range di taglie generalmente simile, sono state rilevate differenze significative tra di essi (test di Kolmogorov Smirnov, $P\text{-value} < 0.05$).

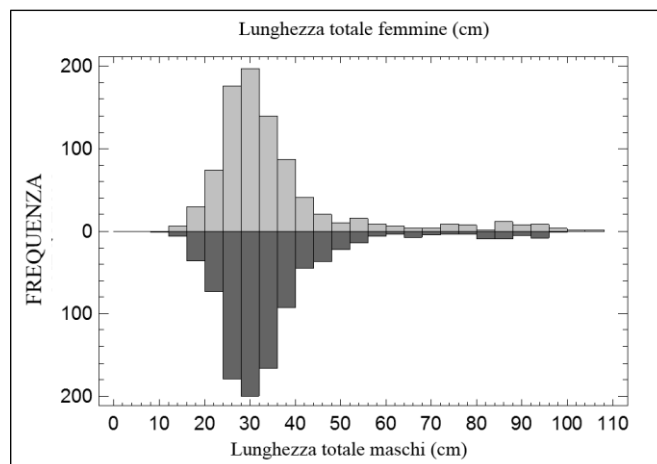


Figura 22. Distribuzione delle taglie degli esemplari femminili e maschili di *Raja brachyura*.

La lunghezza totale e la larghezza del disco sono risultati essere correlati linearmente (Fig. 23A, B) e differenze statisticamente significative sono state rilevate tra i sessi (ANOVA, $F\text{-ratio} = 245.594,76$, $P\text{-value} = 0$). I rapporti LT-LAD trovati in maschi e femmine erano rispettivamente: $LAD = 0,7216 * LT^{-0,8588}$ ($r^2 = 0,99$) e $LAD = 0,7104 * LT^{-0,5726}$ ($r^2 = 0,99$).

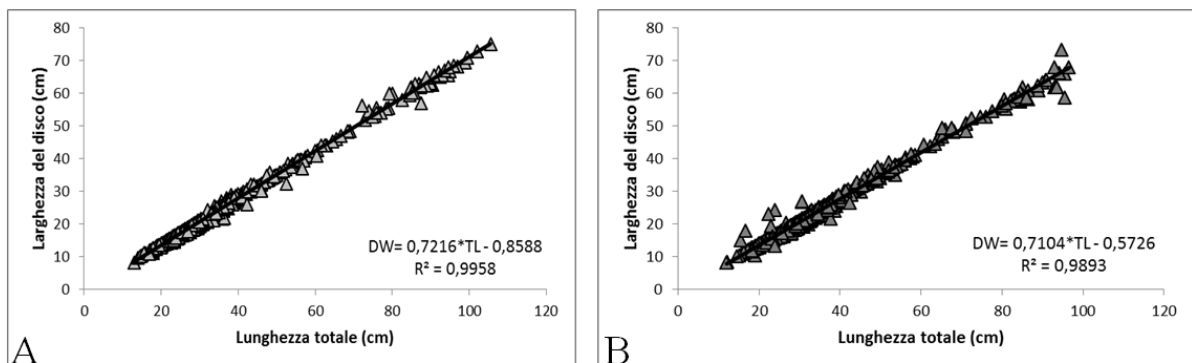


Figura 23. Relazione tra la lunghezza e la larghezza del disco negli esemplari femminili (A) e maschili (B) di *R. brachyura*.

Anche il rapporto tra la lunghezza e il peso totale (LT-PT) (Fig. 24A, B) tra i sessi differiva significativamente (ANOVA, F-ratio = 38.285, P-value = 0). La relazione tra questi due parametri, in femmine e maschi, è risultata essere espressa dalle seguenti equazioni: femmine ($PT = 0,0012 * LT^{3,4394}$, $r^2 = 0,98$), maschi: $PT = 0,0014 * LT^{3,3765}$, $r^2 = 0,97$.

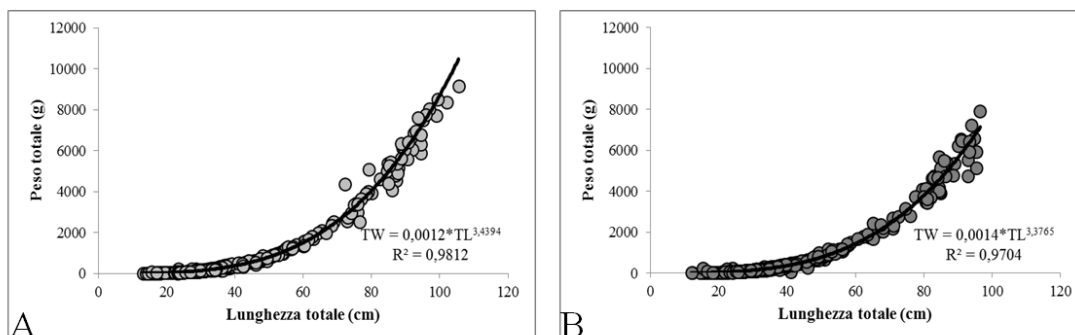


Figura 24. Relazione tra la lunghezza e peso totale negli esemplari femminili (A) e maschili (B) di *R. brachyura*.

Maturità

L'osservazione macroscopica dell'apparato riproduttore degli esemplari di *R. brachyura* ha permesso l'identificazione di 5 stadi sia per le femmine che per i maschi (Tab. 10).

E' stato osservato un chiaro incremento delle taglie associato all'evoluzione delle diverse fasi di maturità. Le femmine immature variavano tra 13,1-84,5 cm LT (n = 812), le femmine in sviluppo tra 53-92 cm LT (n = 23), le femmine mature tra 85-105,5 cm LT (n = 18) e infine, quelle in fase di "rigenerazione" tra 84,8-90,8 cm LT (n = 8) (Figura 23). I maschi immaturi hanno mostrato taglie comprese tra 12-71,1 cm LT (n = 875), quelli in via di maturazione tra 45.4 e 80 cm LT (n = 20), i maschi maturi avevano un range compreso tra 77,5-96,5 cm LT (n = 29) e infine, quelli "a riposo" avevano un range compreso tra 74,6-95,5 cm LT (n = 6) (Fig. 25). Sono state rilevate differenze statisticamente significative tra le lunghezze in ogni fase di maturità sia per i maschi (test Kruskal-Wallis, P-value <0.001) che per le femmine (test Kruskal-Wallis, P-value <0,001).

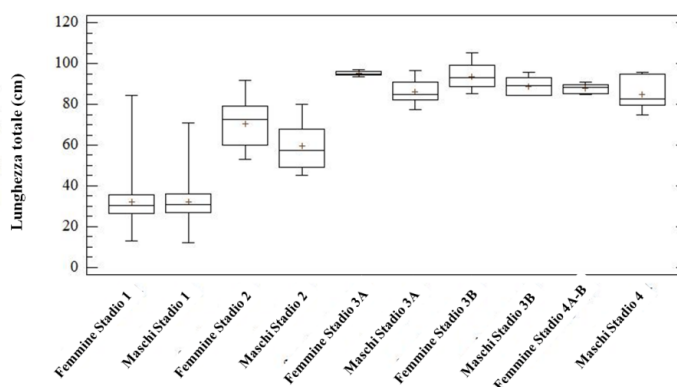
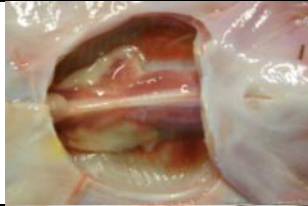

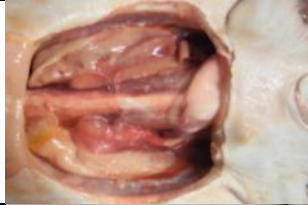
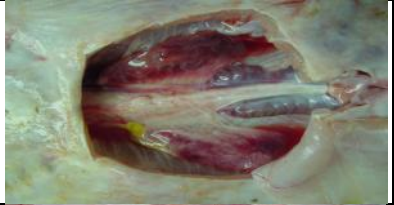




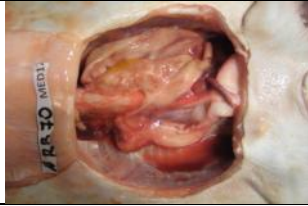



Figura 25. Lunghezze medie totali della popolazione femminile e maschile di *R. brachyura* per ogni stadio maturativo.

Tabella 11. Scala di maturità macroscopica di *R. brachyura*.

FEMMINE		MASCHI	
Stadio 1 IMMATURO		Stadio 1 IMMATURO	
Stadio 2 IN SVILUPPO		Stadio 2 IN SVILUPPO	
Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI		Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI	
Stadio 3B IN DEPOSIZIONE		Stadio 3B ATTIVO	
Stadio 4A IN REGRESSIONE		Stadio 4 IN REGRESSIONE	
Stadio 4B IN RIGENERAZIONE			

Si è inoltre osservato come la larghezza della ghiandola oviducale (LGO) aumenta con l'aumentare delle taglie e della fase maturativa (Fig. 26A). La crescita della ghiandola è apparsa lenta negli individui immaturi e in maturazione, ma in seguito ha subito una crescita repentina nelle fasi mature 3A e 3B. Sono state rilevate differenze statisticamente significative tra la LGO in tutte le fasi maturative, ad eccezione per gli stadi 3A e 3B (ANOVA, F-ratio = 205,6, P-value = 0).

Analogamente allo sviluppo della ghiandola oviducale, il rapporto tra la lunghezza degli pterigopodi e la lunghezza totale ha mostrato come, inizialmente, questi organi tendano a crescere lentamente, con una successiva crescita repentina all'inizio della maturazione (a circa 80 centimetri TL) (Fig. 26 B). Differenze statisticamente significative sono state trovate tra le lunghezze degli pterigopodi in tutte le fasi maturative, ad eccezione tra la fase 3A e 4 (ANOVA, F-ratio = 1.023,54, P-value = 0).

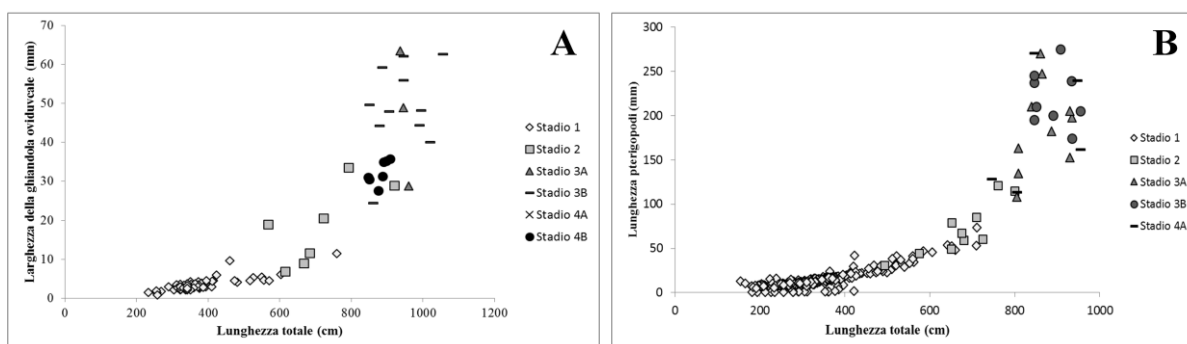


Figura 26. Relazione tra la lunghezza totale e larghezza della ghiandola oviducale nelle femmine (A) e la lunghezza degli pterigopodi nei maschi (B) di *R. brachyura*.

Taglia di prima maturità

Le femmine hanno maturato a taglie superiori rispetto ai maschi mostrando una taglia di prima maturità rispettivamente di 85 cm per le femmine e 74,6 cm per i maschi. La taglia stimata alla maturità (L_{50}) si aggira sugli 87,2 centimetri LT (D.S.= 22,8 cm) per le femmine e 80,8 centimetri LT (D.S. = 12.9) per i maschi (Fig. 27 A, B), raggiungendola rispettivamente al 83% e al 83,7% della dimensione massima osservata. I più grandi individui immaturi di *R. brachyura* osservati erano un maschio di 80 centimetri LT e una femmina di 87,3 centimetri LT.

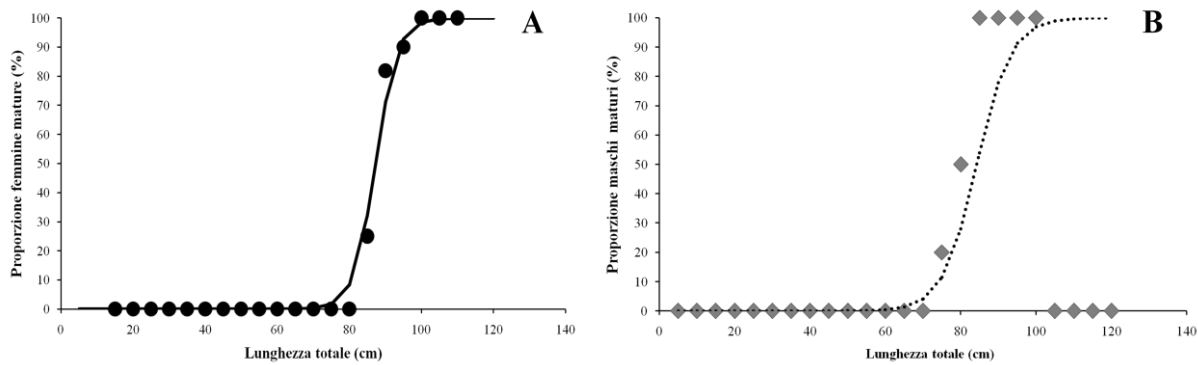


Figura 27. Taglia di maturità delle femmine (A) e maschi (B) di *R. brachyura*.

In figura 28 viene mostrata la frequenza percentuale degli stadi maturativi maschili e femminili durante il corso delle stagioni.

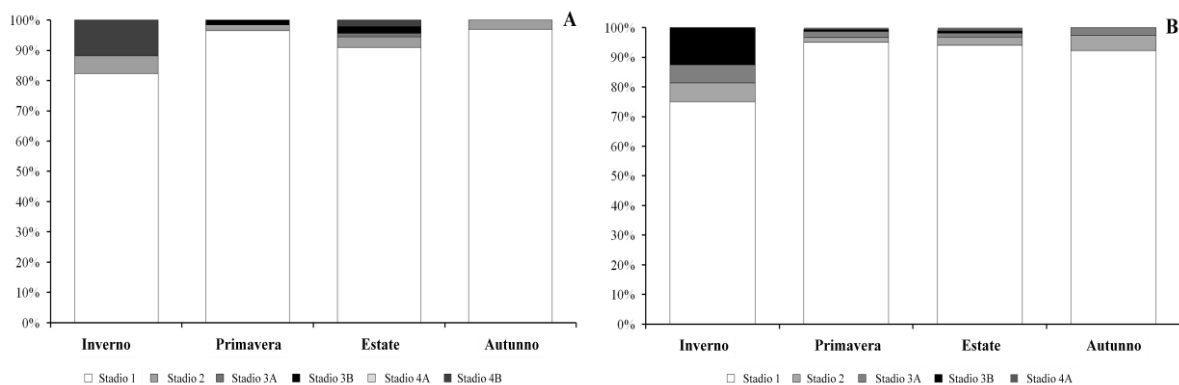


Figura 27. Frequenza percentuale degli stadi maturativi nella popolazione femminile (A) e maschile (B) di *R. brachyura*.

Durante il periodo di campionamento tutti gli stadi maturativi sono stati registrati con alcune variazioni. In particolare, per quanto riguarda le femmine, una predominanza di esemplari immaturi è stata osservata durante tutto l'anno. Le femmine mature, invece, sono state campionate principalmente dalla primavera (a partire da fine maggio) fino all'estate, con una frequenza elevata di femmine portanti capsule durante i mesi estivi. Come le femmine, anche i maschi immaturi sono risultati essere predominanti in tutte le stagioni. Esemplari maturi sono stati trovati in inverno, primavera ed estate.

L'analisi dell'indice gonado-somatico applicata agli esemplari in via di maturazione e maturi durante tutto l'anno ha mostrato che le femmine hanno raggiunto il valore più alto durante l'estate, anche se sono state trovate femmine mature anche alla fine di maggio e giugno. Durante il resto dell'anno, la media dell'IGS è rimasta relativamente bassa, e ciò sta ad indicare che la specie non era in fase riproduttiva (Fig. 29A). Nei maschi, i valori dell'IGS

erano alti sia in inverno che in estate, mentre in autunno sono stati osservati valori molto bassi, anche se è stata registrata la presenza di un maschio adulto maturo (Fig. 29B).

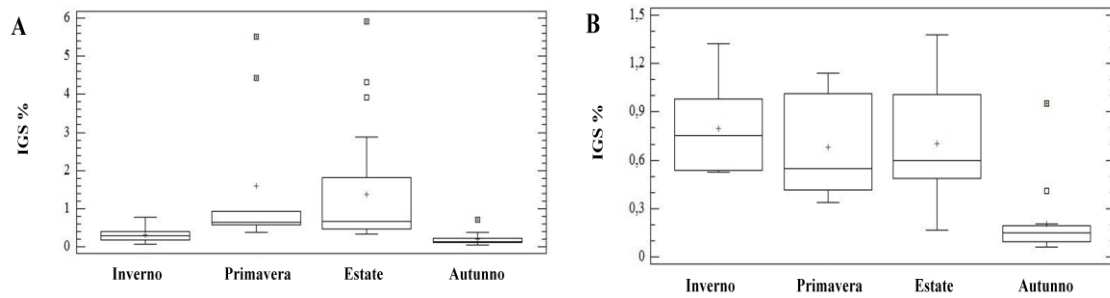


Figura 29. Valori dell'indice gonado-somatico (IGS) nelle femmine (A) e maschi (B) di *R. brachyura* lungo il corso della stagioni.

Fecondità

La fecondità ovarica nelle femmine mature (85,1-93,7 cm TL) è variata tra 37-44 follicoli maturi in entrambe le ovaie (41 ± 3.6 follicoli maturi, media \pm D.S.). Il diametro dei follicoli vitellogenici è variato tra 9,8-44,7 mm con una dimensione media di 23,6 mm ($\pm 9,08$ millimetri).

Conclusioni

Il presente lavoro fornisce la prima stima sui parametri riproduttivi di *Raja brachyura* nel Mar Mediterraneo.

La distribuzione delle taglie complessive, il rapporto lunghezza-peso e l'evoluzione delle fasi di maturità hanno indicato che la razza bionda ha mostrato un dimorfismo sessuale spiccato, con le femmine che raggiungono dimensioni maggiori rispetto ai maschi. Questo pattern è stato osservato per la stessa specie anche da Catalano *et al.* (2007) lungo le coste dell'Asinara e da Gallagher *et al.* (2005) nelle acque irlandesi, essendo una caratteristica comune tra famiglia Rajidae (es *Bathyraja albomaculata*, Ruocco *et al.*, 2006; *Raja clavata*, Gallagher *et al.*, 2005; *Dipturus oxyrinchus*, Yigin e Ismen, 2010).

Per quanto riguarda i rapporti lunghezza-peso sono state ritrovate relazioni positive tra di essi con un coefficiente allometrico superiore a 3, che mostra una crescita allometrica significativamente diversa tra maschi e femmine. Risultati simili sono stati trovati da Dorel (1986), Serra-Pereira *et al.* (2010) e McCully *et al.* (2012) nell'Oceano Atlantico e da Catalano *et al.* (2007), nel Mar Mediterraneo per la stessa specie. La stessa differenza è stata osservata anche in altre razze come ad esempio *Psammobatis extenta* (Braccini e

Chiaromonte, 2002), *Sympterygia bonapartii* (Mabragaña *et al.*, 2002), *Psammobatis normani* (Mabragaña e Cousseau, 2004) e *Bathyraja albomaculata* (Ruocco *et al.*, 2006).

Il raggiungimento tardivo della taglia di maturità, con le femmine che hanno maturato più tardivamente rispetto ai maschi, è stato precedentemente osservato nelle acque Atlantiche, dove sono state riscontrate dimensioni simili ai nostri risultati (Dorel, 1986; Gallagher *et al.*, 2005; McCully *et al.*, 2012). Questo pattern potrebbe essere associato con la necessità delle femmine di raggiungere dimensioni maggiori rispetto ai maschi ed in particolare con un aumento della cavità addominale, come confermato dai rapporti LT-LAD, che le permetterebbe di supportare una maggiore fecondità e una conseguente maggiore qualità e dimensione della prole (Serra Pereira *et al.*, 2011). Questo risultato trova conferma anche nello studio effettuato da Gallagher *et al.* (2005) nelle acque irlandesi, nel quale lo sviluppo sessuale di maschi e femmine inizia a circa 80 centimetri di LT, in concomitanza con lo sviluppo delle ghiandole oviducali e degli pterigopodi.

Nelle acque sarde, durante il periodo di campionamento, sono state registrati tutti gli stadi di maturità. Le femmine immature sono risultate predominanti durante tutte le stagioni di campionamento contrariamente a quelle mature che sono state riscontrate solo in un periodo limitato dell'anno compreso tra la primavera (fine maggio) e l'estate con le femmine portanti capsule soprattutto durante l'estate. Questi risultati sono stati confermati anche dall'evoluzione stagionale dei valori dell'IGS. Lungo le coste portoghesi, Serra-Pereira *et al.* (2005a) hanno indicato la presenza di femmine sessualmente attive solo nel mese di marzo, mentre Clarke (1922) e Holden *et al.* (1971) hanno osservato femmine portanti capsule da febbraio a luglio. Le variazioni intraspecifiche tra gli esemplari atlantici e quelli mediterranei potrebbero essere dovuti alle caratteristiche geografiche e idrografiche delle diverse aree (Capapé, 1977).

Per la prima volta vengono inoltre riportati i dati sulla fecondità ovarica di *R. brachyura* in natura, nonostante il basso numero di esemplari analizzati. La razza bionda, nei mari della Sardegna, ha mostrato una fecondità molto bassa che va 37-44 follicoli vitellogenici prodotti. Questo risultato sembra essere in accordo con lo studio condotto in cattività da Holden *et al.* (1971) in cui questo esemplare produce 0,5 uova al giorno (32 uova in 77 giorni). I bassi valori di fecondità rappresentano un modello tipico della famiglia Rajidae (es. *R. clavata*, Serra-Pereira *et al.*, 2011).

In conclusione, dato il collasso generale degli stock delle razze facenti parte degli ecosistemi costieri (Musick, 2004), e la mancanza di una legislazione pertinente nel Mar Mediterraneo, è necessario fornire una taglia minima di cattura (TMC) per i Rajidi. Tuttavia, definire una

TMC generica per tutte le razze non può portare benefici a tutte le specie come riportato anche da McCully *et al.* (2012). In effetti, la creazione di un TMC efficace dipende strettamente dalle caratteristiche di ogni singola specie. Per questo motivo, i parametri riproduttivi riportati per la prima volta nel Mar Mediterraneo in questo studio, rappresentano il primo passo per una realizzazione cosciente di misure di gestione di base, al fine di garantire la sostenibilità delle catture di queste specie nel nostro bacino e soprattutto, data la sua abbondanza relativa (Follesa *et al.*, 2010), nei mari sardi.

5.3 *Raja miraletus* Linnaeus, 1758



REGNO	Animalia
PHYLUM	Chordata
SUBPHYLUM	Vertebrata
SUPERCLASSE	Gnathostomata
CLASSE	Chondrichthyes
SUPERORDINE	Hypotremata
ORDINE	Rajiformes
FAMIGLIA	Rajidae
GENERE	Raja
SPECIE	<i>Raja miraletus</i>

La “razza bruna” (o “razza quattrocchi”), *Raja miraletus*, in relazione alle altre specie del genere *Raja*, mantiene delle dimensioni piuttosto ridotte durante tutto il suo ciclo vitale. Per i maschi è stata indicata una lunghezza massima maggiore rispetto a quella degli esemplari di sesso femminile (LT max ♂ = 63.0 cm; LT max ♀ = 59.7 cm) (McEachran *et al.*, 1989).

Questa specie viene comunemente catturata nel Mediterraneo mediante pesca a strascico, soprattutto come “bycatch” (Serena, 2005), ma in queste aree non sembrano esserci prove che suggeriscano il declino delle sue popolazioni. Può essere inoltre catturata mediante l’utilizzo di attrezzi fissi (reti, palamiti) (Smale *et al.*, 2009). La maggior parte degli esemplari (essendo considerati “scarti” da pesca), viene rigettata in mare, mentre gli individui di maggiori dimensioni alcune volte vengono commercializzati.

R. miraletus è inoltre una delle specie più comuni catturata durante le campagne di pesca a strascico (MEDITS e GRUND), sia nel Mar Mediterraneo (Baino *et al.*, 2001) che nell’Adriatico (Marano *et al.*, 2003).

R. miraletus è una specie iteropara e mantiene costante la sua attività riproduttiva durante tutto il suo ciclo vitale (Capapé *et al.*, 2007a). Le capsule dunque vengono rilasciate durante tutto l’anno, con un picco nei mesi primaverili ed estivi (Relini *et al.*, 1999). In seguito ad alcuni studi incentrati su questa specie (Capapé *et al.*, 2010) è stato possibile riscontrare una maggiore presenza di esemplari adulti tra Aprile e Giugno (♀) e tra Febbraio e Giugno (♂),

nonostante essi vengano catturati durante tutto l'arco dell'anno. È una specie ovipara (come tutti gli esemplari della famiglia Rajidae), i cui esemplari annualmente depongono in media dalle 40 alle 72 uova (Bor, 2002).

La razza bruna è una specie marina demersale, che può sopravvivere anche in acque salmastre. Si trova solitamente sui fondali molli e sui versanti superiori della scarpata (Compagno *et al.*, 1989), ad una profondità che varia dai 17-300 metri ai 462 metri nel Mar Ionio orientale (Mytilineou *et al.*, 2005). Il range ottimale però si ritrova soprattutto tra i 50 ed i 150 m.

Non è una specie particolarmente diffusa; la sua presenza è stata verificata in tutto il Mediterraneo (dove emerge come una delle specie più abbondanti), in particolare nelle regioni meridionali, come la Tunisia (Capapé *et al.*, 1974) e l'Algeria (Hemida *et al.*, 2007). In contrasto, questa specie è molto rara nelle aree settentrionali, come ad esempio nel Mar Adriatico (Jardas, 1985; Ungaro, 2004).

In accordo con Capapé *et al.* (2006) è, attualmente, totalmente scomparsa nella zona mediterranea della Francia, dove era stata precedentemente segnalata come una specie relativamente comune (Quignard, 1965). Lungo le coste orientali Atlantiche, *R.miraletus* è conosciuta al largo del Portogallo, dove è stato riportato un costante declino delle catture (Machado *et al.*, 2004; Figueiredo *et al.*, 2007). A Sud dello stretto di Gibilterra, questa specie è stata segnalata dal Marocco alle acque del Sud Africa. E' possibile rinvenire questa specie nell'Atlantico orientale, a Nord del Portogallo ed in tutto il Mediterraneo; a Madeira ed in Sud Africa; infine nella parte Sud-occidentale dell'Oceano Indiano (Froese *et al.*, 2011). Sono stati segnalati alcuni individui come originari delle Isole Canarie, ma questo dato necessita di ulteriori verifiche (Brito, 1991).

Attualmente questa specie è classificata nella red list della IUCN come "least concern" (LC), (Smale *et al.*, 2009).

Risultati

Un totale di 1131 esemplari di *R. miraletus* sono stati catturati e misurati: 584 erano femmine e 547 maschi; maschi e femmine sono risultati essere distribuiti equamente ($SR = 0,52$, $\chi^2 = 0.54$, $P\text{-value} > 0.05$).

La taglia delle femmine è variata tra 11,5-49,2 cm di LT, mentre la massa corporea tra 5,73-551,5 g, mentre i maschi hanno mostrato taglie comprese tra 9,4-48,9 cm di LT (Fig. 28) con una massa corporea compresa tra 4,05-493,8 g. Anche sugli esemplari maschili e femminili hanno mostrato un range di taglie generalmente simile e non sono state rilevate differenze significative tra di essi (test di Kolmogorov Smirnov, $P\text{-value} > 0.05$).

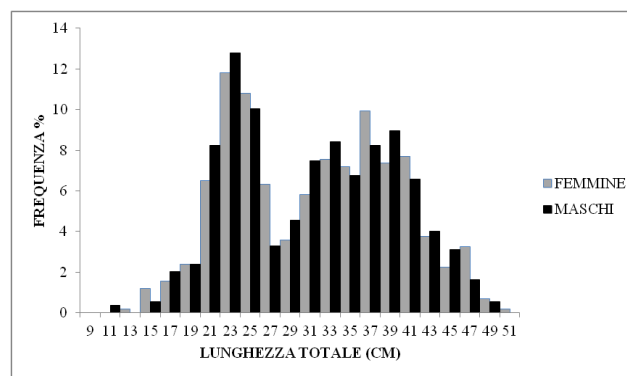


Figura 30. Distribuzione dei sessi della popolazione di *R. miraletus*.

Il rapporto tra la lunghezza e il peso totale (LT-PT) (Fig. 31A, B) tra i sessi differiva significativamente (ANOVA, $F\text{-ratio} = 10.284.25$, $P\text{-value} = 0$). La relazione tra questi due parametri, in femmine e maschi, è risultata essere espressa dalle seguenti equazioni: femmine ($PT = 0,0008 * LT^{3.3488}$, $r^2 = 0.98$), maschi: $PT = 0,0013 * LT^{3.3134}$, $r^2 = 0.98$.

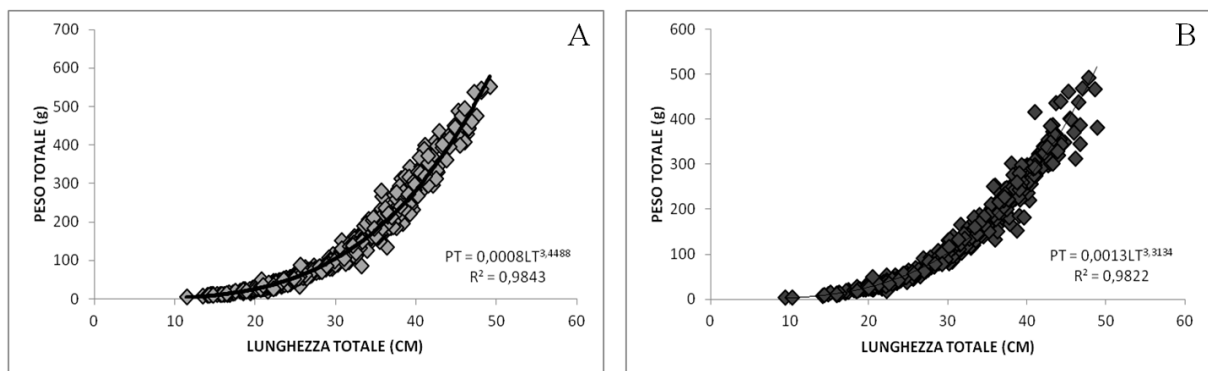


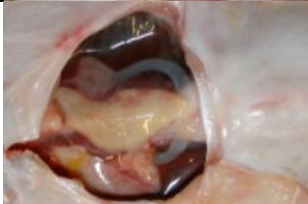










Figura 31. Rapporto lunghezza-peso nella popolazione femminile (A) e maschile (B) di *R. miraletus*.

Femmine - ovario

Dall'analisi macroscopica dell'apparato riproduttore delle femmine di *R. miraletus*, durante il loro ciclo biologico, si sono identificati 6 stadi di maturità sessuale in accordo con le scale utilizzate (Tab. 11), che hanno trovato un pieno riscontro con l'analisi istologica.

Tabella 12. Scala di maturità macroscopica di *R. miraletus*.

FEMMINE		MASCHI	
Stadio 1 IMMATURO		Stadio 1 IMMATURO	
Stadio 2 IN SVILUPPO		Stadio 2 IN SVILUPPO	
Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI		Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI	
Stadio 3B IN DEPOSIZIONE		Stadio 3B ATTIVO	
Stadio 4A IN REGRESSIONE		Stadio 4 IN REGRESSIONE	
Stadio 4B IN RIGENERAZIONE			

Negli individui immaturi, il tessuto ovarico è prevalentemente composto dall'organo epigonale (Fig. 32A), che presenta differenti tipi di cellule ematiche: principalmente granulociti e linfociti. In questa fase è possibile osservare follicoli ovarici primordiali circondati da un singolo strato di cellule squamose (Fig. 32B), e follicoli primari caratterizzati da un aumento in diametro e da un ingrossamento dell'epitelio follicolare (colonnare) contenente due tipi di cellule: piccole cellule e cellule intermedie e grandi. Negli ovari in fase di maturazione persistono follicoli ovarici primordiali e primari. Per la prima volta sono visibili follicoli in previtellogenesi, più larghi dei precedenti, che mostrano un epitelio follicolare più spesso (Fig. 32B). In aggiunta alle cellule piccole e grandi sono presenti cellule piriformi. Nella fase terminale di questo stadio è possibile osservare dei follicoli ovarici nelle prime fasi della vitellogenesi con la presenza di vitello proteico che si incomincia a formare alla periferia del citoplasma. Le femmine mature presentano un ovario presenta follicoli in tutte le fasi di sviluppo, ma con abbondanza di quelli vitellogenici (Fig. 32C). Questi ultimi, di elevate dimensioni, presentano gocce di vitello proteico nel citoplasma e sono caratterizzati da un epitelio follicolare più spesso. nelle femmine in regressione è possibile osservare i follicoli in tutte le loro fasi di sviluppo. Sono presenti follicoli postovulatori e atresici in cui appare collassata la lamina basale che invade il lume centrale (Fig. 32D). nelle femmine in rigenerazione la descrizione simile allo stadio precedente, ma l'ovario è caratterizzato da una maggior presenza di follicoli in previtellogenesi ed in vitellogenesi (Fig. 32E).

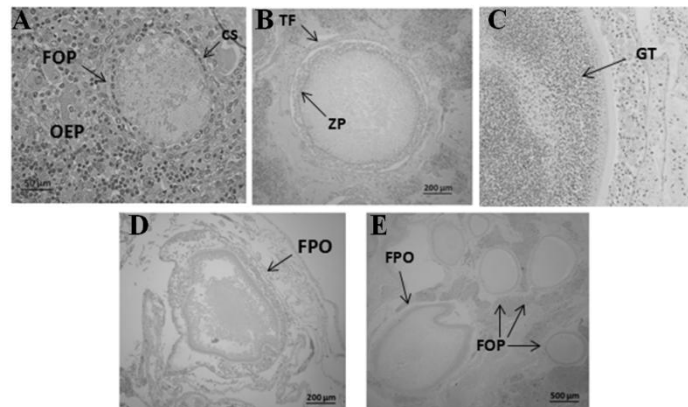


Figura 32. A) Follicolo ovarico primordiale (FOP) in una femmina immatura, circondato dall'epitelio follicolare costituito da cellule squamose (CS); organo epigonale molto sviluppato (OEP); B) follicolo ovarico in previtellogenesi, circondato esternamente dallo strato di teca connettivale (TF), ed internamente dalla zona pellucida (ZP); C) follicolo vitellogenico in cui sono visibili gocce di tuorlo (GT); D) follicolo in fase post-ovulatoria (FPO); E) follicoli in differenti stadi di sviluppo (FOP, FPO).

La ghiandola oviducale

Nelle femmine immature, la ghiandola (1-9,1 mm LGO) era poco evidente (Fig. 33A), mentre in quelle in via di sviluppo (6-16,7 mm LGO) la forma della ghiandola è cambiata leggermente (estensioni laterali primordiali iniziano ad essere visibili), ma, dal piano sagittale, le quattro zone non sono ancora riscontrabili (Fig. 33B). Le femmine mature (15.4-21,9 mm LGO) e portanti capsule (14.4-26,7 mm LGO) hanno presentato un ghiandola completamente sviluppata con estensioni laterali ben visibili (Fig. 33C, D); in queste fasi, le zone erano visibili e le quattro zone (club, papillary, baffle e terminal) erano chiaramente distinguibili sul piano sagittale (Fig. 33D). Nella fase di regressione (13.1-18,6 mm LGO), la larghezza della ghiandola era leggermente ridotta, ma era sempre possibile discernere le quattro zone (Fig. 33E); infine, nella fase di rigenerazione le dimensioni (11.8-15 mm LGO) erano generalmente ridotte rispetto alle fasi precedenti e le quattro zone erano scarsamente distinguibili (Fig. 33F).

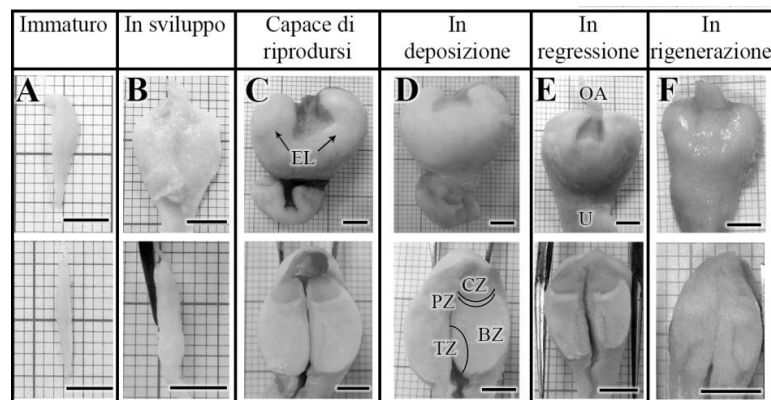


Figura 33. Per ogni fase di maturità viene mostrata la ghiandola oviducale intera (in alto) e il corrispondente piano sagittale (sotto): verso l'alto l'intera ghiandola e sotto il suo piano sagittale corrispondente. A) immaturo; B) in sviluppo; C) capace di riprodursi, le estensioni laterali sono completamente formate; D) in deposizione, le quattro zone sono chiaramente visibili; E) in regressione; F) in rigenerazione. Scale bar C, D, H: 3 millimetri; E-G: 5 mm. OA- ovidotto anteriore, zona BZ-baffle zone CB-club zone, EL-estensioni laterali, PZ-papillary zone, TZ-terminal zone, U-utero.

La larghezza della ghiandola è aumentata con l'avanzare della maturità (Fig. 34). Differenze statisticamente significative tra tutte le fasi (ANOVA, F-ratio= 219,85, P-value= 0). Il test HSD di Tukey ha rivelato differenze non statisticamente significative solo tra le femmine capaci di riprodursi (stadio 3A) e in deposizione (stadio 3B) (P-value> 0.05).

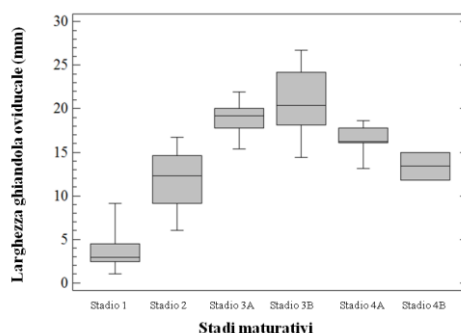


Figura 34. Evoluzione della larghezza della ghiandola oviducale di *R. miraletus* nei diversi stadi maturativi.

Gli esemplari immaturi (stadio 1) hanno mostrato un ghiandola indifferenziata che era composta solo da tessuto connettivo e semplici cellule epiteliali colonnari, senza la presenza di lamelle sviluppate. Nelle femmine in sviluppo (stadio 2), invece, le lamelle hanno iniziato il loro sviluppo lungo tutto il lume della ghiandola e i tubuli ghiandolari hanno iniziato la differenziazione. In entrambe queste fasi, la tecnica PAS/AB non ha reagito.

Partendo dalle femmine mature (Stadi 3A e 3B), si è potuto apprezzare il pieno sviluppo della ghiandola: prima di tutto, le quattro zone erano chiaramente riconoscibili; le ghiandole tubulari ricoprivano la maggior parte della zona ghiandolare. Le lamelle (tranne nella terminal zone che non le possiede) sono risultate costituite da un epitelio semplice colonnare ciliato supportato da tessuto connettivo lasso (*lamina propria*); sul lato opposto della ghiandola è invece presente tessuto muscolare liscio. La club zone presenta le caratteristiche lamelle a forma di clava (Fig. 35A) e cellule ciliate e secretorie compongono l'epitelio ghiandolare (Fig. 35B). Questa zona ha reagito con forza alla tecnica di colorazione istochimica (PAS+/AB+) specialmente nell'area vicino alla lamelle dove si evidenzia un colore viola intenso, mentre più debolmente nella meta zona che si dirige verso lo strato muscolare. Vasi sanguigni sono stati trovati vicino al lamelle. La papillary zone, riconoscibile dalle lamelle digitiformi (Fig. 35C), ha mostrato tubuli molto allungati rispetto alla club uno con una composizione variegata di cellule PAS+/AB+. In particolare, vicino alla baffle zone, una fila di tubuli secretori ha reagito fortemente alla tecnica PAS +/AB + (colorazione viola intenso) e un'altra fila di tubuli ha reagito solo all'alcian blu (AB+) (questa zona è anche conosciuta come caudal-most papillary zone, Fig. 35D). La baffle zone, che è coinvolta nella formazione delle capsule, ha mostrato le caratteristiche lamelle chiamato "baffle plates" e le "plateau projections" che si estendono verso il lume (Fig. 35E). Questa regione è composta da cellule ciliate e secretorie, come la club e la papillary. La presenza di vasi sanguigni è stata riscontrata soprattutto nella parte distale vicino al tessuto muscolare liscio. La baffle zone non ha reagito alla tecnica istochimica PAS / AB (Fig. 35F). L'ultima zona, la terminal non ha mostrato delle vere e proprie lamelle (Fig. 35G) e consisteva di tubuli sierosi e mucosi. I

primi erano simili a quelle della baffle zone (PAS-/AB-), invece quelli mucosi hanno mostrato un'intensa affinità per l'alcian blu (AB +) (Fig. 35H), specialmente quelli confinante con la baffle.

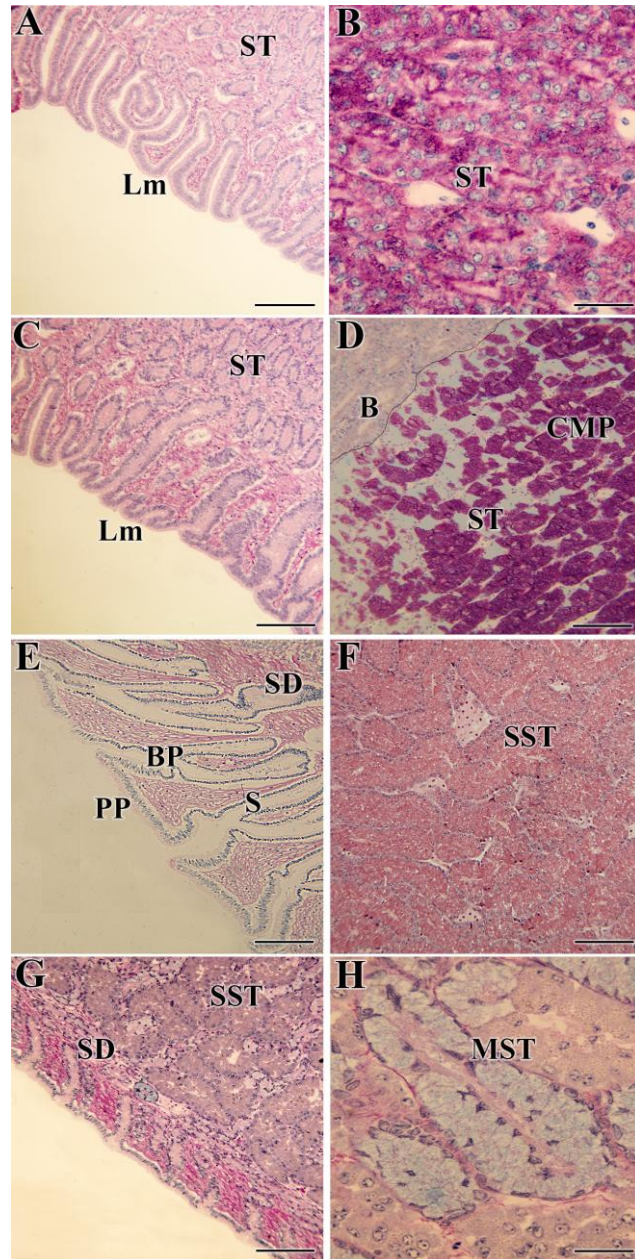


Figura 35. Ghiandola dell'ovidotto di *R. miraletus* con le caratteristiche 4 zone che la compongono. A) lamelle della club zone con tubuli ghiandolari visibili (H&E); B) Tubuli secretori della club zone che mostrano PAS+/AB+; C) lamelle della papillary zone (H&E). D) caudal most papillary adiacente alla baffle zone e che mostra una forte affinità PAS+/AB+ e AB+; E) lamelle della baffle zone. F) tubuli secretori sierosi della baffle zone (H&E); G) struttura della terminal zone che mostra tubuli secretori sierosi (PAS-/AB+). H) dettaglio dei tubuli secretori mucosi (AB+) della terminal zone. Scale bar A, C, D, E, F, G-100 micron, B, H-40 micron. BP-Baffle plates, BZ-Baffle zone, CMP-caudal most papillary, Lm-lamelle, MST-tubuli secretori mucosi, PP-plateau projections, S-spinnerets, SD-dotti secretori, SST-tubuli secretori sierosi, ST- tubuli secretori.

Materiale secretorio è stato trovato tra i tubuli della baffle zone e solo tra le sue lamelle (Fig. 36A, B), mentre è stata rilevata la "sostanza o materiale marrone" tra i tubuli mucosi della terminal zone (Fig. 36C).



Figura 36. A) Materiale secretorio trovato nei recessi profondi della baffle zone delle ghiandole di femmine mature (H & E). B) Materiale secretorio trovato all'interno lamelle della baffle zone (H&E). C) Sostanza marrone trovata nella terminal zone (PAS/AB). Scale bar 40 micron. BM- materiale marrone, Lm- lamelle, MST- tubuli secretori mucosi, SM- materiale secretorio, SST- tubuli secretori sierosi.

Nelle femmine in regressione (Stadio 4A), nonostante la riduzione della larghezza della ghiandola, l'attività secretoria era simile a quelle riscontrata nei due stadi precedenti, infatti la club, la papillary e la terminal zone mostrano ancora una cospicua attività secretoria. Nella fase di rigenerazione, la zone club e papillary hanno mostrato una debole affinità alla tecnica PAS/AB, mentre la zona terminale ha perso l'affinità all'alcian blu.

La presenza di sperma è stato riscontrata solo nella parte anteriore della baffle zone, esclusivamente nelle femmine adulte agli stadi 3A, 3B e 4A. In particolare, nelle femmine mature e in deposizione, spermatozoi non aggregati sono stati trovati all'interno delle lamelle e nei tubuli ghiandolari (Fig. 37A, B). Solo in una femmina in fase di regressione, pochi spermatozoi sono stati rilevati tra le lamelle.

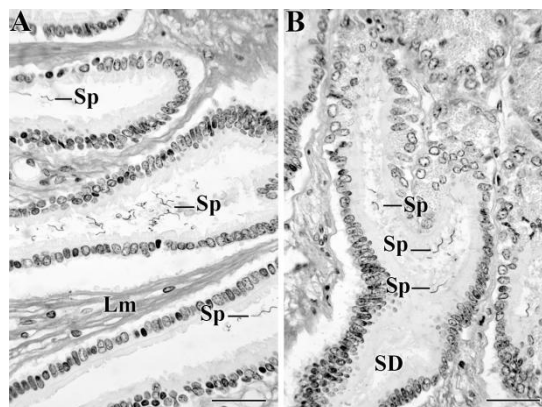


Figura 37. A) Spermatozoi (Sp) presenti tra le lamelle (Lm) e tra i dotti secretori (SD) (B) nelle femmine mature di *R. miraletus*.

Maschi - testicolo

Anche per i maschi sono stati riscontrati tutti gli stadi macroscopici (Tab. 12). L'istologia delle sezioni di testicolo ci ha permesso di confermare tutti gli stadi. In particolare, negli individui immaturi, i testicoli contenevano spermatogoni (in prevalenza), spermatociti primari e secondari (Fig. 38A). Raramente sono osservate le fasi più avanzate della spermatogenesi (spermatidi e spermatozoi). Negli individui in sviluppo, i testicoli contengono spermatocisti in tutte le fasi della spermatogenesi (in genere gli spermatociti secondari sono i più abbondanti) (Fig. 38B). Spermatidi (Fig. 38C) e spermatozoi sono più abbondanti rispetto ai maschi immaturi. I testicoli contengono spermatocisti in tutte le fasi di sviluppo. Nei maschi maturi le spermatocisti contenenti spermatidi e spermatozoi (Fig. 38D) sono molto abbondanti ed occupano una grossa porzione della sezione testicolare. nei maschi attivi, le spermatocisti contenenti gli spermatozoi sono molto più abbondanti (Fig. 38E).

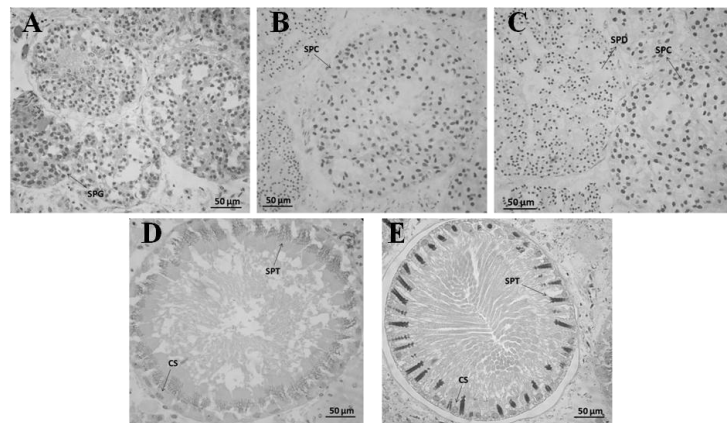


Figura 38. Stadi della spermatogenesi in *R. miraletus*: A) spermatogoni (SPG) (H&E); B) spermatocisti con, al loro interno, spermatociti (SPC); C) spermatocisti (SPC) e spermatidi (SPD); D) lobulo contenente cisti con spermatozoi (SPT) e cellule del Sertoli (CS) alla periferia; E) spermatozoi (SPT) maturi e cellule del Sertoli (CS) presenti tra di essi.

Analogamente alla ghiandola oviducale, nei maschi gli organi copulatori si accrescono proporzionalmente allo Stadio di maturità (Fig. 39). L'ANOVA test ha messo in luce differenze statisticamente significative (ANOVA, F-ratio= 62.73; P-value < 0.05) tra lo Stadio 1 e lo Stadio 2 con gli altri Stadi riproduttivi.

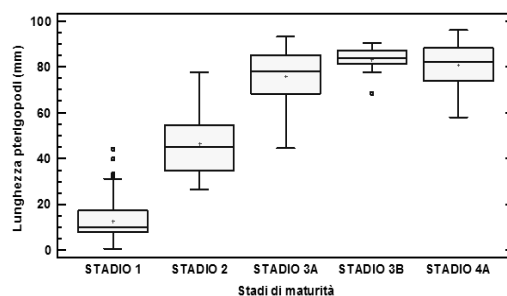


Figura 39. Evoluzione della lunghezza degli pterigopodi della popolazione maschile di *R. miraletus*.

Dall'analisi delle lunghezze medie in relazione agli stadi maturativi è scaturito un andamento dei valori piuttosto simile sia per le popolazioni femminili che per quelle maschili (Fig. 40). In generale è possibile osservare come la lunghezza totale media aumenti proporzionalmente alla maturità degli individui fino allo Stadio 3A, per poi rimanere più o meno costante negli stadi successivi.

Per entrambi i sessi sono emerse differenze statisticamente significative (femmine: ANOVA, F-ratio= 147.02; P-value < 0.05; maschi: ANOVA, F-ratio= 222.47; P-value < 0.05). Nello specifico con il Multiple Range Test sono emerse differenze statisticamente significative tra gli stadi immaturi e in sviluppo e tutti gli altri.

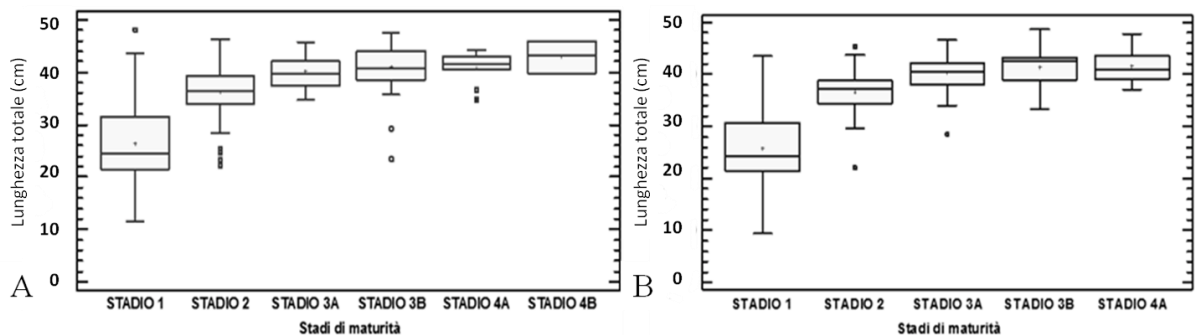


Figura 40. Evoluzione dei valori di lunghezza media totale della popolazione femminile (A) e maschile (B) di *R. miraletus* in base al sesso e agli stadi di maturità.

Le femmine hanno maturato a taglie superiori (range LT= 34,6-49,2 cm) rispetto ai maschi (range LT= 33,3-48,9 cm). La taglia stimata alla maturità (L_{50}) si aggira sui 42,2 centimetri LT per le femmine e 41,2 centimetri LT per i maschi (Fig. 41).

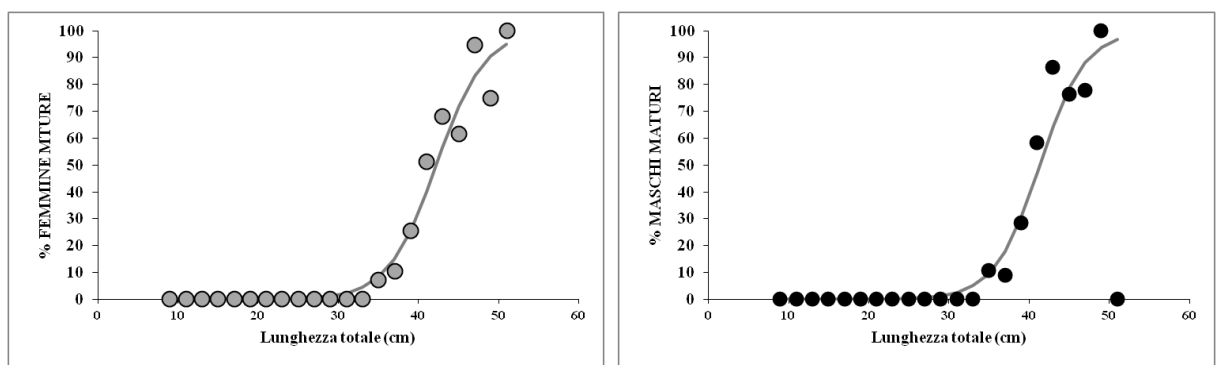


Figura 41. Taglia di maturità delle femmine e maschi di *R. miraletus*.

Durante il periodo di campionamento tutti gli stadi maturativi sono stati registrati con alcune variazioni (Fig. 42). In particolare, per quanto riguarda le femmine, una predominanza di esemplari immaturi è stata osservata durante tutto l'anno. Le femmine mature ed, in particolare portanti capsule ovigere invece, sono state campionate principalmente in

primavera ed estate. Come le femmine, anche i maschi immaturi sono risultati essere predominanti in tutte le stagioni. Esemplari maturi e attivi sono stati trovati durante tutto l'anno.

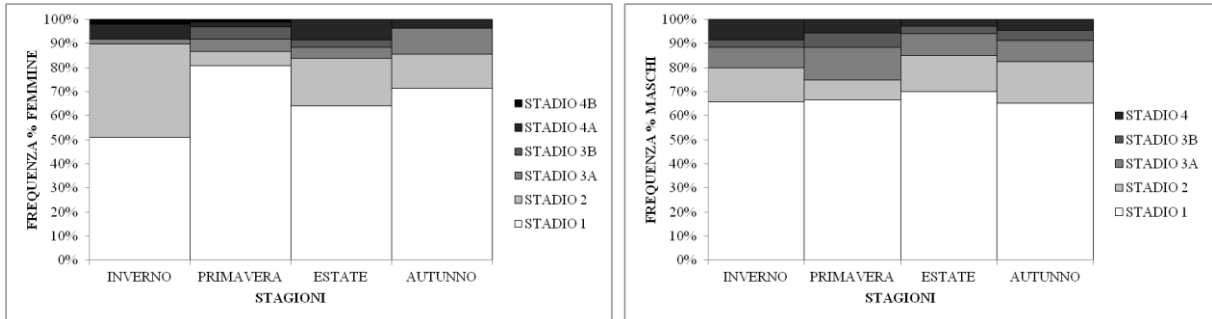


Figura 42. Frequenza percentuale degli stadi maturativi nella popolazione femminile e maschile di *R. miraletus*.

L'analisi dell'indice gonado-somatico applicata agli esemplari in via di maturazione e maturi durante tutto l'anno ha mostrato che le femmine hanno raggiunto il valore più alto durante la primavera e l'estate (ANOVA F-ratio= 8.35, P-value= 0). Durante il resto dell'anno, la media dell'IGS è rimasta relativamente bassa, e ciò sta ad indicare che la specie non era in fase riproduttiva (Fig. 43A). Nei maschi, i valori dell'IGS erano piuttosto simili in tutte le stagioni, anche se in autunno e inverno sono stati osservati valori bassi (ANOVA F-ratio= 2.91, P-value< 0.05), (Fig. 43B).

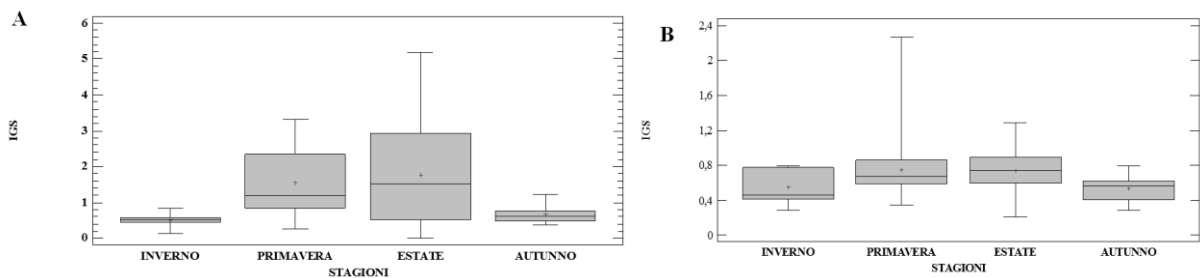


Figura 43. Valori dell'indice gonado-somatico (IGS) nelle femmine (A) e maschi (B) di *R. miraletus* durante le stagioni.

Fecondità

La fecondità ovarica nelle femmine mature è variata tra 9-15 follicoli maturi in entrambe le ovaie ($12,2 \pm 2,6$ follicoli maturi, media \pm D.S.). Il diametro dei follicoli vitellogenicici è variato tra 1,6-0,62 mm con una dimensione media di 1,01 mm ($\pm 0,29$ millimetri).

Conclusioni

Le femmine e i maschi di *R. miraletus* hanno mostrato una distribuzione di taglia piuttosto simile raggiungendo approssimativamente le stesse dimensioni in accordo con quanto riportato in Adriatico (Ungaro, 2004) e in Atlantico (Capapé *et al.*, 2007a) per la stessa specie. Studi effettuati su altre specie di razze (Braccini e Chiaramonte, 2002; Ebert, 2005) hanno mostrato un trend analogo, nonostante il tipico pattern degli Elasmobranchi sia un dimorfismo sessuale nella taglia massima, dove le femmine raggiungono taglie maggiori rispetto ai maschi (Cortès, 2000). L'analisi morfometrica degli organi secondari (quali la lunghezza degli pterigopodi nei maschi e la larghezza della ghiandola oviducale nelle femmine) ha permesso di confermare pienamente l'osservazione macroscopica. Nello specifico lo sviluppo degli pterigopodi ha mostrato una crescita dapprima lenta negli individui immaturi e successivamente repentina a partire da quelli in maturazione, raggiungendo un picco negli esemplari maturi, in accordo generalmente con altri studi su *R. miraletus* (Ungaro, 2004; Kadri *et al.*, 2012). L'analisi istologica delle gonadi si è rilevata essere uno strumento fondamentale nella conferma di quanto individuato macroscopicamente, mettendo in evidenza tutte le fasi di sviluppo dell'oogenesi e della spermatogenesi e individuando particolari strutture, durante l'intero ciclo riproduttivo. Il rinvenimento di spermatocisti mature in individui maschili in via di maturazione (e quindi non sessualmente pronti per l'accoppiamento) ha permesso di riscontrare uno sviluppo asincrono tra crescita degli pterigopodi (organi copulatori) e sviluppo delle gonadi, con quest'ultime che maturano precocemente rispecchiando quanto osservato per altri congeneri (Sulikowski *et al.*, 2005, 2006, 2007; Ebert *et al.*, 2008). Tale fenomeno rappresenta una strategia per massimizzare il successo riproduttivo della specie, assicurando la produzione di sperma durante tutto il ciclo riproduttivo. L'analisi morfometrica degli organi secondari (quali la lunghezza degli pterigopodi nei maschi e la larghezza della ghiandola oviducale nelle femmine) ha permesso di confermare pienamente l'osservazione macroscopica. Nello specifico lo sviluppo degli pterigopodi ha mostrato una crescita dapprima lenta negli individui immaturi e successivamente repentina a partire da quelli in maturazione, raggiungendo un picco negli esemplari maturi, in accordo generalmente con altri studi su *R. miraletus* (Ungaro, 2004; Kadri *et al.*, 2012). La razza quattrocchi ha mostrato una ghiandola relativamente di piccola taglia rispetto ad altre specie del genere *Raja*, come *R. clavata* che invece mostra una ghiandola di elevate dimensioni (Serra-Pereira *et al.*, 2011).

La morfologia della ghiandola oviducale di *R. miraletus* era simile a quella di altre specie di Rajidi studiate (Hamlett *et al.*, 1998, 2005. Galíndez e Estecondo, 2008). L'organizzazione interna della ghiandola è risultata simile a quello di altri Condritti (Hamlett *et al.*, 2005). Gli individui immaturi hanno mostrato una ghiandola indifferenziata nella quale la colorazione istochimica PAS/AB non ha reagito. A partire dagli individui maturi invece, si è potuto apprezzare lo sviluppo della ghiandola che ha mostrato istologicamente una forte reazione alla tecnica di colorazione istochimica utilizzata. In particolare si è osservata la produzione di mucine acide e neutre come riscontrato in altri elasmobranchi ovipari come *S. canicula* (Threadgold, 1957; Rusaouën, 1976), *Raja eglanteria* e *Leucoraja erinacea* (Hamlett *et al.*, 1998), *R. clavata* (Serra-Pereira *et al.*, 2011), *Sympterygia acuta* (Galíndez e Estecondo, 2008), *S. bonapartii* (Galíndez *et al.*, 2010), *Callorhynchus milii* (Smith *et al.*, 2004). In particolare, la differente colorazione che ha assunto la club zone mostrando una reazione più intensa alla tecnica istochimica nella parte anteriore (vicina alle lamelle) piuttosto che in quella posteriore (vicina al tessuto muscolare) indica che vengono prodotti carboidrati con una differente composizione e funzione: quelli prodotti dalla porzione anteriore hanno la funzione di ricoprire con uno strato gelatinoso l'uovo, mentre quelli prodotti dalla porzione posteriore hanno la funzione di produrre un involucro periferico che ricopre e protegge l'uovo come avviene anche nell'olocefalo *C. milii* (Smith *et al.*, 2004). Il materiale secretorio prodotto dalla zona papillare ha presentato un'elevata variabilità: le secrezioni erano simili a quelli osservati nella zona club con l'aggiunta di un'ultima fila di tubuli (caudal most papillary) con una diversa composizione chimica (miscela di mucine neutre e acide e tubuli secernenti solo mucine acide). La caudal most papillary è stata osservata anche in altri ovipari (Nalini, 1940, Smith *et al.*, 2004, Galíndez e Estecondo 2008, Galíndez *et al.*, 2010; Serra-Pereira *et al.*, 2011.). La baffle zone ha presentato un elevato profilo di lamelle ed è quella che produce l'involucro terziario dell'uovo (capsula ovigera) (Hamlett *et al.*, 1998; Galíndez *et al.*, 2010; Serra-Pereira *et al.*, 2011.). Questa zona è risultata negativa ai carboidrati (PAS- / AB-) confermando la natura proteica delle secrezioni prodotte ("cristalli liquidi") (Knight *et al.*, 1993; Koob e Cox, 1993) come riportato per altre specie di Rajidi (es. Hamlett *et al.*, 1998; Serra-Pereira *et al.*, 2011.). Nella piccola razza *L. erinacea*, sei principali proteine con livelli elevati di glicina, serina, prolina e tirosina erano contenuti nella matrice capsula assemblato (Koob e Cox, 1993). La sostanza marrone presente nella baffle zone sono risultati negativi alle tecniche di colorazione adottate. Come suggerito da Threadgold (1957), Koob e Cox (1990, 1993) e Serra-Pereira *et al.* (2011), la consistenza e colore di questa sostanza suggerisce il fatto che sia implicata nella formazione diretta della capsula.

Come per altri Condritti (es, Smith *et al.*, 2004; Hamlett *et al.*, 2005), la terminal zone è risultata composta da ghiandole mucose e sierose. Questa caratteristica è comune nelle specie ovipare che producono sottili filamenti chiamati "capelli" sulla superficie della capsula e che gli permette un miglior ancoraggio al substrato.

R. miraletus non ha mostrato un vero e proprio meccanismo di sperm-storage. Il reperimento di spermatozoi non aggregati trovati esclusivamente tra le lamelle della baffle e nei dotto vicino ad esse sembra essere il risultato di un recente accoppiamento o, al massimo, questa specie conserva gli spermatozoi per brevi periodi di tempo che possono andare dai giorni alle settimane come riscontrato anche nella razza costiera *L. erinacea* (Hamlett *et al.*, 1998) e nella razza chiodata *R. clavata* (Serra-Pereira *et al.*, 2011).

Infine, per quanto riguarda la taglia di maturità sessuale, questa è risultata essere piuttosto tardiva come riscontrato in altri studi presenti in letteratura (Ungaro, 2004; Kadri *et al.*, 2012), ma a differenza di questi, le taglie riscontrate nel presente studio sono apparse piuttosto simili, con i maschi che raggiungono la maturità poco prima rispetto alle femmine.

Dallo studio del periodo riproduttivo è emerso che gli accoppiamenti di questa specie avvengono durante tutto l'anno e che la deposizione delle uova avviene principalmente nelle stagioni primaverile ed estiva come riscontrato anche nelle acque tunisine (Kadri *et al.*, 2012). La razza bruna, nei mari della Sardegna, ha mostrato una fecondità molto bassa che va 9-16 follicoli vitellogenici prodotti.

Date le caratteristiche sulla biologia riproduttiva riscontrate in questo studio, si dovrebbe mostrare una maggiore attenzione nelle catture di questa piccola razza, in modo da garantirne la sostenibilità.

5.4 *Dipturus oxyrinchus* (Linnaeus, 1758)



REGNO	Animalia
PHYLUM	Chordata
SUBPHYLUM	Vertebrata
SUPERCLASSE	Gnathostomata
CLASSE	Chondrichthyes
SUPERORDINE	Hypotremata
ORDINE	Rajiformes
FAMIGLIA	Rajidae
GENERE	Dipturus
SPECIE	<i>Dipturus oxyrinchus</i>

Dipturus oxyrinchus, comunemente chiamata “razza monaca” o “razza a muso lungo”, è una specie marina bati-demersale tra le più grandi in tutto il Mediterraneo. Gli esemplari di questa specie hanno una lunghezza media pari a circa 60-100 cm, ma possono raggiungere una taglia massima di 150 cm (Serena *et al.*, 2010); mentre la taglia di prima maturità sessuale è di circa 90 cm per le femmine e 80 cm per i maschi (Ungaro *et al.*, 2007). Tuttavia, nel Nord del Mar Tirreno, sono stati segnalati come esemplari immaturi una femmina e un maschio rispettivamente di 83 e 77.5 cm (LT) (Ungaro *et al.*, 2007). La razza monaca è una specie ovipara, e depone le uova a coppie. La nutrizione degli embrioni viene sostenuta esclusivamente dal tuorlo dell'uovo e le capsule vengono rilasciate tra Febbraio e Maggio (Serena *et al.*, 2010).

Le popolazioni di questa specie sono moderatamente abbondanti nel Mediterraneo: è stato stimato il valore di 1,899 t per la biomassa dello stock nella parte occidentale, settentrionale ed orientale del bacino. L'indice della biomassa complessiva valutata dalla MEDITS era di 3,7 kg/km² in tutta l'area del Mediterraneo (Baino *et al.*, 2001). Nelle acque italiane non vi è stata alcuna indicazione di un eventuale declino della specie in esame nell'arco degli ultimi 20 anni (Relini, 2000).

D. oxyrinchus viene sbarcata come parte delle catture accidentali dalle campagne di pesca a strascico e dai palamiti (soprattutto nel Nord Europa), tuttavia nel Mar Mediterraneo essa

abita per lo più aree profonde, dove lo sfruttamento della pesca è attualmente a livelli piuttosto bassi, quindi si presume che queste aree rappresentino una sorta di rifugio per gran parte delle popolazioni. Vi è comunque una forte necessità di preservare la risorsa; essa infatti risulta particolarmente vulnerabile allo sforzo di pesca ed all'alto rischio di estinzione locale (rispetto ad altre razze), date le dimensioni relativamente grandi degli individui giovanili e degli adulti, in combinazione con il tasso di crescita presumibilmente lento e la bassa fecondità che ci dà un'idea di quanto sia ridotta la sua capacità di resistere alla pressione di pesca (Walker e Hislop, 1998; Dulvy e Reynolds, 2002).

Quanto appena detto, insieme all'evidenza di drammatici crolli della popolazione ed alla scomparsa apparente di un certo numero di esemplari in alcune aree localizzate (probabilmente a causa della pressione della pesca), porta alla valutazione di *D. oxyrinchus* come specie quasi a rischio (NT) nel Mediterraneo (Ungaro *et al.*, 2007). La situazione deve essere attentamente monitorata per assicurare che il suo stato di conservazione in futuro non rientri nella categoria vulnerabile, in particolare se la pesca in acque profonde tenderà a svilupparsi maggiormente. È stato infine registrato un forte declino delle sue popolazioni nel Mare d'Irlanda (Dulvy *et al.*, 2000). Il suo range batimetrico è piuttosto ampio e varia dai 90 ai 900 m (Serena *et al.*, 2010), nonostante la maggior parte degli esemplari vengano rinvenuti ad alte profondità, e più comunemente rinvenuta a batimetrie che si aggirano intorno ai 200 m circa (Serena *et al.*, 2010). Durante la campagna MEDITS di pesca a strascico, *D. oxyrinchus* viene solitamente catturata a batimetrie che variano dai 200 ai 500 metri (Ungaro *et al.*, 2007). La razza monaca predilige dunque la vita a batimetrie più profonde (Stehmann, 1990). *D. oxyrinchus* può essere rinvenuta in varie zone della piattaforma continentale tra il Mare d'Irlanda e nella parte settentrionale del Mare del Nord. Questa specie è stata precedentemente trovata in tutto il Mar Mediterraneo e lungo le coste italiane (Stehmann e Burkel, 1984), tuttavia ora sembra essere scomparsa dal Golfo del Leone (Mediterraneo orientale). *D. oxyrinchus* vive inoltre lungo le coste atlantiche: dalle Canarie a Madera (Froese e Pauly, 2009), al Nord del Marocco, fino alle isole Faroes, Shetlands; la si può ritrovare anche nei mari centro settentrionali della Norvegia ed infine nelle aree settentrionali del Mare del Nord.

Risultati

Un totale di 706 esemplari di *D. oxyrinchus* sono stati catturati e misurati: 388 erano femmine e 318 maschi; maschi e femmine sono risultati essere distribuiti abbastanza similmente ($SR = 0,55$, $\chi^2 = 3,28$, $P\text{-value} > 0,05$).

La taglia delle femmine è variata tra 10,4-117 cm di LT, mentre la massa corporea tra 8,98-7017 g, mentre i maschi hanno mostrato taglie comprese tra 14,5-99,5 cm di LT (Fig. 44) con una massa corporea compresa tra 10,9-4281 g. Gli esemplari maschili e femminili hanno mostrato un range di taglie differente con le femmine che raggiungono taglie superiori rispetto ai maschi e sono state rilevate differenze significative tra di essi (test di Kolmogorov Smirnov, $P\text{-value} < 0,05$).

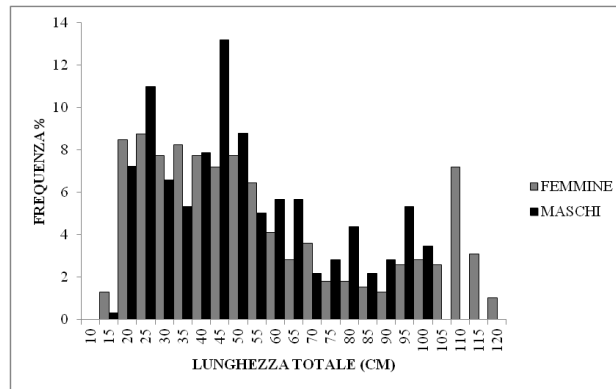


Figura 44. Distribuzione dei sessi della popolazione di *D. oxyrinchus*.

Anche il rapporto tra la lunghezza e il peso totale (LT-PT) (Fig. 45A, B) tra i sessi differiva significativamente (ANOVA, $F\text{-ratio} = 39,369$, $P\text{-value} = 0$). La relazione tra questi due parametri, in femmine e maschi, è risultata essere espressa dalle seguenti equazioni: femmine ($PT = 0,0015 * LT^{3,2001}$, $r^2 = 0,97$), maschi: $PT = 0,001 * LT^{3,3019}$, $r^2 = 0,99$.

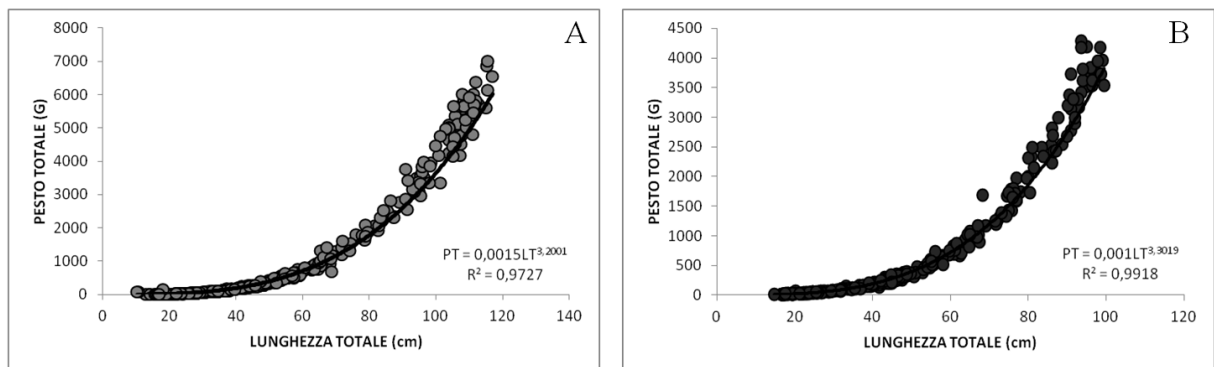






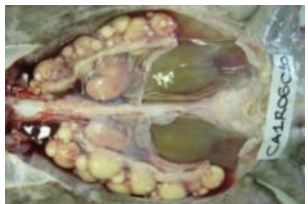






Figura 45. Rapporto lunghezza-peso nella popolazione femminile (A) e maschile (B) di *D. oxyrinchus*.

Femmine - ovario

Dall'analisi macroscopica dell'apparato riproduttore delle femmine di *D. oxyrinchus*, durante il ciclo biologico, si sono identificati 6 stadi di maturità sessuale in accordo con le scale utilizzate (Tab. 13), che hanno trovato un pieno riscontro con l'analisi istologica.

Tabella 13. Scala di maturità macroscopica di *D. oxyrinchus*.

FEMMINE		MASCHI	
Stadio 1 IMMATURO		Stadio 1 IMMATURO	
Stadio 2 IN SVILUPPO		Stadio 2 IN SVILUPPO	
Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI		Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI	
Stadio 3B IN DEPOSIZIONE		Stadio 3B ATTIVO	
Stadio 4A IN REGRESSIONE		Stadio 4 IN REGRESSIONE	
Stadio 4B IN RIGENERAZION E			

Nello stadio immaturo, l'ovario contiene solo follicoli in previtellogenesi precoce, collegati all'epitelio germinale ed alla tunica albuginea. L'epitelio follicolare che circonda il follicolo è singolo e costituito principalmente da cellule follicolari appiattite (squamose). Non sono presenti gocce di tuorlo evidenti all'interno del follicolo (Fig. 46A). Negli ovari in fase di maturazione persistono follicoli in tarda previtellogenesi di varie dimensioni (maggiori rispetto allo stadio precedente) ed alcuni follicoli vitellogenici. L'epitelio follicolare si addensa in un epitelio colonnare, contenente due tipi di cellule: cellule piccole, cellule grandi o intermedie. Nel citoplasma sono visibili inclusioni lipidiche (Fig. 46B).

Le femmine mature presentano un ovario con follicoli in tutte le fasi di sviluppo, ma con abbondanza di quelli vitellogenici. Questi ultimi, di elevate dimensioni, presentano gocce di vitello proteico nel citoplasma e sono caratterizzati da un epitelio follicolare più spesso (Fig. 46C).

Nelle femmine in regressione è possibile osservare i follicoli in tutte le loro fasi di sviluppo. Sono presenti follicoli postovulatori e atresici in cui appare collassata la lamina basale che invade il lume centrale (Fig. 46D). Nelle femmine in rigenerazione la descrizione simile allo stadio precedente, ma l'ovario è caratterizzato da una maggior presenza di follicoli in previtellogenesi ed in vitellogenesi (Fig. 46E).

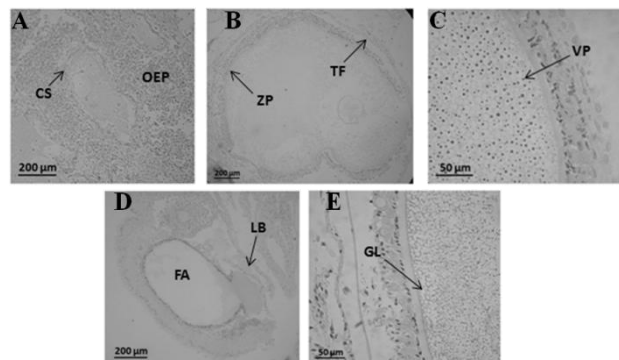


Figura 46. A) Follicolo ovarico in previtellogenesi, circondato dall'epitelio follicolare costituito da cellule squamose (CS); organo epigonale molto sviluppato (OEP); B) follicolo ovarico in tarda previtellogenesi, circondato esternamente dallo strato di teca connettivale (TC), ed internamente dalla zona pellucida (ZP); C) follicolo ovarico in piena vitellogenesi con evidenti gocce di vitello proteico (VP); D) follicolo atresico (FA) dove si nota la lamina basale (LB) collassata; E) follicolo in previtellogenesi, in cui sono visibili gocce lipidiche (GL) (H&E).

La ghiandola oviducale

Nelle femmine immature la ghiandola si è mostrata indifferenziata e molto piccola (1,4-14 mm) (Fig. 47A). Durante la fase di sviluppo, la ghiandola ha iniziato ad essere ben visibile (5,7-34,3 mm) (Fig. 47B). Le femmine capaci di riprodursi (45,5-59 mm) e in deposizione (32,8-61,9 mm) hanno presentato una ghiandola completamente sviluppata con estensioni laterali (Fig 47C, D); in queste fasi sono state raggiunte le dimensioni massime e le quattro zone erano chiaramente distinguibili nel piano sagittale. Nelle femmine in regressione le dimensioni delle ghiandole erano leggermente ridotte (29,2-61 mm) (Fig. 47E). Infine, in quelle in fase di rigenerazione (23.5 - 34,5 millimetri) il diametro era ulteriormente ridotto e le quattro zone erano scarsamente distinguibili (Fig. 47F).

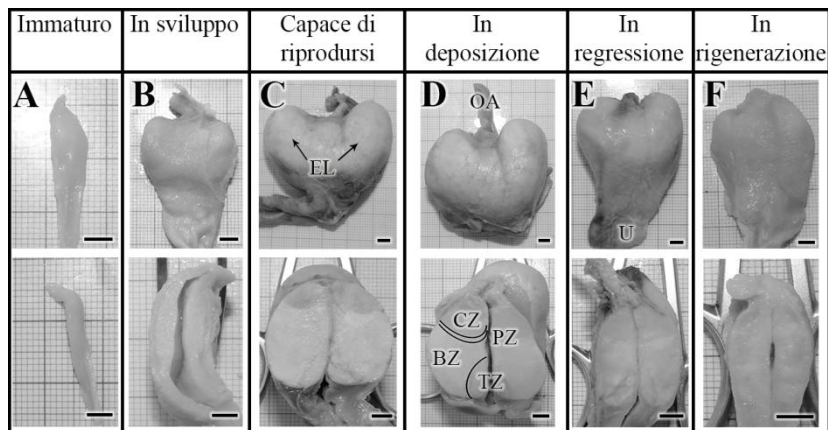


Figura 47. Per ogni fase di maturità viene mostrata la ghiandola oviducale intera (in alto) e il corrispondente piano sagittale (sotto): verso l'alto l'intera ghiandola e sotto il suo piano sagittale corrispondente. A-immaturato; B- in sviluppo; C- capace di riprodursi, le estensioni laterali sono completamente formate; D-in deposizione, le quattro zone sono chiaramente visibili; E-in regressione; F-in rigenerazione. Scale bar 5 millimetri. OA- ovidotto anteriore, zona BZ-baffle zone CB-club zone, EL- estensioni laterali, PZ-papillary zone, TZ-terminal zone, U- utero.

La larghezza della ghiandola all'avanzare delle fasi maturative (Fig. 48) ha mostrato differenze statisticamente significative (ANOVA F-ratio= 1140.4, P-value= 0). Il test di Tukey non ha mostrato differenze significative solo tra gli stadi 3a-3b 3b-4a e 4a-4b.

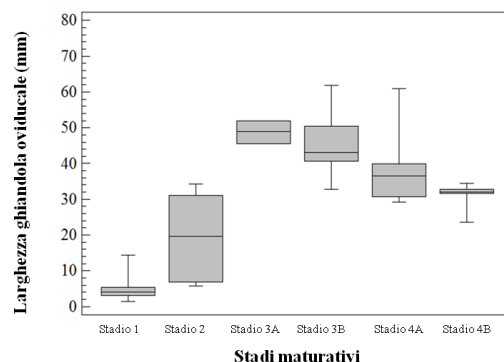


Figura 48. Evoluzione della larghezza della ghiandola oviducale di *D. oxyrinchus* nei diversi stadi maturativi.

Esemplari immaturi hanno mostrato una ghiandola non ancora differenziata, composta da tessuto connettivo e semplici cellule epiteliali colonnari con lamelle uniformi. Nella fase di sviluppo, i tubuli hanno iniziato la differenziazione e le lamelle hanno iniziato il loro sviluppo lungo il lume della ghiandola. In entrambe queste fasi la tecnica PAS/AB non ha reagito. Nelle femmine mature e in deposizione (Stadi 3A e 3B), la ghiandola è apparsa totalmente differenziata nelle quattro zone. La club zone ha presentato le tipiche lamelle a forma di clava (Fig. 49A) e costituite da tessuto colonnare ciliato sostenuto da tessuto connettivo lasso. L'epitelio ghiandolare era formato da ghiandole tubulari (Fig. 49B) aventi cellule ciliate e secretorie (Fig. 49C). Queste cellule hanno reagito fortemente alla tecnica (PAS+ e AB+) indicando la presenza di mucopolisaccaridi. La papillary zone ha presentato le tipiche lamelle digitiformi (Fig. 49D). Le ghiandole di questa zona, simili a quelle osservate nella club, erano semplici o occasionalmente ramificate. I tubuli secretori hanno prodotto due tipi di mucine: 1) la maggior parte dei tubuli erano PAS+ AB+) la regione vicino al lume era intensamente PAS+ (Fig. 49E). Nella baffle zone le lamelle erano strette alla base e terminavano apicalmente con un "plateau". Ogni lamella presentava cellule ciliate al suo apice (Fig. 49F). Le ghiandole tubulari presenti in questa zona non hanno reagito alla tecnica PAS/AB (Fig. 49G, H). La terminal zone non è risultata organizzata in lamelle (Fig. 49I) e le ghiandole tubulari sono risultate a secrezione sierosa (PAS+/AB-), con granuli mucosi (AB+) con grandi cellule vescicolari (Fig. 49J). Infine, le ghiandole vicine allo strato muscolare erano chiaramente mucose e debolmente colorate AB+ (Fig. 49K).

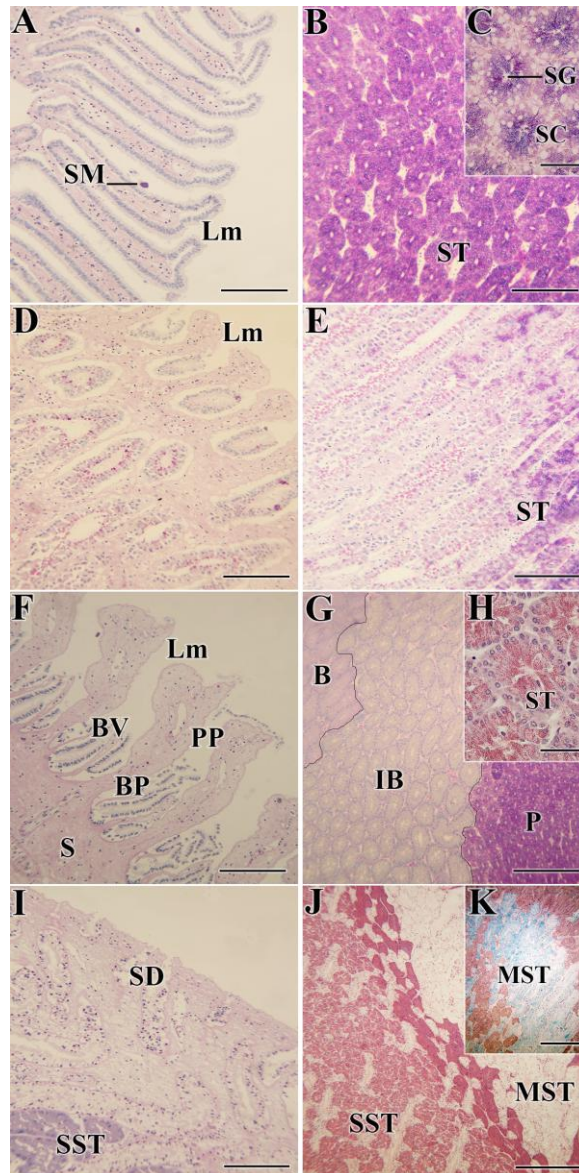


Figura 49. Panoramica delle 4 zone che compongono la ghiandola oviduciale di *D. oxyrinchus*. A) lamelle della club zone (H&E). B) materiale secretorio immagazzinato all'interno delle cellule secretorie della club zone (PAS+/AB+). C) dettaglio dei tubuli secretori della club zone. D) lamelle della papillary zone (H&E). E) tubuli secretori della papillary zone contenenti granuli PAS+ e tubuli secretori PAS+/AB . F) lamelle della baffle zone (H&E). G) panoramica della papillary zone (PAS+/AB+) e della baffle zone che presenta una zona intermedia (PAS-/AB-). H) tubuli secretori della baffle zone (H&E). I) struttura della terminal zone che non mostra lamelle, ma dotti secretori. J) tubuli secretori mucosi e sierosi della terminal zone (H&E). K) dettaglio dei tubuli secretori mucosi AB positivi. Scale bars G, J -300 micron; A, B, D, F, H, I -100 micron; C, H -40 micron. BP- baffle plates, BV- vasi sanguigni, BZ- baffle zone, Lm- lamelle, MST- tubuli secretori mucosi, PP-plateau projections, SD- dotti secretori, SM-materiale secretorio , SST- tubuli secretori sierosi, ST- tubuli secretori.

Il materiale secretorio è stato trovato nei recessi profondi della baffle zone (Fig. 50A), e all'interno delle ghiandole tubulari vicino al lume (Fig. 50B) e all'interno dei dotti secretori (Fig. 50C). Nella terminal zone, lo stesso materiale è stato trovato all'interno delle ghiandole vicino al lume (Fig. 50D) e tra le ghiandole (Fig. 50E), mentre accumuli di sostanza (materiale) marrone sono stati osservati solo nei recessi più profondi.

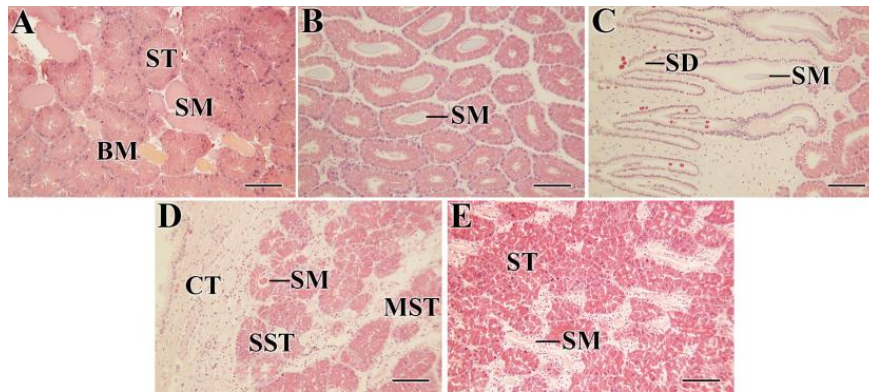


Figura 50. A) materiale secretorio e marrone trovato nei recessi profondi della baffle zone (H&E). B) materiale secretorio trovato all'interno dei tubuli della baffle zone (H&E). C) materiale secretorio all'interno dei dotti secretori (H&E). D-E) materiale secretorio all'interno dei tubuli secretori sierosi della terminal zone (H&E). Scale bars -100 micron. BM- materiale marrone, MST- tubuli secretori mucosi, SD- dotti secretori, SM-materiale secretorio, SST- tubuli secretori sierosi, ST-tubuli secretori.

Nelle femmine in regressione, nonostante la riduzione della larghezza della ghiandola, essa ha mostrato ancora un'attività secretoria, anche se ridotta. Nella fase di rigenerazione, invece la ghiandola ha perso l'affinità per la tecnica istochimica.

Spermatozoi non aggregati sono stati spesso individuati nei tubuli ghiandolari nei recessi più profondi della baffle zone (Fig. 51A) e all'interno dei tubuli ghiandolari vicini al lume della baffle zone (Fig. 51B). Occasionalmente, sono stati visti all'interno tubuli vicino lume della terminal zone (Fig. 51C).

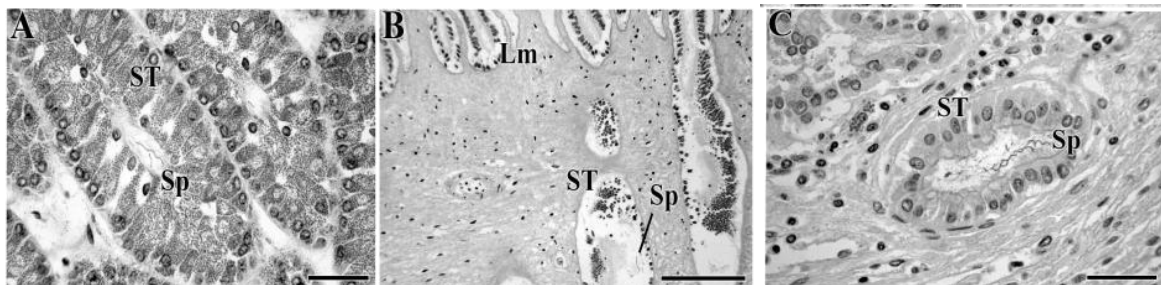


Figura 51. A) sperma all'interno dei tubuli secretori nei profondi recessi della zona deflettore (H & E). B-sperma all'interno dei tubuli ghiandola vicino il lume della zona deflettore (H & E). C-sperma all'interno tubuli della zona terminale (H & E). Barre di scala A, C-40 micron, B-100 micron. Lm-lamelle, Sp-sperma, tubulo ST-secretoria.

Maschi - testicolo

Anche per i maschi sono stati riscontrati tutti gli stadi macroscopici (Tab. 13). L'istologia delle sezioni di testicolo ci ha permesso di confermare tutti gli stadi. In particolare, negli individui immaturi l'analisi microscopica dei testicoli ha permesso di individuare gonociti, spermatogoni (in prevalenza) (Fig. 52A), spermatociti primari e secondari. Negli individui in sviluppo, è stato possibile osservare le spermatocisti in tutte le fasi della spermatogenesi (Fig. 52B). Gli spermatidi sono più abbondanti rispetto ai maschi immaturi. Nei maschi maturi le spermatocisti contenenti spermatidi e spermatozoi (Fig. 52C) sono molto abbondanti ed occupano una grossa porzione della sezione testicolare. nei maschi attivi, le spermatocisti contenenti gli spermatozoi sono molto più abbondanti (Fig. 52D). Negli individui in regressione i tubuli sono risultati collassati e vuoti, privi di spermatozoi (Fig. 52E).

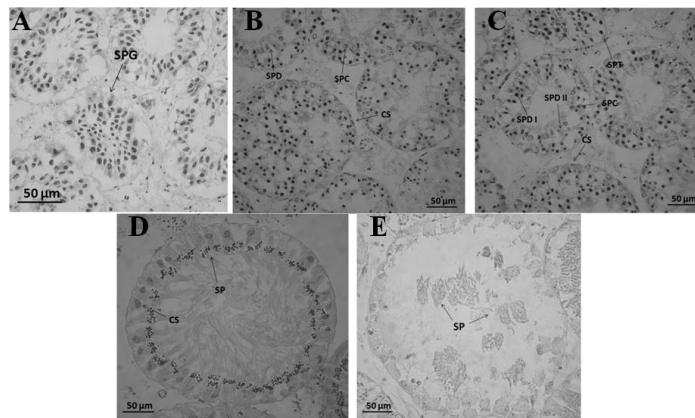


Figura 52. Stadi della spermatogenesi in *D. oxyrinchus*: A) spermatogoni (SPG); B) spermatocisti con, al loro interno, spermatociti (SPC); C) spermatocisti (SPC) e spermatidi (SPD); D) lobulo contenente cisti con spermatozoi (SPT) e cellule del Sertoli (CS) alla periferia; E) tubuli collassati contenenti pochi spermatozoi (SPT) maturi.

Così come è stato riscontrato per la ghiandola oviducale negli individui femminili, anche la crescita degli pterigopodi subisce un incremento proporzionale alla taglia degli individui, accrescendosi man mano che questi ultimi raggiungono la piena maturità (Fig. 53) (ANOVA, F-ratio= 1354.72; P-value < 0.05).

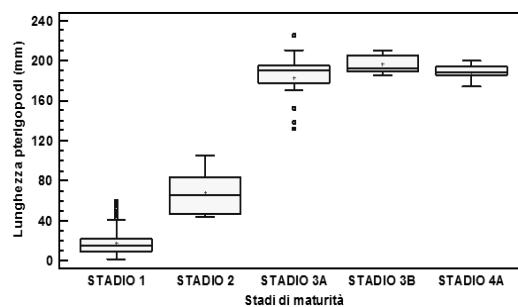


Figura 53. Evoluzione della lunghezza degli pterigopodi della popolazione maschile di *D. oxyrinchus*.

L'andamento dei valori delle lunghezze medie rispetto agli stadi maturativi appare piuttosto simile sia per i maschi che per le femmine (Fig. 54), nonostante queste ultime raggiungano taglie maggiori rispetto ai maschi. In generale, in entrambi i sessi, è possibile osservare come la lunghezza totale media aumenti con l'avanzare della maturità degli individui fino allo Stadio 3A, per poi rimanere più o meno costante negli Stadi successivi. Per quanto riguarda la popolazione femminile (Fig. 54A), questa tendenza è pienamente dimostrata statisticamente con l'ANOVA (F-ratio= 111.04; P-value < 0.05) e col Multiple Range Test, mettendo in evidenza differenze statisticamente significative solo tra i primi due Stadi maturativi e gli altri, e tra questi e gli Stadi 3A, 3B, 4A, 4B. Per la popolazione maschile (Fig. 54B), i risultati statistici ottenuti sono risultati piuttosto simili (ANOVA, F-ratio= 140.92; P-value < 0.05).

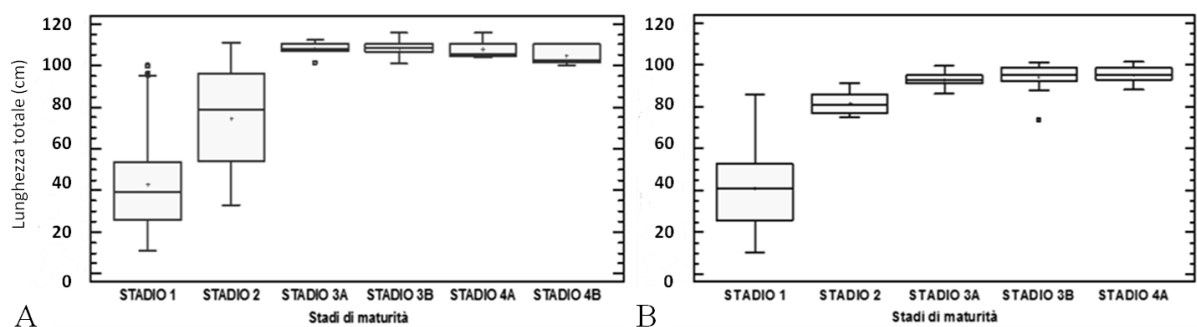


Figura 54. Evoluzione dei valori di lunghezza totale della popolazione femminile (A) e maschile (B) di *D. oxyrinchus* in base agli stadi di maturità.

Le femmine hanno maturato a taglie superiori (range LT= 98,2-117 cm) rispetto ai maschi (range LT= 86,3-99,5 cm). La taglia stimata alla maturità (L_{50}) si aggira sui 103,4 centimetri LT per le femmine e 91 centimetri LT per i maschi (Fig. 55).

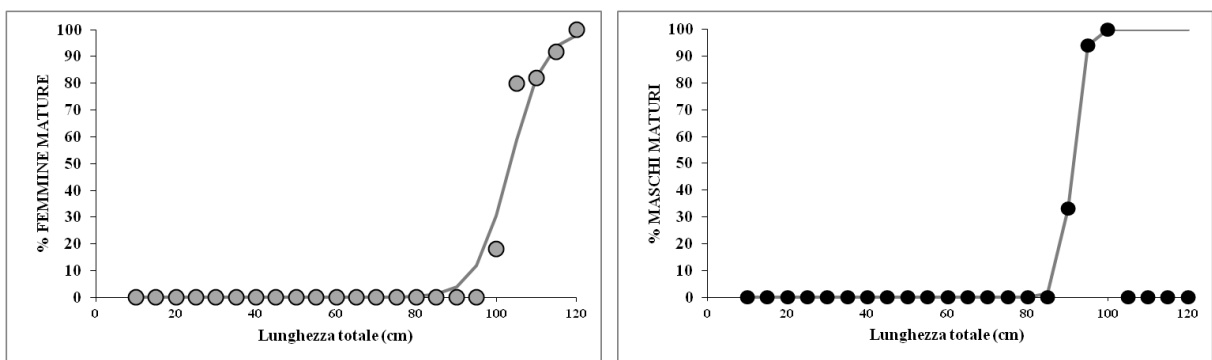


Figura 55. Taglia di maturità delle femmine e maschi di *D. oxyrinchus*.

Durante il periodo di campionamento tutti gli stadi maturativi sono stati registrati con alcune variazioni (Fig. 56). In particolare, per quanto riguarda le femmine, una predominanza di

esemplari immaturi è stata osservata durante tutto l'anno. Le femmine mature ed, in particolare portanti capsule ovigere invece, sono state campionate principalmente in inverno ed autunno e con meno frequenza in primavera ed estate. Come le femmine, anche i maschi immaturi sono risultati essere predominanti in tutte le stagioni. Esemplari maturi e attivi sono stati trovati durante tutto l'anno.

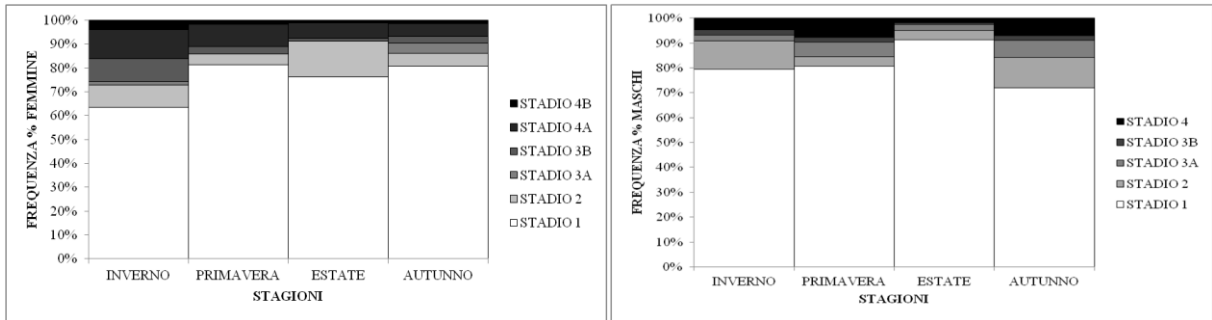


Figura 56. Frequenza percentuale degli stadi maturativi nella popolazione femminile e maschile di *D. oxyrinchus*.

L'analisi dell'indice gonado-somatico applicata agli esemplari in via di maturazione e maturi durante tutto l'anno ha mostrato che le femmine hanno raggiunto il valore più alto durante l'inverno e l'autunno (ANOVA F-ratio= 2.91, P-value <0.05), andando a confermare i risultati precedenti. Durante il resto dell'anno, la media dell'IGS è rimasta relativamente bassa, e ciò sta ad indicare che la specie non era in fase riproduttiva (Fig. 57A). Nei maschi, i valori dell'IGS erano piuttosto simili in tutte le stagioni (ANOVA F-ratio= 0.53, P-value >0.05) (Fig. 57B).

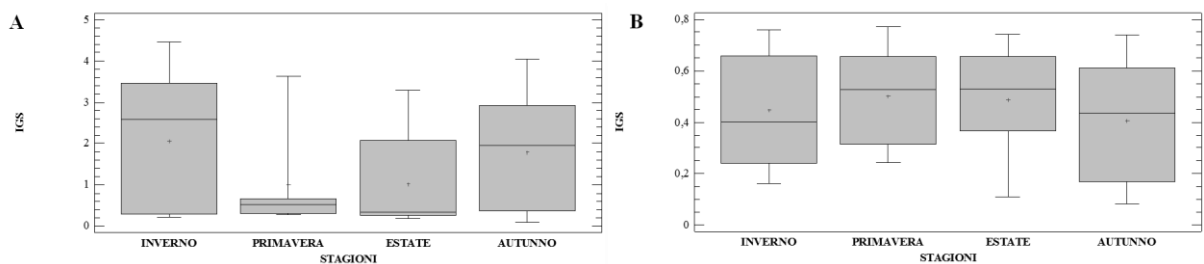


Figura 57. Valori dell'indice gonado-somatico (IGS) nelle femmine (A) e maschi (B) di *D. oxyrinchus* lungo il corso della stagioni.

Fecondità

La fecondità ovarica nelle femmine mature è variata tra 19-26 follicoli maturi in entrambe le ovaie (23 ± 2.9 follicoli maturi, media \pm D.S.). Il diametro dei follicoli vitellogenici è variato tra 9-36,6 mm con una dimensione media di 19,7 mm (\pm 6,5 millimetri).

Conclusioni

La razza monaca *D.oxyrinchus* ha mostrato un forte dimorfismo sessuale legato alla taglia, con le femmine che si accrescono e che maturano a taglie maggiori rispetto ai maschi. Tale fenomeno viene riscontrato per la stessa specie nel Mar Egeo settentrionale (Yigin e Ismen, 2010) e per i congeneri: *D. nidarosiensis* in acque sarde (Follesa *et al.*, 2012a) e *D. chilensis* (Oddone *et al.*, 2005) nell'Oceano Atlantico.

Anche per *D.oxyrinchus* la scala di maturità scelta è risultata essere pienamente confermata dalle nostre osservazioni. L'analisi delle dimensioni degli organi secondari ha inoltre permesso di convalidare ulteriormente gli Stadi di maturità. Analogamente a *R. miraletus*, la relazione tra la lunghezza degli pterigopodi e la lunghezza totale individuale ha mostrato uno sviluppo lento negli individui non maturi e una velocissima crescita a partire da quelli in sviluppo. Per la prima volta vengono riportate le dimensioni della ghiandola oviducale che è risultata essere una delle più grandi della famiglia Rajidae (LGO massima= 61.9 mm), assieme a quella del congenere *D.nidarosiensis* (LGO massima= 67 mm) (Follesa *et al.*, 2012).

L'analisi della maturità dal punto di vista istologico è risultata analoga a quella effettuata per *R.miraletus*, con entrambi gli ovari contenenti follicoli in sviluppo in tutti gli stadi, mettendo in evidenza un processo oogenico continuo. Spermatocisti contenenti spermatozoi sono stati inoltre ritrovati a partire dagli individui in via di sviluppo, sottolineando ancora una volta l'asincronicità tra lo sviluppo spermatogenico e quello degli organi copulatori.

L'organizzazione interna della ghiandola oviducale è risultata simile a quella di altri Condritti della famiglia Rajidae. Tuttavia, la rilevanza di ciascuna regione ghiandolare è stata correlata con gli adattamenti riproduttivi di ogni specie (Hamlett *et al.*, 2005). La microstruttura della ghiandola negli stadi immaturi e in via di sviluppo è apparsa identica a quella di *R. miraletus*. Gli individui immaturi hanno mostrato una ghiandola indifferenziata nella quale la colorazione istochimica PAS/AB non ha reagito. A partire dagli individui maturi invece, si è potuto apprezzare lo sviluppo della ghiandola che ha mostrato istologicamente una forte reazione alla tecnica di colorazione istochimica utilizzata. In particolare si è osservata la produzione di mucine acide e neutre come riscontrato in altri elasmobranchi ovipari come *S. canicula* (Threadgold, 1957; Rusaouën, 1976), *Raja eglanteria* e *Leucoraja erinacea* (Hamlett *et al.*, 1998), *R. clavata* (Serra-Pereira *et al.*, 2011), *Sympterygia acuta* (Galíndez e Estecondo, 2008), *S. bonapartii* (Galíndez *et al.*, 2010), *Callorhynchus milii* (Smith *et al.*,

2004). Il materiale secretorio prodotto dalla club zone della razza monaca è apparso identico a quello di *R. miraletus* con produzione di mucine neutre e acide che hanno la funzione di proteggere l'uovo. Il materiale secretoria prodotto dalla papillary zone ha invece presentato un'elevata variabilità. In *D. oxyrinchus*, sono stati identificati due settori, uno simile alla club zone (PAS+/AB+) e l'altro, vicino alla lamelle, conteneva molte mucine neutre intensamente colorate PAS+ come avvenuto anche in *R. clavata* (Serra-Pereira *et al.*, 2011). La baffle zone, similmente a quella della razza bruna, ha presentato un elevato profilo di lamelle ed è quella che produce l'involucro terziario dell'uovo (capsula ovigera) (Hamlett *et al.*, 1998; Galíndez *et al.*, 2010; Serra-Pereira *et al.*, 2011.). Questa zona è risultata negativa ai carboidrati (PAS- / AB-) confermando la natura proteica delle secrezioni prodotte ("cristalli liquidi") (Knight *et al.*, 1993; Koob e Cox, 1993) come riportato per altre specie di Rajidi (es. Hamlett *et al.*, 1998; Serra-Pereira *et al.*, 2011.). Nella piccola razza *L. erinacea* sei principali proteine con livelli elevati di glicina, serina, prolina e tirosina erano contenuti nella matrice capsula assemblato (Koob e Cox, 1993). La sostanza marrone presente nella baffle zone sono risultati negativi alle tecniche di colorazione adottate. Come suggerito da Threagold (1957), Koob e Cox (1990, 1993) e Serra-Pereira *et al.* (2011), la consistenza e colore di questa sostanza suggerisce il fatto che sia implicata nella formazione diretta della capsula.

Come per altri Condritti (es, Smith *et al.*, 2004; Hamlett *et al.*, 2005), la terminal zone è risultata composta da ghiandole mucose e sierose. Questa caratteristica è comune nelle specie ovipare che producono sottili filamenti chiamati "capelli" sulla superficie della capsula e che gli permette un miglior fissaggio al substrato. Diversamente dalla razza bruna, *D. oxyrinchus* ha presentato una terminal zone più variegata con una parte distale costituita esclusivamente da ghiandole mucose, un breve tratto costituito da ghiandole miste (mucose e sierose) e la regione vicino al lume quasi interamente sierosa. Questo pattern può essere giustificato col fatto che *D. oxyrinchus*, deponendo le capsule su substrati fangosi, necessita di produrre filamenti adesivi (capelli) più robusti rispetto a *R. miraletus* che invece depone su substrati sabbiosi. La presenza di spermatozoi nei recessi profondi della baffle zone della razza monaca potrebbe essere connesso ad una conservazione per periodi più lunghi (settimane/mesi) rispetto alla razza costiera *R. miraletus*. Questo comportamento, in associazione con una preferenza di *D. oxyrinchus* per ambienti profondi con bassa densità di popolazione e la bassa probabilità di accoppiamento, potrebbe rappresentare una strategia adattativa per la specie, che si avvalgono della possibilità di accoppiarsi in qualsiasi momento.

Infine, per quanto riguarda la taglia di maturità sessuale, questa è risultata essere piuttosto tardiva come riscontrato in altri studi presenti in letteratura (Yigin e Ismen, 2010), ma a

differenza di questi, le taglie riscontrate nel presente studio sono apparse molto maggiori, dovuto anche al fatto che gli esemplari campionati nelle acque sarde hanno raggiunto dimensioni superiori rispetto a quelli campionati nel Mar Egeo. Dallo studio del periodo riproduttivo è emerso che gli accoppiamenti di questa specie avvengono durante tutto l'anno e che la deposizione delle uova avviene prevalentemente nelle stagioni invernali, primaverili e autunnali come riscontrato in altri studi (Serena, 2005).

La razza monaca, nei mari della Sardegna, ha mostrato una fecondità molto bassa che va 19-26 follicoli vitellogenici prodotti.

Date le caratteristiche riscontrate in questo studio, appare chiaro come questo grande raiforme sia molto vulnerabile alla pressione di pesca, specialmente se quest'ultima dovesse intensificarsi.

5.5. Le capsule ovigere dei Rajidi.

Nel Mediterraneo la famiglia Rajidae è rappresentata da 4 generi (Dipturus, Leucoraja, Raja e Rostroraja) e 15 specie (Compagno, 2005). Nei mari sardi sono presenti solo 8 delle specie mediterranee: *D. nidarosiensis*, *D. oxyrinchus*, *L. circularis*, *R. asterias*, *R. brachyura*, *R. clavata*, *R. miraletus* e *R. polystigma*.

La vulnerabilità di questo gruppo rende urgente una maggiore attenzione sulla bio-ecologia di queste specie e in particolare esistono molte incertezze tassonomiche che rendono difficile discriminarle.

L'analisi delle capsule ovariche risulta essere importante nell'identificazione delle specie e forniscono informazioni importanti sulla biologia riproduttiva, la sistematica e le relazioni filogenetiche (Concha *et al.*, 2012).

Per cui, delle 8 specie che abitano i mari sardi, si è deciso di porre l'attenzione sulle 6 più comuni e di escludere dall'analisi *D. nidarosiensis* e *L. circularis* in quanto molto rare e perchè non sono state reperite capsule di queste specie.

Risultati

D. oxyrinchus

Sono state analizzate 21 capsule provenienti da esemplari di razza monaca con taglie comprese tra 88 e 115.5 cm campionate a profondità comprese tra 273 e 625 m in tutte le stagioni dell'anno. Le capsule di *D. oxyrinchus* (Fig. 58) presentano una forma rettangolare con chiglie ben evidenti. il colore della capsula a fresco presenta sfumature che vanno dall'ambra (PMS 130), al verdastro (PMS 132), al marrone (PMS 4265). Sulla superficie presenta i cosiddetti "capelli" e nelle chiglie sono presenti delle fibrille adesive. La capsula presenta dimensioni notevoli (LC= 103.6 ± 5.5 mm; media \pm D.S.) e una larghezza (LAC) media di 57.0 ± 4.0 mm (media \pm D.S.).



Figura 58. Capsula ovigera di *D. oxyrinchus*.

Le corna anteriori sono visibilmente corte e robuste e hanno presentato valori simili (LCDA= 32.4 ± 4.8 mm; LCSA= 32.4 ± 4.8 mm; media \pm D.S.), e sono unite all'apertura anteriore che è leggermente arrotondata (LAA= 14.8 ± 3.1 mm). Le corna posteriori sono leggermente più sottili e lunghe rispetto alle anteriori (LCDP= 32.4 ± 4.8 mm; LCSP= 32.4 ± 4.8 mm; media \pm D.S.) e sono ricoperte per quasi tutta la loro lunghezza dall'apertura posteriore che si presenta più lunga rispetto a quella anteriore (LAP= 26.0 ± 2.5 mm). Sia la chiglia destra che quella sinistra sono evidenti e robuste (LACD= 32.4 ± 4.8 mm; LACS= 32.4 ± 4.8 mm; media \pm D.S.). Lo spessore della capsula ha mostrato i seguenti valori 24.3 ± 3.7 mm (media \pm D.S.).

Di seguito vengono riportate le correlazioni riguardanti alcune variabili morfometriche delle capsule sono correlate positivamente, tranne la lunghezza della capsula e lo spessore (Fig. 59).

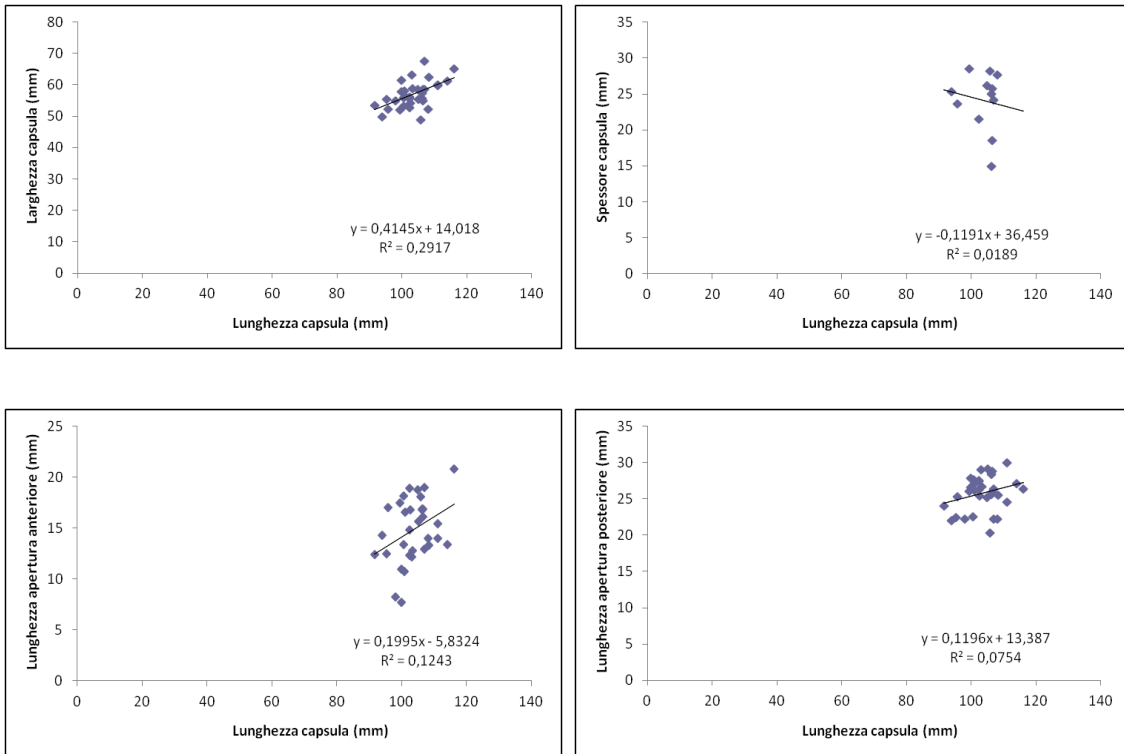


Figura 59. Correlazione lineare tra diverse variabili morfometriche delle capsule di *D. oxyrinchus*.

R. asterias

Sono state analizzate 27 capsule provenienti da esemplari di razza stellata con taglie comprese tra 51.7 e 67.5 cm campionate a profondità comprese tra 28 e 80 m in primavera ed estate. Le capsule di *R. asterias* (Fig. 60) sono molto piccole, presentano una forma rettangolare con chiglie evidenti. il colore della capsula a fresco è marrone-verdastro (PMS 133 PC). Sulle chiglie sono presenti le fibrille adesive. La capsula presenta dimensioni medie molto ridotte (LC= 48.9 ± 3.1 mm; media \pm D.S.) e una larghezza (LAC) media di 33.9 ± 2.9 mm (media \pm D.S.).



Figura 60. Capsula ovigera di *R. asterias*.

Le corna anteriori sono lunghe e sottili e hanno presentato valori simili (LCDA= 22.9 ± 3.7 mm; LCSA= 22.7 ± 3.8 mm; media \pm D.S.), e sono collegate all'apertura anteriore che è poco sviluppata e leggermente arrotondata (LAA= 2.4 ± 0.8 mm). Le corna posteriori sono leggermente più lunghe rispetto alle anteriori (LCDP= 24.3 ± 3.3 mm; LCSP= 24.4 ± 3.2 mm; media \pm D.S.) e collegate all'apertura posteriore mostra dimensioni maggiori rispetto a quella anteriore (LAP= 7.0 ± 1.4 mm). Sia la chiglia destra che quella sinistra sono evidenti ma poco sviluppate (LACD= 2.5 ± 0.7 mm; LACS= 2.5 ± 0.8 mm; media \pm D.S.). Lo spessore della capsula ha mostrato i seguenti valori 10.1 ± 0.9 mm (media \pm D.S.).

Di seguito vengono riportate le correlazioni riguardanti alcune variabili morfometriche delle capsule sono correlate positivamente (Fig. 61).

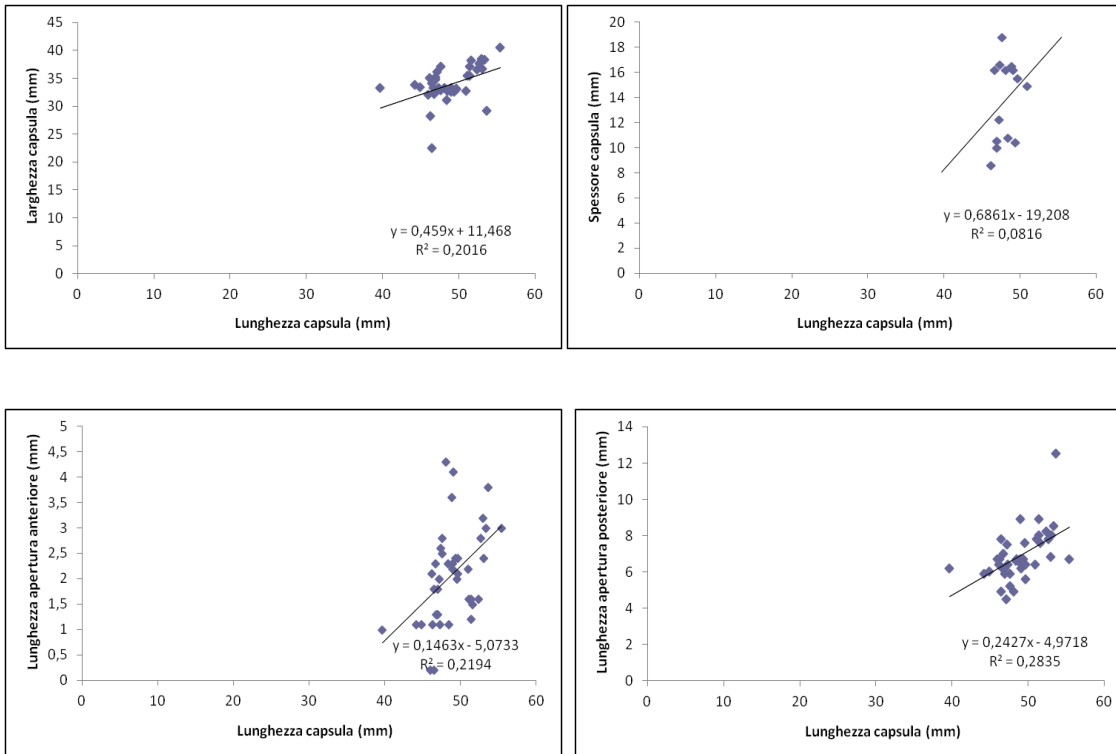


Figura 61. Correlazione lineare tra diverse variabili morfometriche delle capsule di *R. asterias*.

R. brachyura

Sono state analizzate 8 capsule provenienti da esemplari di razza bionda con taglie comprese tra 85.1 e 105.5 cm campionate a profondità comprese tra 30 e 53 m in primavera ed estate. Le capsule di *R. brachyura* (Fig. 62) sono molto grandi, presentano una forma rettangolare con chiglie evidenti. il colore della capsula a fresco è rosso-marrone (PMS 469) al centro e marrone-verdastro (PMS 133 PC) ai lati. Sulle chiglie sono presenti le fibrille adesive. La capsula presenta le dimensioni più grandi registrate rispetto alle altre capsule (LC= 122.8 ± 6.9 mm; media \pm D.S.) e una larghezza (LAC) media di 69.8 ± 2.3 mm (media \pm D.S.).



Figura 62. Capsula ovigera di *R. brachyura*.

Le corna anteriori sono corte, robuste e leggermente ricurve e hanno presentato valori identici (LCDA= 56.4 ± 4.5 mm; LCSA= 56.4 ± 4.5 mm; media \pm D.S.), e sono collegate all'apertura anteriore, molto sviluppata e arrotondata e che le ricopre per la maggior parte (LAA= 22.6 ± 2.9 mm). Le corna posteriori sono molto più lunghe e sottili rispetto alle anteriori (LCDP= 75.4 ± 8.0 mm; LCSP= 75.4 ± 8.0 mm; media \pm D.S.). L'apertura posteriore mostra dimensioni del tutto simili a quella anteriore (LAP= 22.1 ± 2.9 mm). Sia la chiglia destra che quella sinistra sono evidenti e ben sviluppate e quella sinistra sembra leggermente più sviluppata della destra (LACD= 5.3 ± 1.2 mm; LACS= 5.7 ± 1.6 mm; media \pm D.S.). Lo spessore della capsula ha mostrato i seguenti valori 19.1 ± 2.1 mm (media \pm D.S.).

Di seguito vengono riportate le correlazioni riguardanti alcune variabili morfometriche delle capsule sono correlate positivamente (Fig. 63).

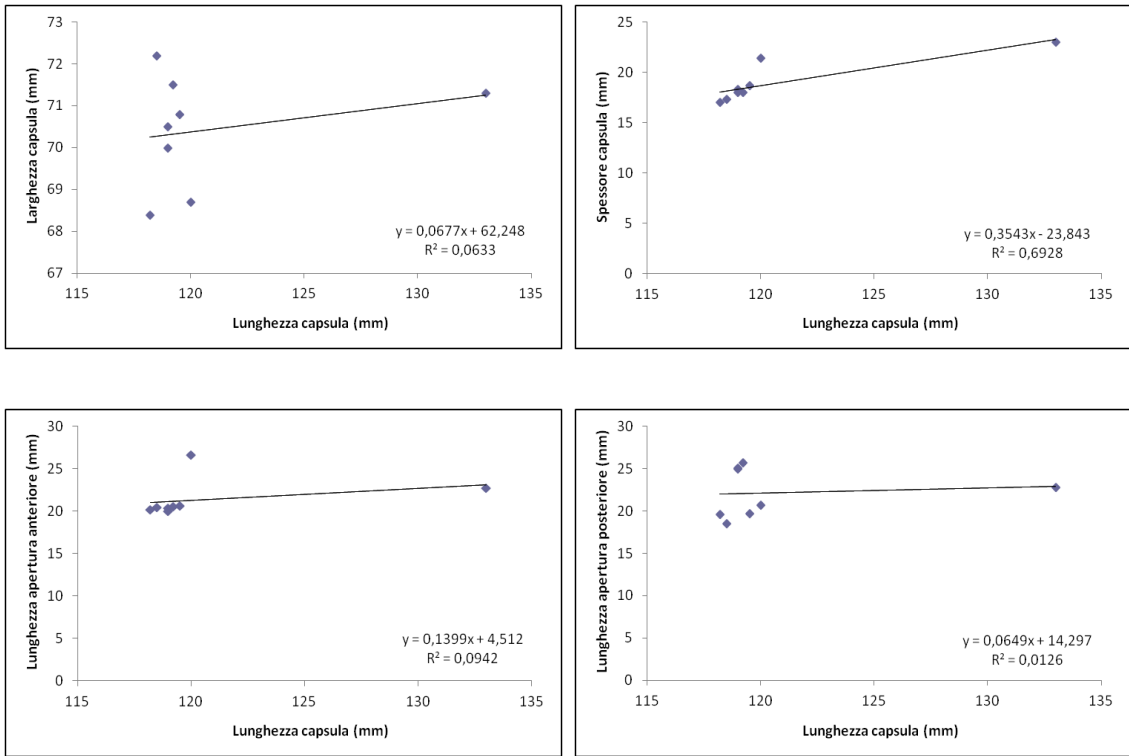


Figura 63. Correlazione lineare tra diverse variabili morfometriche delle capsule di *R. brachyura*.

R. clavata

Sono state analizzate 8 capsule provenienti da esemplari di razza chiodata con taglie comprese tra 54.5 e 87.5 cm campionate a profondità comprese tra 42 e 225 m in tutte le stagioni, eccetto che in autunno. Le capsule di *R. clavata* (Fig. 64) presentano dimensioni medie, una forma quasi quadrata se non si considerano le corna e chiglie piuttosto evidenti. Il colore della capsula a fresco va dal marrone (PMS 4624) all'ambra (PMS 138) al verde scuro (PMS 5815). Sulle chiglie sono presenti le fibrille adesive. La capsula presenta una lunghezza media di 62.9 ± 0.1 mm (media \pm D.S.) e una larghezza (LAC) di 44.0 ± 2.2 mm (media \pm D.S.).



Figura 64. Capsula ovigera di *R. clavata*.

Le corna anteriori sono corte e robuste (LCDA= 22.5 ± 0.8 mm; LCSA= 22.5 ± 0.8 mm; media \pm D.S.). L'apertura anteriore, non è molto sviluppata e si presenta arrotondata (LAA= 6.8 ± 0.5 mm). Le corna posteriori sono più lunghe e sottili rispetto alle anteriori (LCDP= 34.1 ± 4.1 mm; LCSP= 34.1 ± 4.1 mm; media \pm D.S.). L'apertura posteriore è più sviluppata rispetto a quella anteriore (LAP= 11.1 ± 0.7 mm). Sia la chiglia destra che quella sinistra sono evidenti e ben sviluppate con la destra leggermente più estesa rispetto alla sinistra (LACD= 4.5 ± 0.4 mm; LACS= 3.7 ± 0.6 mm; media \pm D.S.). Lo spessore della capsula ha mostrato i seguenti valori 12.5 ± 3.3 mm (media \pm D.S.).

Di seguito vengono riportate le correlazioni riguardanti alcune variabili morfometriche delle capsule: la larghezza e lo spessore della capsula risultano correlate in maniera negativa, mentre le aperture anteriori e posteriori sono correlate positivamente (Fig. 65).

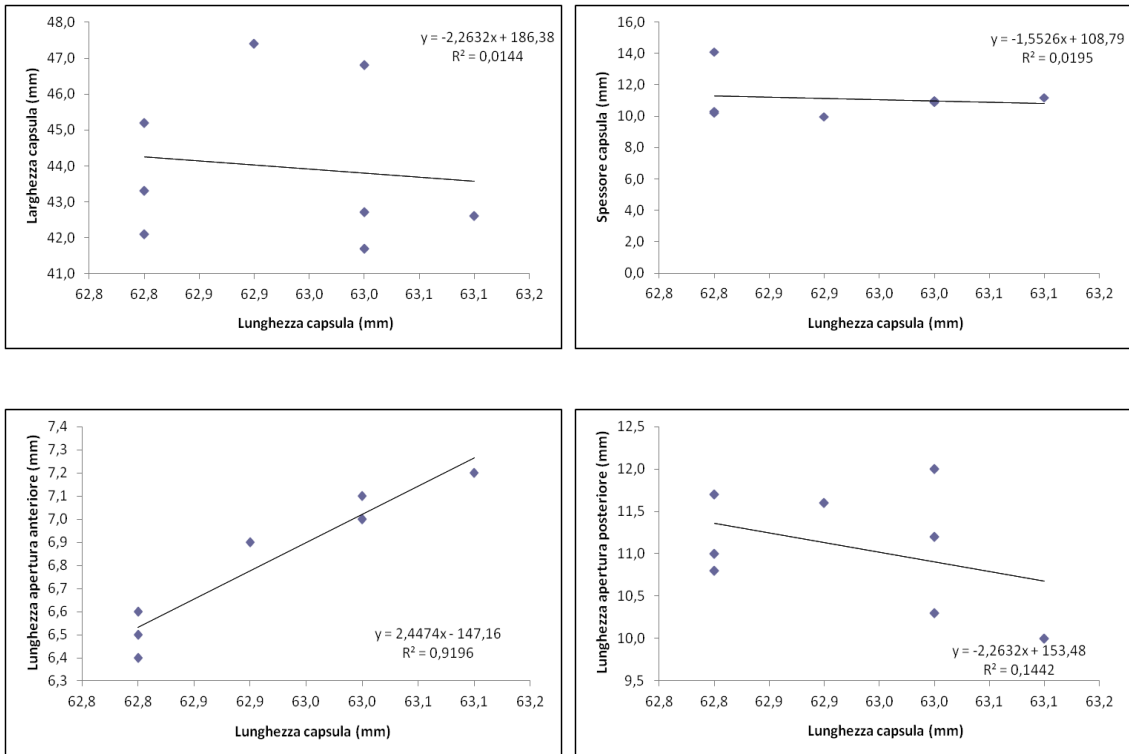


Figura 65. Correlazione lineare tra diverse variabili morfometriche delle capsule di *R. clavata*.

R. miraletus

Sono state analizzate 21 capsule provenienti da esemplari di razza bruna con taglie comprese tra 29.3 e 48.1 cm campionate a profondità comprese tra 32 e 134 m in tutte le stagioni eccetto l'autunno. Le capsule di *R. miraletus* (Fig. 66) sono le più piccole, hanno una forma rettangolare e non presentano chiglie. Sulla superficie sono presenti i "capelli" e le fibrille adesive sono presenti nelle corna anteriori. Il colore della capsula a fresco è ambra scuro (PMS 161, 1615) con sfumature verdastre. La capsula presenta una lunghezza media di 46.9 ± 3.5 mm (media \pm D.S.) e una larghezza (LAC) di 24.6 ± 1.8 mm (media \pm D.S.).



Figura 66. Capsula ovigera di *R. miraletus*.

Le corna anteriori sono corte e robuste e leggermente ricurve (LCDA= 16.1 ± 3.3 mm; LCSA= 16.3 ± 3.0 mm; media \pm D.S.). L'apertura anteriore che è poco sviluppata e leggermente arrotondata (LAA= 2.8 ± 1.3 mm). Le corna posteriori sono leggermente più lunghe e sottili rispetto alle anteriori (LCDP= 18.4 ± 4.9 mm; LCSP= 18.7 ± 4.4 mm; media \pm D.S.). L'apertura posteriore mostra dimensioni nettamente maggiori rispetto a quella anteriore (LAP= 7.4 ± 1.9 mm). Lo spessore della capsula ha mostrato i seguenti valori 9.4 ± 1.9 mm (media \pm D.S.).

Di seguito vengono riportate le correlazioni riguardanti alcune variabili morfometriche delle capsule che sono risultate essere tutte positive (Fig. 67).

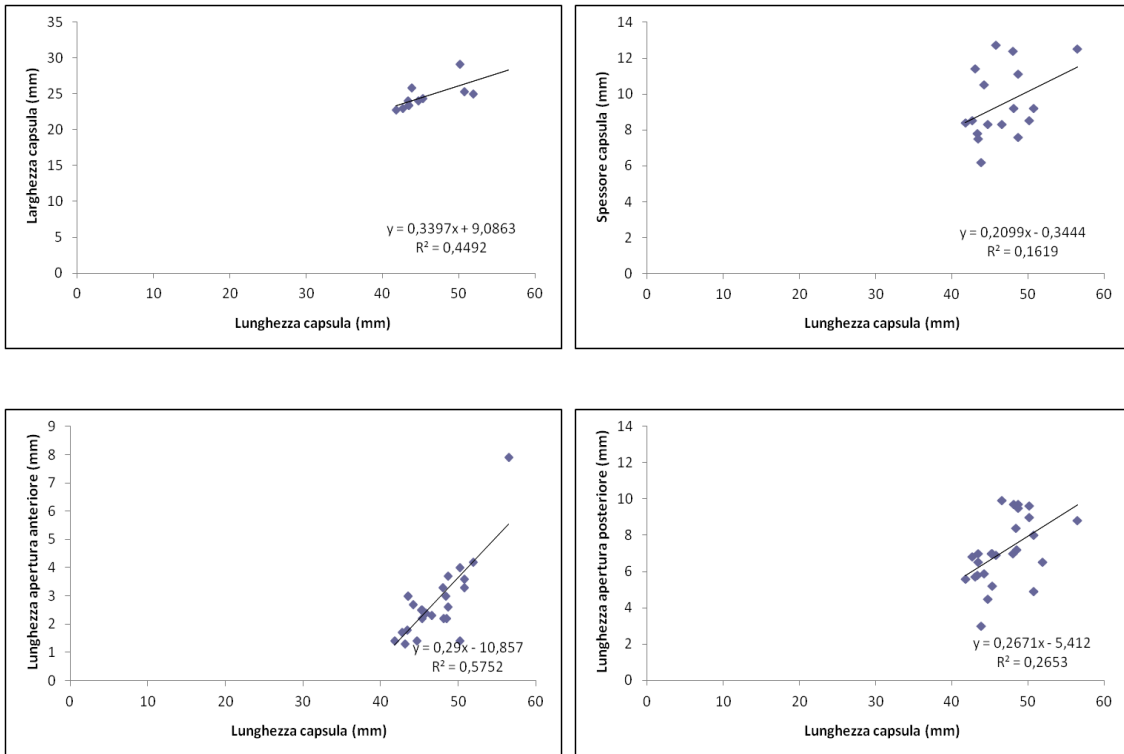


Figura 67. Correlazione lineare tra diverse variabili morfometriche delle capsule di *R. miraletus*.

R. polystigma

Sono state analizzate solamente 5 capsule provenienti da esemplari di razza polistima con taglie comprese tra 30.5 e 59.5 cm campionate a profondità comprese tra 40 e 126 m in primavera ed estate. Le capsule di *R. polystigma* (Fig. 69) presentano dimensioni medie, forma rettangolare e chiglie poco evidenti. Il colore della capsula a fresco è ambra (PMS 152) con sfumature arancioni (PMS 167). Sulle chiglie sono presenti le fibrille adesive e la superficie presenta "capelli". La capsula presenta una lunghezza media di 63.2 ± 4.7 mm (media±D.S.) e una larghezza (LAC) di 38.4 ± 2.9 mm (media±D.S.).



Figura 69. Capsula ovigera di *R. polystigma*.

Le corna anteriori sono lunghe e robuste (LCDA= 20.5 ± 5.5 mm; LCSA= 20.4 ± 5.4 mm; media±D.S.). L'apertura anteriore, non è molto sviluppata e si presenta arrotondata (LAA= 1.9 ± 0.6 mm). Le corna posteriori sono più lunghe e sottili rispetto alle anteriori (LCDP= 27.1 ± 3.7 mm; LCSP= 27.1 ± 3.5 mm; media±D.S.). L'apertura posteriore è più sviluppata rispetto a quella anteriore (LAP= 8.3 ± 1.8 mm). Sia la chiglia destra che quella sinistra sono poco evidenti e ben sviluppate con la destra leggermente più estesa rispetto alla sinistra (LACD= 1.9 ± 0.3 mm; LACS= 1.7 ± 0.5 mm; media±D.S.). Lo spessore della capsula ha mostrato i seguenti valori 13.7 ± 3.0 mm (media±D.S.).

Di seguito vengono riportate le correlazioni riguardanti alcune variabili morfometriche delle capsule che sono risultate essere tutte positive (Fig. 70).

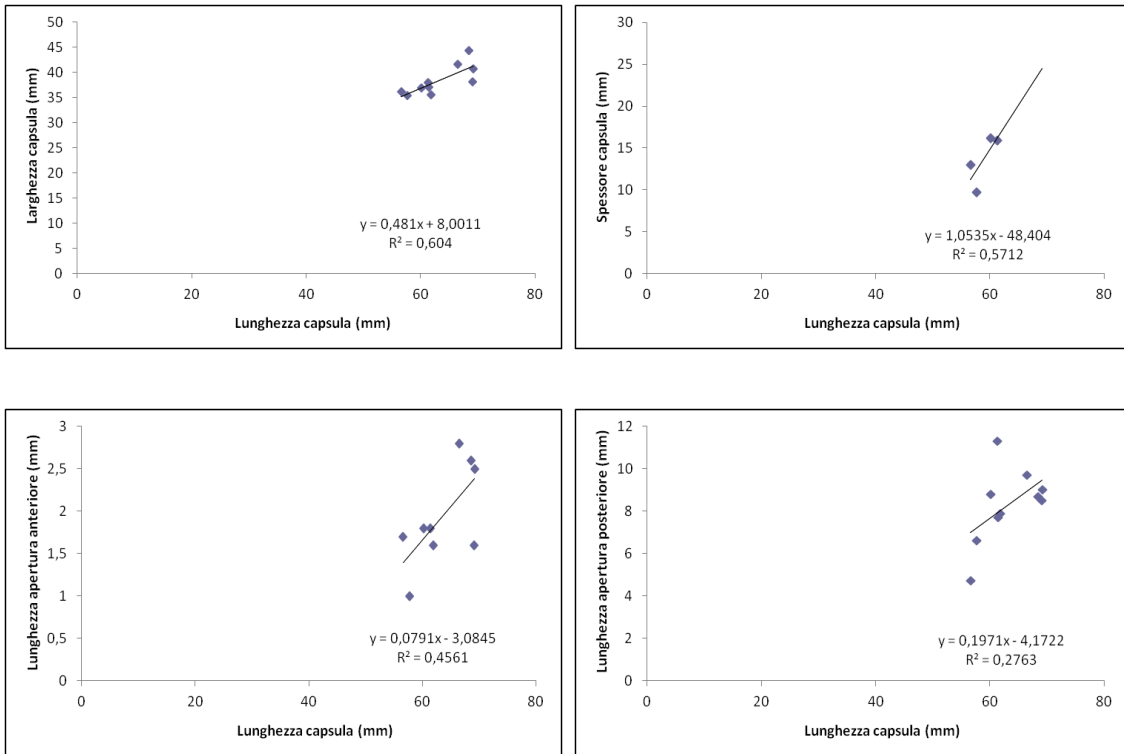


Figura 70. Correlazione lineare tra diverse variabili morfometriche delle capsule di *R. polystigma*.

Le capsule a confronto

L'analisi dei cluster e la multidimensional scaling (MDS) sono state condotte utilizzando 10 delle 11 variabili misurate. Non è stato considerato soltanto lo spessore della capsula.

Dal cluster si evidenziano due gruppi principali con una similarità di 88% (Bray-Curtis similarity): il primo gruppo è formato dalle capsule di dimensioni maggiori (*D. oxyrinchus* e *R. brachyura*) e il secondo da quelle più piccole (*R. asterias*, *R. clavata*, *R. miraletus* e *R. polystigma*) (Figg. 71, 72).

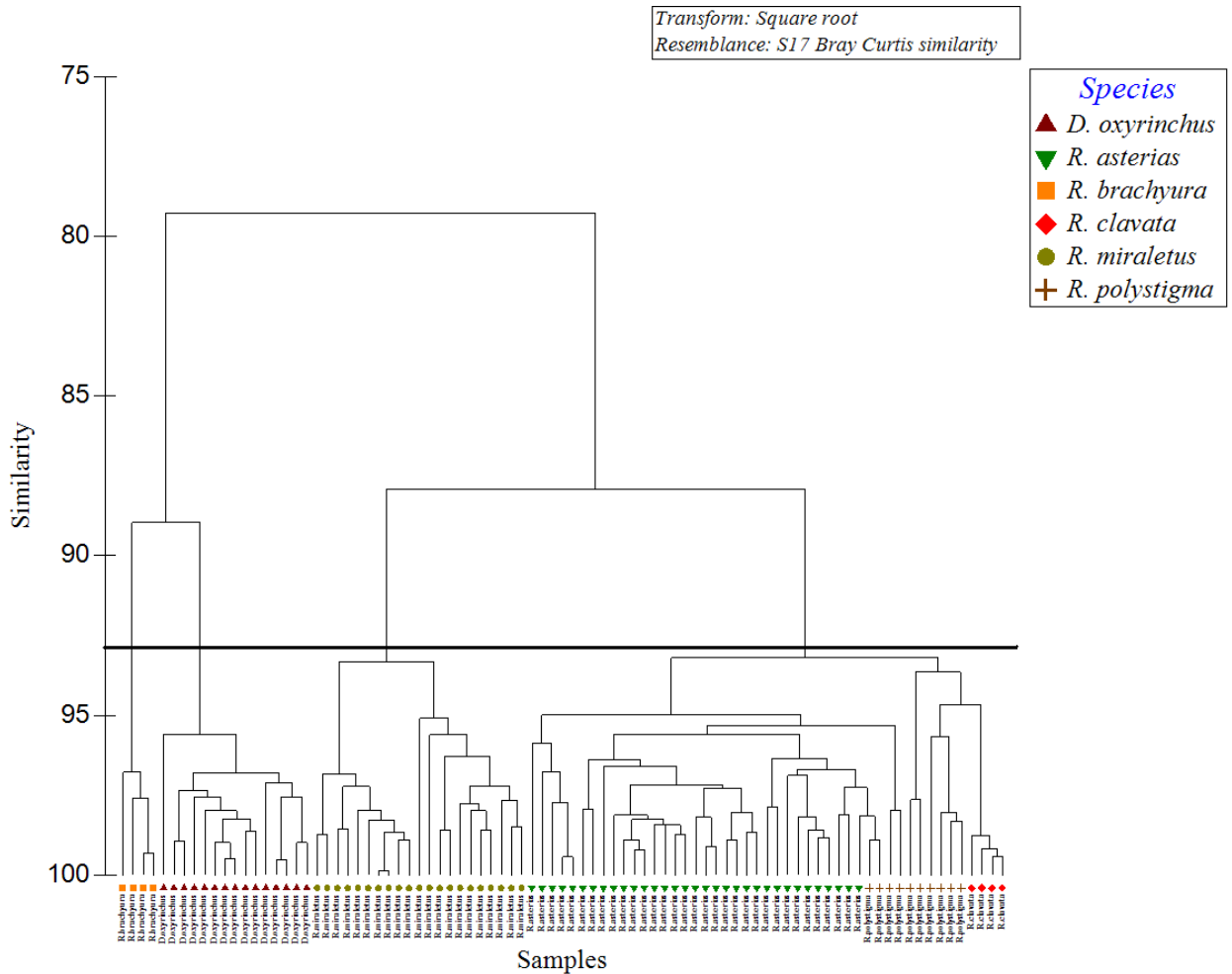


Figura 71. Dendrogramma basato sulle misure morfometriche delle capsule ovigere delle 6 specie analizzate utilizzando l'indice di similarità di Bray-Curtis.

A circa una similarità del 93% si possono distinguere 4 sotto-gruppi: il primo è composto solo dalle capsule della razza bionda, mentre il secondo da quelle della razza monaca. Il terzo sotto-gruppo invece è formato dalle capsule di tre specie, ovvero *R. asterias*, *R. clavata* e *R. polystigma*. Il quarto e ultimo gruppo, è formato solamente dalle capsule di *R. miraletus*.

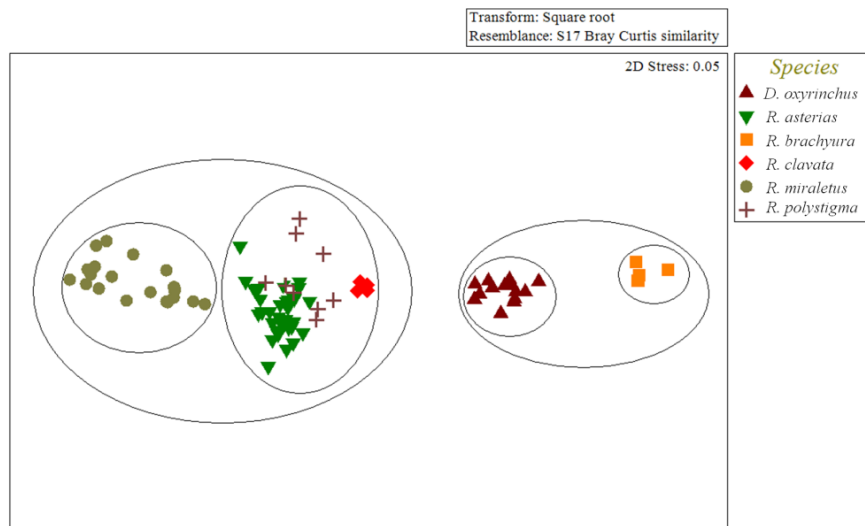


Figura 72. Multidimensional scaling (MDS) performedo sulle misure morfometriche delle capsule delle 6 specie analizzate.

Tutte le variabili considerate, hanno permesso di discriminare fortemente tutte le specie, al punto che, al fine di realizzare una tavola dicotomica di determinazione specifica, sintetica e di facile utilizzo che permetta di distinguere in modo univoco le diverse specie, sono state utilizzate tutte (Tab. 14).

Tabella 14. Tavola dicotomica stilata sulla morfologia delle capsule delle 6 specie analizzate.

1 capsula di grandi dimensioni, > 65 mm LC	2
- capsula di medio-piccole dimensioni, < 65 mm LC.....	3
2 capsula di grandi dimensioni comprese tra 118 e 133 mm, con apertura anteriore e posteriore che ricopre per circa la metà la lunghezza, corna posteriori lunghe e chiglie evidenti.....	<i>R. brachyura</i>
- capsula di grandi dimensioni comprese tra 91 e 116 mm, con apertura anteriore e posteriore che ricopre quasi completamente le corna che sono corte e robuste e chiglie evidenti.....	<i>D. oxyrinchus</i>
3 capsula con presenza di chiglie laterali	4
- capsula senza chiglie laterali	<i>R. miraletus</i>
4 apertura anteriore molto piccola (1-4.3 mm)	5
- apertura anteriore sviluppata (6.4-7.1 mm) che copre circa 1/3 della lunghezza delle corna.....	<i>R. clavata</i>
5 capsula con corna anteriori e posteriori delle stesse dimensioni	<i>R. asterias</i>
- capsula con corna posteriori più lunghe e sottili delle anteriori	<i>R. polystigma</i>

Conclusioni

L'intento di questo paragrafo è stato quello di integrare le informazioni note dalla letteratura, ma perlopiù datate e limitate (Lo Bianco, 1909; Clark, 1922; Tortonese, 1956; Bini, 1967) delle 6 specie prese in analisi e presenti nei mari di Sardegna. Più recentemente altri autori si sono occupati delle capsule di queste specie fornendo informazioni su alcuni aspetti biometrici, limitatamente a misure di lunghezza e larghezza come Stehmann e Burkel (1984) e Capapé (1975, 1976, 2007); mentre Ebert (2007) ha analizzato alcuni aspetti riguardanti la biologia dei Rajidi in Sud Africa fornendo informazioni su *R. miraletus*.

Dalle analisi effettuate è emerso che le capsule di *D. oxyrinchus*, *R. asterias*, *R. brachyura*, *R. clavata*, *R. miraletus* e *R. polystigma* differiscono tra loro e possiedono dimensioni e forme diverse, nonché particolari strutture che le differenziano. La razza bionda e la razza monaca si sono distinte maggiormente dalle altre per le grandi dimensioni raggiunte e hanno discriminato tra loro per il fatto che l'apertura anteriore e posteriore di *D. oxyrinchus* ricoprono la maggior parte delle corna della capsula che perciò appaiono più corte, mentre in *R. brachyura* le aperture, pur essendo di dimensioni maggiori, ricoprono circa la metà (o meno) delle corna e in particolare, spiccano le corna posteriori, che si presentano lunghe e sottili.

La razza stellata, quella chiodata, quella bruna e quella polistima, hanno presentato capsule di dimensioni medio-piccole. In particolare, *R. miraletus* si è contraddistinta dalle altre per le piccole dimensioni e l'assenza delle chiglie laterali. Le capsule di *R. clavata* si sono contraddistinte per la particolare forma quasi quadrata e per le aperture anteriori e posteriori molto sviluppate, nonché delle chiglie molto evidenti. *R. asterias* e *R. polystigma* sono risultate simili in quanto entrambe presentano chiglie e apertura anteriore poco sviluppate, ma differiscono tra loro per le dimensioni (maggiori in *R. polystigma*) e per il fatto che le corna anteriori e posteriori della razza stellata sono molto simili, mentre quelle della razza polistima differiscono per il fatto che quelle posteriori sono più lunghe e sottili.

Dal confronto delle misure delle capsule ovariche rinvenute in bibliografia (Tab. 14) emerge che le dimensioni variano in base all'area geografica di provenienza degli esemplari. Le capsule degli esemplari sardi risultano essere piuttosto in linea con quelle provenienti da altri campioni provenienti dal Mediterraneo seppur con qualche eccezione. Quelle degli esemplari provenienti dall'Atlantico risultano essere più grandi di quelle delle specie mediterranee come riportato anche per altre specie di condroititi (es. *G. melastomus* Cabiddu *et al.*, 2013). Questo fatto può essere dovuto alle dimensioni maggiori raggiunte dagli esemplari atlantici e che si riflettono anche nelle dimensioni delle capsule.

Tabella 15. Dimensioni delle capsule ovariche delle 6 specie analizzate e provenienti da differenti aree geografiche.

Specie	L.C (mm)	Area	Autori
<i>D. oxyrinchus</i>	140	Mediterraneo (Napoli)	Lo Bianco, 1909
	128 – 133	Atlantico	Clark, 1922
	100 – 150	Mediterraneo / Atlantico	Stehmann e Burkel, 1984
	103.6	Mediterraneo (Sardegna)	Presente studio
<i>R. asterias</i>	45	Mediterraneo (Napoli)	Lo Bianco, 1909
	45	Mediterraneo (Tunisia)	Stehmann e Burkel, 1984
	110	Atlantico	Stehmann e Burkel, 1984
	48.9	Mediterraneo (Sardegna)	Presente studio
<i>R. brachyura</i>	105	Mediterraneo (Napoli)	Lo Bianco, 1909
	128	Atlantico	Clark, 1922
	115 – 143	Mediterraneo	Tortonese, 1956
	120	Mediterraneo / Atlantico	Stehmann and Burkel, 1984
	122.8	Mediterraneo (Sardegna)	Presente studio
<i>R. clavata</i>	60	Mediterraneo (Napoli)	Lo Bianco, 1909
	63 – 90	Atlantico	Clark, 1922
	70 – 78	Mediterraneo (Tunisia)	Capapè <i>et al.</i> , 1976
	60 – 90	Mediterraneo / Atlantico	Stehmann e Burkel, 1984
	61 – 66	Mediterraneo (Sud della Francia)	Capapè <i>et al.</i> , 2007b
	62.9	Mediterraneo (Sardegna)	Presente studio
<i>R. miraletus</i>	42 – 47	Mediterraneo (Tunisia)	Capapè e Guignard, 1975
	45 – 52	Mediterraneo / Atlantico	Stehmann e Burkel, 1984
	48 – 52	Atlantico (Senegal)	Capapè <i>et al.</i> , 2007a
	< 50	Atlantico (Sud Africa)	Ebert <i>et al.</i> , 2007
	46.9	Mediterraneo (Sardegna)	Presente studio
<i>R. polystigma</i>	35 – 46	Mediterraneo	Stehmann e Burkel, 1984
	63.2	Mediterraneo (Sardegna)	Presente studio

L'identificazione specifica delle capsule analizzate in questo paragrafo sarà utile al fine di identificare capsule già deposte che vengono rinvenute spiaggiate o durante le operazioni di pesca al fine di ottenere informazioni sulla distribuzione spaziale e temporale e per individuare eventuali zone di deposizione delle specie appartenenti a questo gruppo.

CAPITOLO 6

LE SPECIE VIVIPARE

Considerati i risultati ottenuti nel capitolo 4, tra le specie vivipare che abitano i mari di Sardegna si è deciso di porre l'attenzione su due specie: il sagrì nero *E. spinax* (Porcu *et al.*, 2014b) e lo spinarolo bruno *S. blainville* e analizzarne la biologia riproduttiva.

Il sagrì nero è stato scelto perchè, tra i vivipari è la specie più abbondante e presente nei nostri mari e rappresenta anch'esso, come il gattuccio boccanera, una frazione molto elevata delle catture accessorie di specie pregiate come gamberi rossi e gamberi viola della famiglia Aristeidae (Di Natale *et al.*, 1995; Ragonese *et al.*, 2000), ma anche e soprattutto perchè vive nelle profondità marine, arrivando fino a 2000 m (Compagno *et al.*, 2005).dove le risorse alimentari sono scarse e limitate e le probabilità di accoppiamento sono scarse rispetto alle specie che abitano gli ambienti costieri. Perciò le conoscenze approfondite sulla biologia riproduttiva di questa specie integrate con i dati riportati sullo studio della ghiandola oviducale di questa specie che ci aiuta a comprendere meglio la sua strategia riproduttiva, risultano essere fondamentali per futuri piani di gestione.

Lo spinarolo bruno invece, al contrario di *E. spinax*, è una specie molto meno abbondante, pur essendo la seconda specie vivipara più presente nelle acque sarde, e il trend riportato dai risultati ottenuti nel capitolo 4 vedrebbe questa specie in calo. Per questo motivo, per il fatto che le conoscenze sulla sua biologia riproduttiva sono veramente scarsissime (Ledoux, 1970; Quignard, 1971; Capapè, 1975; Cannizzaro *et al.*, 1995; Sion *et al.*, 2003; Kousteni e Megalofonou, 2011) e perchè questa specie abita preferenzialmente gli ambienti profondi (Serena, 2005) si è deciso di focalizzare l'attenzione su questo squaliforme. L'obiettivo è quello di dare dettagli critici necessari per la valutazione dello stato della popolazione di questa specie, insieme ad alcune informazioni biologiche concernenti la biologia riproduttiva come la taglia di prima maturità, il ciclo riproduttivo e la fecondità di *S. blainville*. Inoltre vengono riportati anche la descrizione dello sviluppo del tratto riproduttivo e della gametogenesi dello spinarolo bruno e lo sviluppo della ghiandola oviducale attraverso l'analisi delle secrezioni prodotte dalle diverse zone.

6.1 *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758)



REGNO	Animalia
PHYLUM	Chordata
SUBPHYLUM	Vertebrata
SUPERCLASSE	Gnathostomata
CLASSE	Chondrichthyes
SUPERORDINE	Euselachii
ORDINE	Squaliformes
FAMIGLIA	Etmopteridae
GENERE	Etmopterus
SPECIE	<i>Etmopterus spinax</i>

Il sagra nero *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) è uno squaliforme di piccole dimensioni che abita preferenzialmente le acque profonde. E' una specie lecitotrofica vivipara (Musick e Ellis, 2005), dove lo sviluppo embrionale si basa essenzialmente sulle riserve del sacco vitellino. Di solito questo squaliforme si reperisce nella parte orientale dell'Oceano Atlantico, dall'Islanda alla Norvegia (Compagno *et al.*, 2005), fino al Sud Africa (Compagno, 1984) comprese le Azzorre (Santos *et al.*, 1997), le Canarie (Brito *et al.*, 2002), e le isole di Capo Verde (Reiner, 1996). E 'distribuito anche nella parte occidentale e centrale del Mar Mediterraneo (Serena, 2005), tra cui lo Ionio, il basso Adriatico e il Mar Egeo (Notarbartolo di Sciara e Bianchi, 1998). Questa specie vive principalmente nella piattaforma continentale e a profondità superiori, comprese tra 70-2000 m, ma soprattutto è ricorrente tra i 200 ei 500 metri, vicino o ben al di sopra del fondo (Compagno *et al.*, 2005).

Gli esemplari di *E. spinax* sono comunemente catturati e scartati come cattura accessoria di specie commerciali rendendo i dati di pesca su questa specie veramente molto scarsi. Nei decenni precedenti, gli studi sulla biologia di questa specie sono state effettuate in Mediterraneo e nella parte nord orientale dell'Oceano Atlantico. Questi studi si sono concentrati principalmente sulle abitudini alimentari e le interazioni trofiche (Bello, 1997; Belluscio *et al.*, 2000; Santos e Borges, 2001; Fanelli *et al.*, 2009), sulla riproduzione (Vacchi e Relini Orsi, 1979; Capape *et al.*, 2001; Cecchi *et al.*, 2004;. Coelho e Erzini, 2008; Aranha *et al.*, 2009;. Coelho *et al.*, 2010) e sull'età e l'accrescimento (Sion *et al.*, 2002; Gennari e Scacco,

2007; Coelho e Erzini, 2008). Tuttavia, le informazioni sulla sua biologia generale nel Mediterraneo centrale sono molto limitate e considerando il ciclo di vita molto vulnerabile di questo piccolo squaliforme, vi è la necessità di intraprendere studi su questa specie (Coelho e Erzini, 2008) anche se, al momento, è classificato dalla lista rossa IUCN come “Least Concern” (LC).

Risultati

Un totale di 908 campioni di sagrì nero sono stati campionati, di cui 532 erano femmine e 376 erano maschi. Le femmine si sono mostrate numericamente superiori rispetto ai maschi ($SR = 0.59$; $\chi^2 = 13.50$; $P\text{-value} < 0.05$).

Le femmine hanno raggiunto dimensioni notevolmente più grandi dei maschi; in particolare, esse variavano da 10 e 45,7 centimetri LT ($22,78 \pm 8,94$ cm, media \pm D.S.), mentre i maschi variavano tra 9,7-41,8 cm LT ($20,81 \pm 6,37$ cm, media \pm D.S.) (Fig. 73). I risultati del test di Kolmogorov-Smirnov hanno indicato una differenza statisticamente significativa ($P\text{-value} < 0.05$) tra la distribuzione delle taglie nei due sessi.

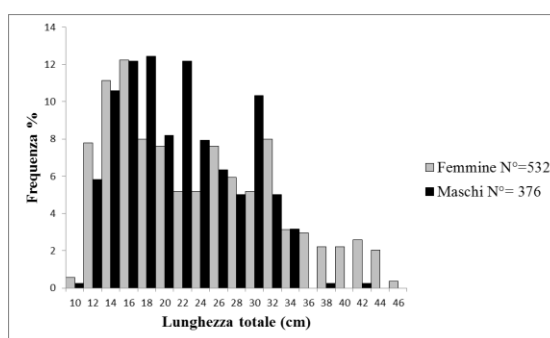


Figura 73. Distribuzione delle taglie della popolazione femminile e maschile di *E. spinax*.

Il rapporto tra la lunghezza e il peso delle femmine ($PT = 0,0031 \times LT^{3,0814}$; $r^2 = 0,98$) e maschi ($PT = 0,0036 \times LT^{3,0335}$; $r^2 = 0,97$) sono risultati essere significativamente differenti (t-test, $P\text{-value} < 0,01$) (Fig 74 A, B).

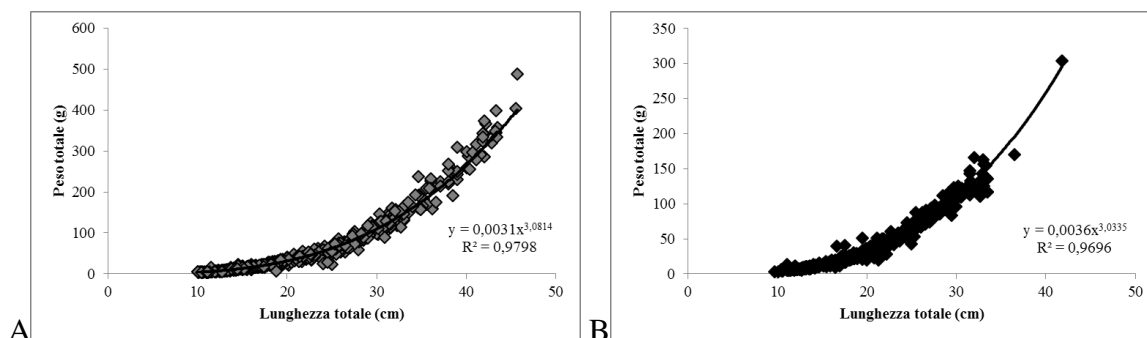


Figura 74. Rapporto tra la lunghezza e il peso degli esemplari femminili (A) e maschili (B) di *E. spinax*.

La lunghezza media delle femmine sembra aumentare con la profondità (Tab. 16) con differenze statisticamente significative rilevate tra tutti gli strati batimetrici (ANOVA, $F\text{-ratio} = 10.84$ $P = 0$), e con un sostanziale incremento della lunghezza a partire dai 500 m di profondità. Nei maschi, la variazione della taglia in base alla profondità (Tab. 16) è apparsa

più lenta rispetto alle femmine. Sono state riscontrate differenze significative tra i diversi strati batimetrici (ANOVA, F-ratio = 4.92 P-value = 0.0002).

Il rapporto tra i sessi nei differenti strati batimetrici (Tab. 16) ha evidenziato una differenza significativa (P-value <0.05) solo tra 500 e 600 m in cui è stato trovato il maggior numero di individui e le femmine erano più numerose rispetto ai maschi.

Tabella 16. Sex ratio e andamento delle lunghezze medie della popolazione di *E. spinax* nei diversi strati batimetrici.

Profondità (m)	Totale	Femmine	Media LT (± D.S.)	Maschi	Media LT (± D.S.)	Sex ratio	χ^2
200-300	19	10	15.98±3.6	9	14.43±2.4	0.53	0.03 ^{NS}
300-400	146	71	17.94±4.4	75	18.84±3.7	0.49	0.05 ^{NS}
400-500	63	29	17.89±5.7	34	19.09±4.3	0.46	0.2 ^{NS}
500-600	469	303	23.52±8.7	166	21.80±6.6	0.65	20.46*
600-700	206	118	24.80±10.5	88	21.70±7.8	0.57	2.20 ^{NS}
700-800	3	0		3	20.73±1.0	0	2 ^{NS}
1000-1100	1	1	39	0		1	0.67 ^{NS}
1500-1600	1	0		1	33.3	0	0.67 ^{NS}

NS= differenze non significative; * = differenze significative

Per entrambi i sessi è stato trovato un chiaro incremento nelle taglie a partire dal raggiungimento degli stadi maturi (Fig. 76 A, B).

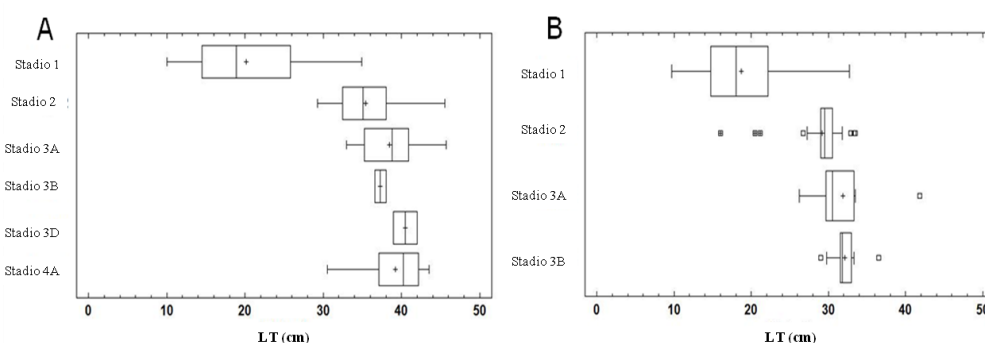













Figura 76. Andamento delle taglie maturative nella popolazione femminile (A) e maschile (B) di *E. spinax*.

Da un totale di 532 femmine analizzate, circa l'87.57% erano immature (Stadio 1, LT<34,9 cm), il 4,33% in maturazione (Stadio 2, LT< 41,6 cm), mentre solo il 4,34% erano mature (Stadi 3A-D, TL <45,7) e il 4,93% erano in post-parto (Stadio 4A, LT< 43,5 cm). Di 376 maschi, circa l'82.88% erano immaturi (Stadio 1, LT<32,7 cm), l'11.14% in maturazione (Stadio 2, LT<33,5 cm), e solo il 5,98% nelle fasi mature e attive (Stadi 3A-3B, LT< 41,8 cm). La maggioranza delle femmine mature (Stadio 3A) e gravide (Stadi 3B-D) e dei maschi maturi e attivi (Stadi 3A e 3B) sono stati catturati a profondità tra 500 e 700 m. Una femmina in gravidanza è stata osservata a 1017 metri e l'unico esemplare catturato a 1573 m era un maschio attivo.

Femmine – ovario

Macroscopicamente sono state individuate 8 fasi in accordo con la scala di maturità utilizzata (Tab. 16).

Tabella 17. Scala di maturità macroscopica di *E. spinax*.

FEMMINE		MASCHI	
Stadio 1 IMMATURO		Stadio 1 IMMATURO	
Stadio 2 IN SVILUPPO		Stadio 2 IN SVILUPPO	
Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI		Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI	
Stadio 3B INIZIO GRAVIDANZA		Stadio 3B ATTIVO	
Stadio 3C MEDIA GRAVIDANZA		Stadio 4 IN REGRESSIONE	
Stadio 3D TARDA GRAVIDANZA			
Stadio 4A POST PARTO			
Stadio 4b IN RIGENERAZIONE			

Nelle femmine immature (stadio 1), macroscopicamente non è stato possibile distinguere i follicoli all'interno dell'ovario e la ghiandola oviducale non risultava ancora visibile. Microscopicamente, l'organo epigonale (contenente diversi tipi di cellule del sangue, soprattutto leucociti, granulociti e linfociti) ricopriva la maggior parte dell'ovario (Fig. 77A). I primi follicoli ovarici osservati erano di due tipi: primordiale e primario. I follicoli primordiali consistevano in un oocita primario (70-100 micron) circondato da un singolo strato di cellule follicolari appiattite (Fig. 77A), mentre i follicoli primari, più grandi dei precedenti (150-230 micron), mostravano un epitelio follicolare costituito da un doppio strato di cellule colonnari (Fig. 77B). In fase di maturazione (stadio 2), l'ovario conteneva dei follicoli previtellogeni e le ghiandole oviducali erano visibili. Istologicamente, erano ancora presenti follicoli primordiali e primari ma, per la prima volta, apparivano anche quelli previtellogeni. Essi avevano un diametro nettamente più grande (> 300 micron) e mostravano un epitelio follicolare più complesso, con due tipi di cellule (cellule piccole e grandi) e inclusioni lipidiche cominciano ad essere presenti (Fig. 77C). Una sottile zona pellucida era presente tra l'oocita e le cellule granulose.

I follicoli vitellogeni iniziano ad essere presenti in una fase di maturazione tardiva. Il processo di vitellogenesi consiste essenzialmente nella formazione di piastrine tuorlo, nella pseudo-stratificazione dell'epitelio follicolare e in un aumento della vascolarizzazione periferica tra gli strati tecali e l'epitelio follicolare (Fig. 77D) nella cellula uovo. Goccioline di tuorlo iniziano a formarsi dapprima nella regione corticale dell'oocita (> 1.200 micron); in seguito, la loro dimensione aumenta e ciò gli consente di riempire l'intero ooplasma nelle femmine mature. In alcuni follicoli primari, previtellogeni e all'inizio della fase di vitellogenesi è stata osservata, nel nucleo, la presenza dei cromosomi "lumpbrush" (Fig. 77E). Nelle fasi cosiddette materne (Stadi 3B-D), gli ovari di *E. spinax* hanno cominciato a regredire. Mentre gli uteri si sviluppavano sempre più, le sezioni istologiche degli ovari hanno evidenziato la presenza di follicoli primari e previtellogeni circondati dall'organo epigonale con la presenza, seppur in maniera molto ridotta, di alcuni follicoli vitellogeni e follicoli atresici. Nella fase di post-parto, il tessuto ovarico è apparso flaccido e conteneva solo follicoli primari e previtellogeni (Fig. 77F).

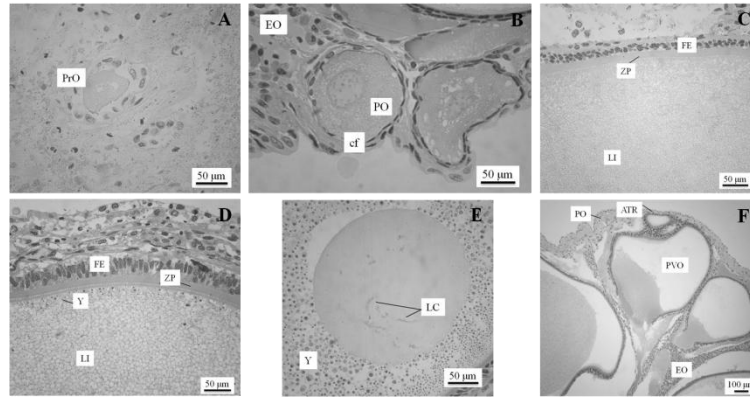


Figura 77. A) Oocita primordiale (PrO) (H&E); B) oocita primario (PO) con cellule follicolari (CF) appiattite, circondato dall'organo epigonale (EO) (H&E); C) oocita previtellogenico (ZP, zona pellucida, FE, epitelio follicolare, LI, inclusioni lipidiche) (H&E); D) follicolo all'inizio della vitellogenesi con goccioline di tuorlo (Y-yolk) nella regione corticale (ZP, zona pellucida, FE, epitelio follicolare; LI, inclusioni lipidiche) (H&E); E) nucleo contenente cromosomi lampbrush (LC) in un follicolovitellogenico (Y-yolk, tuorlo) (H&E); F) ovario contenente follicoli in diverso stadio di sviluppo (PVO- oocita previtellogenico, PO- oocita primario, ATR- oocita atresico) e vascolarizzato dall'organo epigonale (EO) (H&E).

La ghiandola oviducale

Macroscopicamente, la ghiandola di *Etmopterus spinax* mostra una semplice forma a barile priva di estensioni laterali. L'intero organo è composto da una mucosa, una sottomucosa, uno strato connettivo molto sottile, uno strato muscolare formato da fibre muscolari lisce e longitudinali ed uno sieroso.

Nelle femmine immature, non vi era alcuna differenziazione visibile della ghiandola dal resto del tratto riproduttivo. Nei primi campioni in maturazione, è stata riscontrata istologicamente un'organizzazione in lamelle uniformi lungo l'intera sezione in cui non erano però ancora presenti i tubuli ghiandolari (Fig. 78A). Il tessuto connettivo si è invece mostrato molto consistente e vascolarizzato. Nella fase tardiva di maturazione, è stato possibile osservare una leggera differenziazione delle lamelle e distinguere alcuni tubuli secretori. La parte caudale della ghiandola e l'utero (Fig. 78B) hanno iniziato a produrre secrezioni apicali attraverso le cellule epiteliali secretorie, di natura solfato-acida (AB+). Nelle femmine mature la ghiandola è completamente differenziata nelle quattro zone caratteristiche (club, papillary, baffle e terminal). Tutte le zone sono composte da tessuto connettivo ricco di vasi sanguigni e tubuli secretori rivestiti da un semplice epitelio colonnare con cellule ciliate e secretorie. Le secrezioni prodotte dai tubuli della club e della papillary erano di natura PAS+ e AB-, il che significa che c'è stata una produzione massiva di mucopolisaccaridi neutri. La baffle zone ha mostrato le caratteristiche lamelle chiamate "baffle plates" e "plateau projections" (ciascuna contenente vasi sanguigni all'interno) (Fig. 78C). Nei recessi più profondi di questa zona (nei

pressi del tessuto connettivo) è stata rilevata la presenza di un accumulo di materiale secretorio (PAS+ e PAS-) e spermatozoi avvolti in esso (Fig. 78E). La terminal zone (che continua con l'utero) ha mostrato un basso profilo di lamelle ed era costituita da piccole e grandi rientranze e da un epitelio ghiandolare che ha mostrato una produzione di mucine acide solfatate (AB+). In questa fase, il tessuto connettivo è risultato essere molto sottile. Con l'avanzare delle fasi materne la produzione di materiale secretorio è diminuita anche se la produzione dello stesso risulta essere continua, seppur minima (Fig. 78D). In *E. spinax* la presenza di sperma è stata identificata all'interno di appositi tubuli denominati "sperm-storage tubules" (SST) situati nella terminal zone e nel lume dei tubuli secretori della baffle e della terminal zone (Fig. 78F) e sono stati ritrovati in tutte le fasi di maturità delle femmine a partire da quelle in maturazione fino a quelle in post-parto, ad eccezione delle sole femmine immature. Talvolta gli spermatozoi sono stati anche ritrovati condensati in una matrice di PAS+. Gli SST hanno mostrato un epitelio cubico semplice formato da cellule ciliate e secretorie localizzate principalmente nei recessi profondi della ghiandola vicino al connettivo (Fig. 78F).

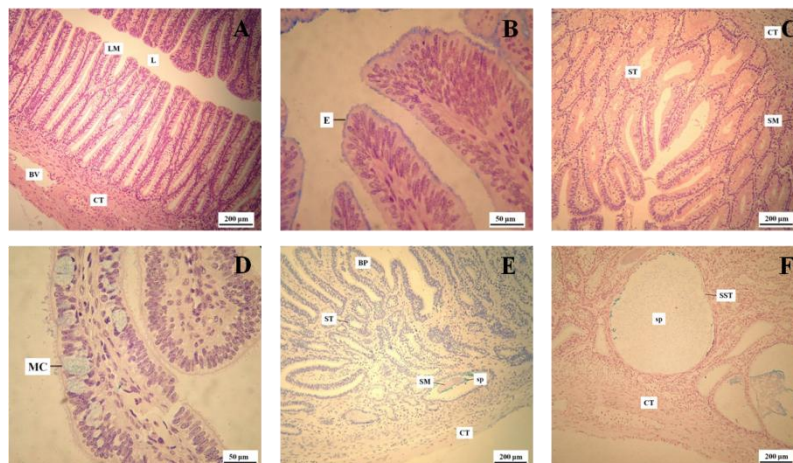


Figura 78. A) ghiandola in sviluppo (LM- lamelle, L- lumen CT- tessuto connettivo, BV- vaso sanguigno) (H&E). B) utero con secrezioni AB-positive all'interno delle cellule epiteliali (E), (PAS/AB). C) baffle zone contenente materiale secretorio (SM) nei tubuli secretori (ST) (CT, tessuto connettivo) (PAS/AB); D) cellule mucose (MC) dell'utero di esemplari in gravidanza che mostrano affinità AB (PAS/AB); E) spermatozoi immagazzinati nei recessi della baffle zone vicino al connettivo (BP- baffle plates, CT- tessuto connettivo, SM- materiale secretorio, Sp- sperma ST- tubuli secretori) (PAS/AB). F) spermatozoi immagazzinati nella terminal zone (CT- tessuto connettivo, Sp- sperma SST- sperm storage tubules) (PAS/AB).

Maschi - testicolo

Macroscopicamente sono stati identificati 4 stadi in accordo con la scala utilizzata (Tab. 17). Come in tutti gli Elasmobranchi, i testicoli del sagra nero contenevano lobuli sferoidali disposti in zone corrispondenti secondo le differenti fasi della spermatogenesi. Ogni lobulo è costituito da una spermatocisti dotata di una cavità centrale. I lobuli hanno preso origine da una zona ventro-laterale denominata zona germinativa e sono poi proceduti in maniera lineare verso la zona dorsale opposta dove hanno avuto origine tutte le fasi della spermatogenesi. Le diverse fasi sono state identificate considerando sei tappe (I spermatogoni primordiali; II spermatogoni, III spermatociti primari, IV spermatociti secondari, V spermatidi, VI spermatozoi immaturi e VII spermatozoi maturi).

Nei maschi immaturi, le sezioni istologiche mostravano solo spermatocisti in stadio I, II e III. In periodo di maturazione, è stato possibile osservare tutte le fasi spermatogeniche dallo stadio I fino al VII, ma testicolo era occupato principalmente da spermatociti, mentre nei testicoli maturi è stata osservata una percentuale nettamente maggiore di spermatidi, spermatozoi immaturi e maturi (Fig. 79).

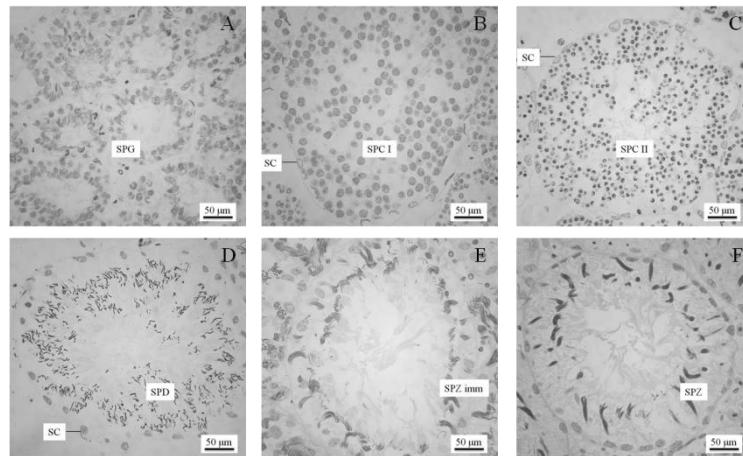


Figura 79. Panoramica dei testicoli di *E. spinax*. A) spermatogoni (SPG); B) spermatociti primari (SPC I, SC, cellule di Sertoli); C) spermatociti secondari (SPC II, SC, cellule di Sertoli); D) spermatidi (SPD, SC, cellule di Sertoli); E) spermatozoi immaturi (SPZ imm); F) spermatozoi (SPZ).

Maturità

La più piccola femmina adulta registrata misurava 34,3 centimetri di LT mentre il più piccolo esemplare maschile era di 29 centimetri di LT. La L_{50} stimata per questa specie è di 36,9 cm LT per le femmine e 33,00 cm LT per i maschi (Fig. 80). Femmine e maschi hanno raggiunto la maturità rispettivamente al 80,7% e al 79% della dimensione massima osservata.

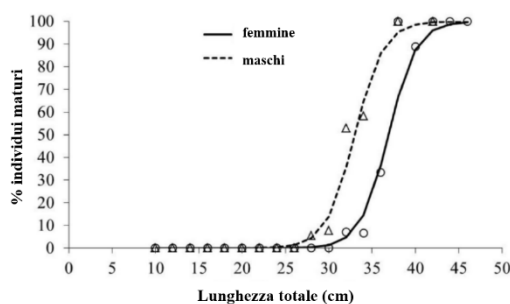


Figura 80. Ogiva maturativa stimata per le femmine e i maschi di *E. spinax*.

Si è osservato come la larghezza della ghiandola oviducale abbia subito variazioni con l'avanzare della maturità dalle femmine in via di maturazione (LGO= 1,1-3,5 mm) fino a quelle mature (LGO= 3,8-6,4 mm). Nelle femmine immature, la ghiandola non era distinguibile e ben differenziata per cui le misure non sono state registrate. Durante le fasi di gravidanza, la LGO è diminuita leggermente (LGO= 3,7-6,7 mm), per poi aumentare nuovamente dopo il parto. Differenze statisticamente significative sono state rilevate tra gli esemplari maturi e gli altri (ANOVA, F-ratio= 6.15, P= 0.0024).

Nei maschi, la lunghezza degli pterigopodi è aumentata con il progredire della maturità mostrando un netto incremento nella crescita a partire dagli esemplari maturi.

Periodo riproduttivo

È stato osservato un pattern tra l'indice gonado-somatico e gli stadi maturativi in entrambi i sessi. Nelle femmine, il valore massimo dell'IGS è stato registrato negli esemplari maturi (Stadio 3A), mentre in quelli in gravidanza, i valori hanno raggiunto livelli molto bassi similmente agli individui immaturi (Fig. 81A). Differenze statisticamente significative sono state riscontrate tra gli stadi (ANOVA, F-ratio= 149,45, P-value= 0). Nei maschi l'IGS ha subito un incremento dalle fasi immature fino a quelle mature con un successivo lieve decremento nei maschi attivi (ANOVA, F-ratio= 36.35, P-value= 0) (Fig. 81B).

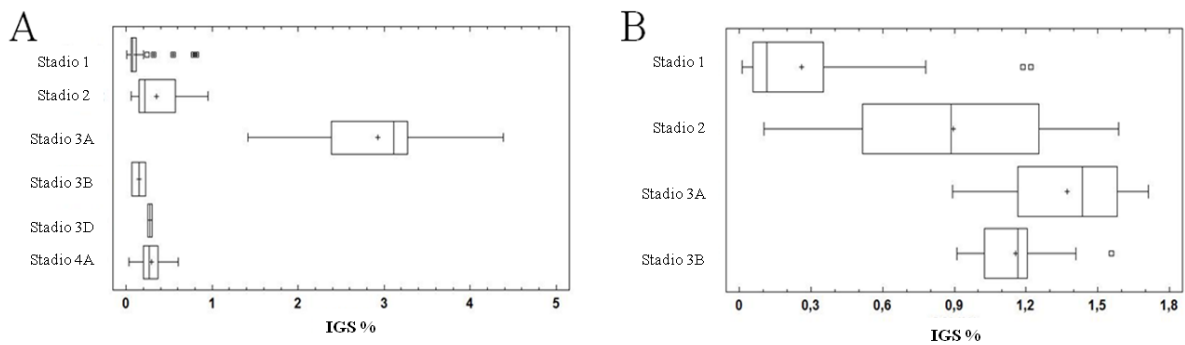


Figura 81. Evoluzione dell'indice gonado-somatico (IGS) delle femmine (A) e maschi (B) di *Etmopterus spinax* in base agli stadi di maturità.

Il fegato di *E. spinax* si è mostrato essere relativamente piccolo raggiungendo l'11,5% e il 10,3% del peso totale corporeo nelle femmine e nei maschi, rispettivamente. Nelle femmine, l'evoluzione dell'IES attraverso le fasi di maturità ha mostrato un andamento simile a quello osservato nell'IGS. I valori più alti sono stati riscontrati nelle femmine mature con una conseguente diminuzione durante la gravidanza (Fig. 82A). Un leggero incremento è stato osservato successivamente nelle femmine in post-gravidanza.

Le variazioni dell'IES sono risultate statisticamente significative tra le diverse fasi maturative (ANOVA, F-ratio= 66.14, P-value= 0). Nei maschi, invece, c'è stato un progressivo aumento fino alla fase matura. Nello stadi 3B, i valori tendevano a diminuire leggermente. Differenze significative sono state trovate tra i vari stadi (ANOVA, F-ratio= 35.04, P-value= 0) (Fig. 82B).

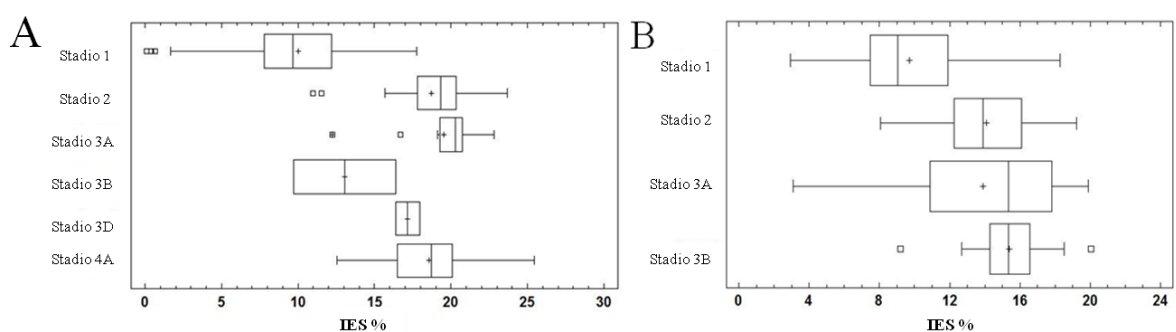


Figura 82. Evoluzione dell'indice epatosomatico (IES) delle femmine (A) e maschi (B) di *Etmopterus spinax* in base agli stadi di maturità.

Le frequenze relative a ogni stadio di maturità per stagione di maschi e femmine sono mostrate in Fig. 83. Durante il periodo di campionamento quasi tutti gli stadi maturativi sono stati registrati. Per quanto riguarda i maschi, una predominanza di esemplari immaturi e in

maturazione è stata osservata durante tutto l'anno. I maschi maturi sono stato campionati principalmente dalla primavera all'autunno, mentre una percentuale elevata di esemplari attivi è stata rilevata durante l'autunno e l'inverno (Fig. 83B). Anche per quanto riguarda la popolazione femminile gli esemplari immaturi e in maturazione hanno predominato in tutte le stagioni. Le femmine mature sono state trovate soprattutto in autunno e in inverno, mentre quelle in stato di gravidanza in autunno primavera e in inverno (Fig. 83A).

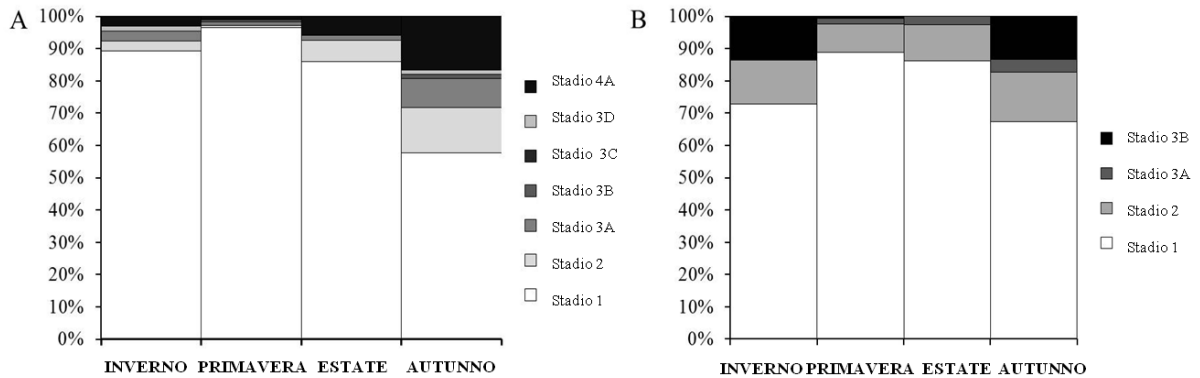


Figura 83. Distribuzione stagionale delle femmine *Etmopterus spinax* (A) e maschi (B) per ogni fase maturativa durante il periodo di campionamento.

In generale, l'IGS nelle femmine mature ha mostrato valori massimi in autunno e durante i mesi invernali. In primavera e in estate questi valori sono diminuiti (Fig. 84A). Nei maschi maturi (Stadio 3A), i valori dell'IGS hanno mostrato un incremento dalla primavera all'autunno, mentre negli esemplari attivi è stato osservato un picco nei mesi invernali (Fig. 84B).

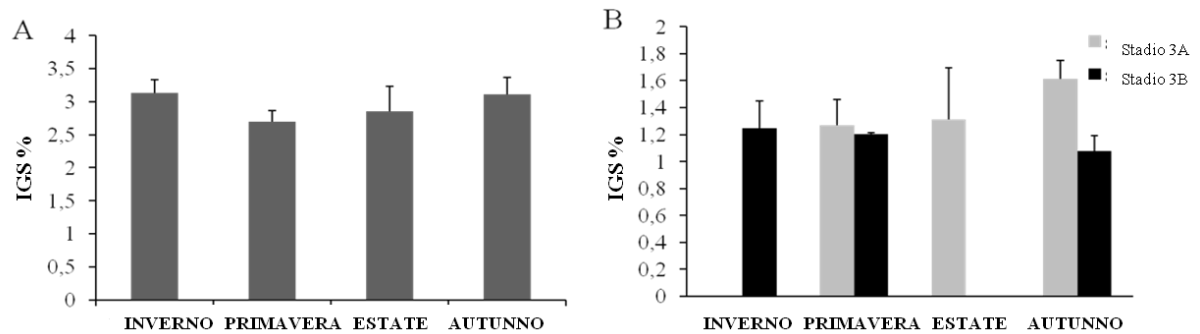


Figura 84. Valori medi dell'indice gonadosomatico (IGS) per le femmine mature (A) e maschi maturi e attivi (B) di *E. spinax*.

L'evoluzione stagionale dei valori dell'IES nelle femmine mature ha confermato l'andamento dell'IGS mostrando i valori più alti in autunno e in inverno (Fig. 85A). Nei maschi non è stato riscontrato nessun trend specifico (Fig. 85B).

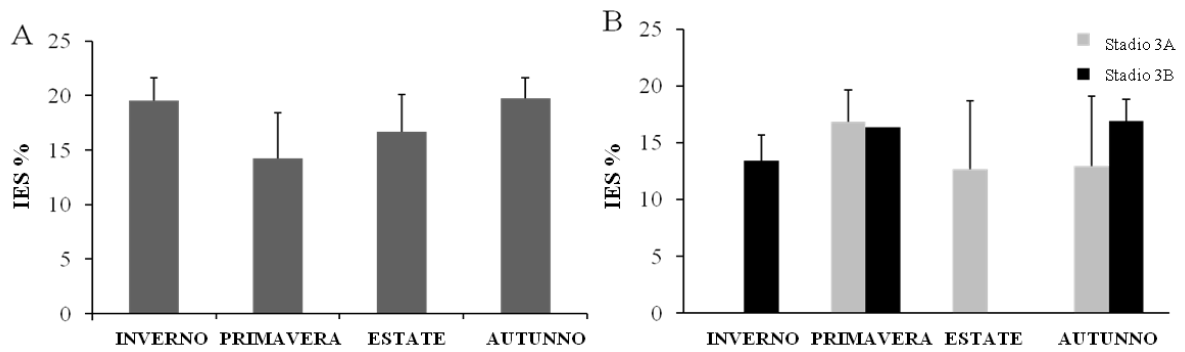


Figura 85. Valori medi dell'indice epatosomatico (IES) per le femmine mature (A) e maschi maturi e attivi (B) di *E. spinax*.

Fecondità

La fecondità ovarica nelle femmine mature, è variata da 6 a 27 follicoli maturi (16.5 ± 6.3 media \pm D.S.). Il diametro dei follicoli vitellogenici è variato da 3 a 20 mm con un diametro medio di 9.9 mm (± 3.9 mm). Le femmine gravide hanno mostrato un totale di 7-8 embrioni completamente formati con lunghezze totali comprese tra 8.3 e 11.3 centimetri LT.

Conclusioni

Il presente studio ha riportato importanti informazioni sulla biologia riproduttiva del sagrai nero *Etmopterus spinax* nelle acque sarde.

Nella popolazione di *E. spinax* le femmine sono risultate essere di numero superiore rispetto ai maschi come riportato da Coelho e Erzini (2005). La prevalenza delle femmine è stata osservata anche nei diversi strati batimetrici (ad eccezione di due individui maschili catturati tra 1000 e 1600 m). Diversi autori hanno riportato differenti frequenze nella distribuzione dei sessi con la profondità in altri squali come *E. princeps* nelle acque islandesi (Jacobsdóttir, 2001). Inoltre, c'è stata una correlazione positiva tra la lunghezza totale media di entrambi i sessi e la profondità che indica come ci sia una differente segregazione per taglia alle diverse batimetrie. Questo fenomeno, chiamato "bigger-deeper trend", è stato già osservato per *E. spinax* da Macpherson e Duarte (1991) e Morales-Nin *et al.* (2003).

Inoltre, sono state rilevate differenze nella distribuzione di lunghezza tra i sessi con le femmine che raggiungono dimensioni maggiori rispetto ai maschi. Questo dimorfismo sessuale è molto comune tra gli squali (es. Clarke *et al.*, 2001, 2002; Sion *et al.*, 2003) ed è già stato registrato per *E. spinax* nel Mar Tirreno, (Cecchi *et al.*, 2004) nel Portogallo meridionale (Coelho e Erzini, 2005) e nelle Azzorre (Aranha *et al.*, 2009) nonché anche per il congenero *E. princeps* (Jacobsdóttir, 2001).

L'osservazione della maggioranza delle femmine mature e gravide e dei maschi maturi e attivi alla stessa profondità (500-700 m; 1017-1573 m) ha suggerito che l'accoppiamento può verificarsi a queste batimetrie. Una segregazione degli stadi di maturità in base alle differenti profondità è stata osservata in altri squaliformi abitanti le acque profonde come *Centroscymnus coelolepis* e *C. owstoni* (Yano e Tanaka, 1988; Clarke *et al.*, 2001).

L'istologia degli ovari e dei testicoli ha dato informazioni aggiuntive alla scala di maturità macroscopica utilizzata per *E. spinax* e ci hanno permesso di assegnare più facilmente i diversi stadi. L'analisi istologica nelle femmine ha mostrato che entrambe le ovaie sviluppano in maniera sincrona con la presenza di follicoli di diverse dimensioni. In tutti gli ovari esaminati appartenenti ai diversi stadi di maturità la maggior parte dei follicoli era in previtellogenesi. Questi follicoli sono stati caratterizzati da una crescita progressiva degli oociti e un concomitante aumento della complessità dell'epitelio follicolare. Inoltre, sono stati osservati i cromosomi lampbrush in follicoli primari, previtellogenicici e vitellogenicici. Questi cromosomi (presenti durante la prima divisione meiotica) sono stati identificati per la prima volta in cellule uovo di squali e descritti da Rückert (1892), e rappresentano una testimonianza di un'attività trascrizionale intensa di RNA. Recentemente, sono stati trovati in oociti di altri elasmobranchi (Wourms, 1977), come ad esempio, *Raja asterias* (Barone *et al.*, 2007) e *Sympterygia acuta* (Díaz-Andrade *et al.*, 2009). La fase di vitellogenesi, riconoscibile dalla presenza di piccole goccioline di tuorlo nella periferia del citoplasma (regione corticale), è iniziata quando gli oociti avevano un diametro > 1200 micron. La regressione degli ovari durante le fasi di gravidanza è stata confermata dalle sezioni istologiche che hanno rivelato la presenza di follicoli atresici e post ovulatori insieme a quelli previtellogenicici.

E. spinax presenta un testicolo diametrico (Pratt, 1988), in cui lo sviluppo della spermatocisti inizia da una zona germinale e si sviluppa lungo il diametro della gonade. Negli Squaliformes solo *Squalus acanthias*, *Centroscymnus coelolepis* e *Centrophorus squamosus* mostrano questo tipo di testicoli. Macroscopicamente, la ghiandola oviducale di *E. spinax* è apparsa proporzionalmente più piccola di quella di specie che depongono capsule ovigere (ad esempio, *Raja* o *Scyliorhinus*, Hamlett *et al.*, 1998). La sua forma era simile a quella di un barile e senza estensioni laterali, similmente a quella di *Squalus acanthias* (Hamlett *et al.*, 1998). La morfologia principale e le caratteristiche funzionali della ghiandola erano virtualmente identiche a quelle degli altri Condroitti. I cambiamenti nella struttura e nella natura chimica delle secrezioni della ghiandola riflettono le loro modificazioni durante la maturità sessuale. Le sezioni istologiche hanno dimostrato che le femmine in fase di maturazione avevano una ghiandola non ancora differenziata con lamelle omogenee, mentre

una produzione di mucine è stata osservata in quegli esemplari che avevano già compiuto un ciclo riproduttivo. Nelle femmine mature, le secrezioni erano mucose e/o proteiche a seconda della zona di produzione e delle loro specifiche funzioni. La natura chimica delle secrezioni nella club e papillary zone consisteva di mucine neutre come osservato in altri squali vivipari come *Iago omanensis* (Hamlett *et al.*, 2002). La baffle zone di *E. spinax* ha presentato poche scanalature trasversali, una caratteristica comune nelle specie vivipare in cui il terzo rivestimento dell'uovo è ridotto a una "candela" flessibile che circonda gli embrioni e che scompare prima del parto (Serra Pereira *et al.*, 2011). La terminal zone ha mostrato un basso profilo di lamelle e semplici ghiandole tubulari integrate nel tessuto connettivo lasso. Durante le fasi di gravidanza, la produzione di elevate quantità di mucopolisaccaridi hanno confermato l'attività della ghiandola, nonostante una leggera riduzione della stessa. In passato, la conservazione dello sperma in squali e razze è stata ampiamente confermata dall'analisi istologica (es, *Mustelus antarcticus* - Storrie *et al.*, 2008; *Centroscymnus coelolepis* - Moura *et al.*, 2011; *Raja clavata* - Serra Pereira *et al.*, 2011). L'ipotesi sulla conservazione dello sperma nelle femmine di sagra nero, è stata suggerita da Coelho e Erzini (2008), ed è stata confermata dalle sezioni istologiche delle ghiandole oviducali. Piccoli gruppi di sperma è stato rilevato densamente impacchettati nei tubuli della baffle zone e negli SST della terminal zone (spesso involti in una matrice PAS+) di solito nei recessi più profondi delle stesse, vicino al tessuto connettivo suggerendo una conservazione a lungo termine (Pratt, 1993). In specie con questo tipo di conservazione e un lungo ciclo di gestazione, Pratt (1993) ha suggerito che lo sperma può essere conservato fino a 15 mesi. Supponendo che lo sperma conservato sarà successivamente utilizzato nella fecondazione, si può realmente considerare un lungo periodo di stoccaggio degli stessi in questa specie, considerato anche il fatto che la gravidanza potrebbe durare 2-3 anni (Coelho e Erzini, 2008; presente studio). Di conseguenza, la rigenerazione del tratto riproduttivo e una conseguente nuova fase di maturazione potrebbe richiedere molto tempo (la vitellogenesi, infatti, non procede in concomitanza con la gestazione). La presenza di sperma nelle femmine in maturazione ha indicato che l'accoppiamento avviene prima che la maturità sia stata raggiunta, come riportato anche in altre specie vivipare come *M. antarcticus* e *C. coelolepis* (Storrie *et al.*, 2008 e Moura *et al.*, 2011). Inoltre, nelle popolazioni con densità relativamente bassa come in *E. spinax*, lo stoccaggio degli spermatozoi nella ghiandola potrebbe rappresentare un meccanismo evolutivo che aumenta le probabilità di successo dell'inseminazione (Pratt, 1993).

Nelle acque della Sardegna, la taglia di prima maturità nelle femmine ($L_{50} = 36,9$ cm LT) era più alta rispetto ai maschi ($L_{50} = 33$ cm LT). Questo modello può essere, in parte, spiegato

con la necessità per le femmine di raggiungere una dimensione maggiore per sostenere lo sviluppo della prole e compiendo un minore investimento nella crescita a favore della riproduzione, che si traduce in una maturità sessuale ritardata nelle femmine (Cortés, 2000). Le dimensioni della taglia di prima maturità stimate in questo studio risultano essere superiori a quello stimate nel Mediterraneo da Vacchi e Relini-Orsi (1979) (Mar Ligure), Coelho *et al.* (2010) (Mare di Alboran) e in Atlantico da Coelho e Erzini (2005) (sud del Portogallo) e Aranha *et al.* (2009) (Azzorre). Solo Capapé *et al.* (2000) hanno stimato una taglia di prima maturità superiore per *E. spinax* nel sud della Francia e nelle coste tunisine. Queste differenze possono derivare da diverse ragioni: dimensioni del campione, metodi di campionamento, diversi tassi di maturazione a causa di diverse condizioni ambientali (Jones e Geen, 1977; Girard e Du Buit, 1999) o differenti pressioni di pesca (Aranha *et al.*, 2009).

Lo spiccato dimorfismo sessuale in termini di dimensioni è stato già descritto in precedenza per altri congeneri come *E. granulosus* (Wetherbee, 1996), *E. princeps* (Jacobsdóttir 2001), *E. baxteri* (Irvine *et al.*, 2006) e *E. pusillus* (Coelho e Erzini, 2005). Il sagra nero sembra maturare molto in ritardo rispetto al suo ciclo vitale. Cortés (2000) valutò 164 specie di squali e concluse che, in media, gli squali cominciano a maturare a circa il 75% della loro dimensione massima. Nel presente studio, la maturità è stata raggiunta al 80,7% e il 79% delle loro dimensioni massime osservata rispettivamente per femmine e maschi. I nostri risultati sono risultati in accordo con quelli riportati per gli esemplari di questa specie in un'altra zona del Mar Mediterraneo (Mare di Alboran) e nella quale la specie maturava intorno al 83%, ma in contrasto con i dati riportati per le acque dell'Atlantico (intorno al 75% della dimensione massima) (Coelho *et al.*, 2010). I Condroidi, mostrano essenzialmente due strategie riproduttive: alcune specie hanno un periodo riproduttivo ben definito mentre altre lo hanno esteso durante tutto l'anno (Wourms, 1977). Durante il periodo di campionato, sono state registrate quasi tutte le fasi di maturità. Le femmine immature hanno prevalso durante tutte le stagioni, in contrasto con quelle mature e in stato di gravidanza. Gli stadi immaturi, maturi e post-gravidanza sono stati registrati in tutte le stagioni, mentre le femmine in gravidanza sono state catturate in primavera e in inverno. Questo pattern è stato confermato dalla variazione dei valori medi dell'IGS delle femmine mature in cui è stato registrato un picco in autunno e in inverno. Questi risultati si sono mostrati totalmente in disaccordo con quelli osservati nelle coste tunisine e in Atlantico (Capape *et al.*, 2001) (Tab. X). L'apparente mancanza di esemplari di dimensioni notevoli in questa popolazione potrebbe indicare l'eccessivo sfruttamento di questo stock, come suggerito da Coelho e Erzini (2008) per le acque portoghesi. Inoltre, la maggiore parte dei maschi attivi, registrata in autunno e inverno, ha

suggerito che l'accoppiamento potrebbe verificarsi in questo periodo dell'anno con le femmine che potrebbero conservare lo sperma.

I valori massimi dell'IGS raggiunti dalle femmine mature durante tutto l'anno, in contrasto con le percentuali inferiori registrate durante le fasi di gravidanza, hanno indicato che la specie possiede un ciclo riproduttivo alternativo e ha suggerito che lo sviluppo degli oociti richiede almeno un anno di sviluppo come riportato anche da Coelho e Erzini (2008). La variazione dell'indice epato-somatico tra i diversi stadi di maturità femminili ha suggerito che la funzione epatica sia strettamente legata allo sviluppo e/o alla crescita degli embrioni (stadi uterini). La crescita dell'IES durante lo sviluppo degli ovai può essere correlata alla produzione di vitellogenina da parte del fegato che viene utilizzata per supportare lo sviluppo degli embrioni. Durante la gravidanza, i valori dell'IES sono infatti diminuiti, mentre, nella fase di post-parto, i valori sono aumentati leggermente, probabilmente perché le femmine iniziano a produrre lipidi per il ciclo riproduttivo successivo. Questi trend sono stati segnalati per la stessa specie di Coelho e Erzini (2008) e Aranha *et al.* (2009) e sembra comune anche nel congener *E. princeps* e altri squalidi (Clarke *et al.*, 2001; Jacobsdóttir, 2001).

Sulla base dei nostri risultati, *E. spinax* ha mostrato una bassa fecondità. Come indicato da Coelho e Erzini (2008), la fecondità ovarica è risultata superiore a quella uterina, probabilmente quest'ultimo fatto è dovuto alla perdita degli embrioni da parte delle femmine gravide durante il processo di pesca. La fecondità ovarica da noi registrata è comunque risultata superiore a quella osservata in altre aree del Mediterraneo e dell'Atlantico (Coelho e Erzini, 2008 e Coelho *et al.*, 2010).

In conclusione, questo lavoro ha avuto come obiettivo quello di aumentare i dati sulla conoscenza della biologia di *E. spinax* e dare un contributo prezioso per l'attuazione di misure di gestione di base per garantire la sostenibilità delle catture di questa specie. La strategia di conservazione dello sperma, confermata da questo studio, rappresenta un vantaggio importante per la conservazione delle specie e ne garantisce il successo riproduttivo.

6.2 *Squalus blainville* (Risso, 1827)



REGNO	Animalia
PHYLUM	Chordata
SUBPHYLUM	Vertebrata
SUPERCLASSE	Gnathostomata
CLASSE	Chondrichthyes
SUPERORDINE	Euselachii
ORDINE	Squaliformes
FAMIGLIA	Squalidae
GENERE	Squalus
SPECIE	<i>Squalus blainville</i>

Conosciuto comunemente con il nome di spinarolo bruno, *Squalus blainville* è uno squaliforme di piccole dimensioni, il cui adulto può raggiungere i 90-100 cm di lunghezza e può pesare fino a 5 kg. Caratteristiche degli Spinaroli sono le scaglie foggiate ad alabarda, che, nel caso di *S. blainville*, sono dotate di una sola punta. Ha un corpo meno affusolato rispetto agli altri appartenenti al genere *Squalus* e presenta valve nasali bilobe, con il lobo esterno notevolmente più grande di quello interno. Gli occhi sono grandi, con un diametro orizzontale doppio rispetto a quello verticale, e dietro di essi una piega cutanea raggiunge quasi gli spiracoli, che sono grandi, semilunari, con il centro corrispondente all'orlo superiore dell'occhio. La coda è pari ad 1/5 della lunghezza totale ed il peduncolo caudale è percorso su ogni lato da una piega cutanea longitudinale (Tortonese, 1956). Presenta due pinne dorsali, entrambe precedute da una spina dorsale ben sviluppata. L'origine della spina della prima dorsale si trova su una verticale con l'ascella del lembo pettorale (giovani) o con l'angolo interno della pinna pettorale (adulti) (Whitehead *et al.*, 1989). La spina della seconda dorsale raggiunge o supera l'apice della pinna, che è di dimensioni minori rispetto a quella anteriore. Le pinne pettorali sono ampie, di lunghezza pari ai 2/3 del capo e con l'orlo leggermente concavo (Tortonese, 1956). La superficie superiore del corpo presenta una colorazione che varia dal grigio al grigio-bruno e non presenta puntini bianchi come in *Squalus acanthias* (Linnaeus, 1758). La superficie inferiore è bianca e le pinne possono essere orlate di bianco,

più frequentemente nei giovanili e in maniera meno vistosa negli adulti (Whitehead *et al.*, 1989).

La biologia di *S. blainville* è nel complesso poco nota. La riproduzione può avvenire in ogni periodo dell'anno, ma con frequenza piuttosto bassa, generalmente si verifica una volta ogni 1-2 anni. La specie è vivipara, produce da 3 a 9 embrioni per figliata. La gestazione dura in genere 9 mesi (Tortonese, 1956).

Questa specie predilige zone profonde, si può ritrovare infatti dalla piattaforma continentale fino alla parte superiore della scarpata, non oltre i 720 m (Serena, 2005).

La sua distribuzione è piuttosto ampia: si ritrova in tutto il Mar Mediterraneo, nel Mar Nero, nell'Atlantico orientale dal Golfo di Guascogna al Sud Africa e occidentale dagli Stati Uniti all'Argentina. E' presente anche nel Pacifico Occidentale (Sud del Giappone e Taiwan) e nei tre oceani dell'emisfero sud (Tortonese, 1956).

Attualmente questa specie è classificata nella lista rossa IUCN come "Data Deficient" (DD), (Ebert *et al.*, 2009).

Risultati

Un totale di 408 campioni di spinarolo bruno sono stati campionati a profondità comprese tra 50 e 500 m, di cui 201 erano femmine e 207 erano maschi. La popolazione dello spinarolo bruno è apparsa sostanzialmente in equilibrio ($SR = 0.49$; $\chi^2 = 0.02$; $P\text{-value} > 0,05$).

Le femmine hanno raggiunto dimensioni notevolmente più grandi dei maschi; in particolare, esse variavano da 20,1 e 84 centimetri LT, mentre i maschi variavano tra 18-63,9 cm LT (Fig. 86). I risultati del test di Kolmogorov-Smirnov hanno indicato una differenza statisticamente significativa ($P\text{-value} < 0.05$) tra la distribuzione delle taglie nei due sessi.

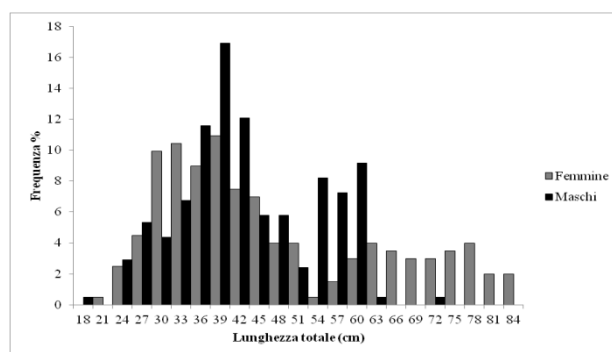


Figura 86. Distribuzione delle taglie della popolazione femminile e maschile di *S. blainville*.

Il rapporto tra la lunghezza e il peso delle femmine ($PT = 0,0017 \times LT^{3,2454}$; $r^2 = 0,98$) e maschi ($PT = 0,0027 \times LT^{3,1441}$; $r^2 = 0,98$) sono risultati essere significativamente differenti (T-test, $P\text{-value} < 0,01$) (Fig. 87 A, B).

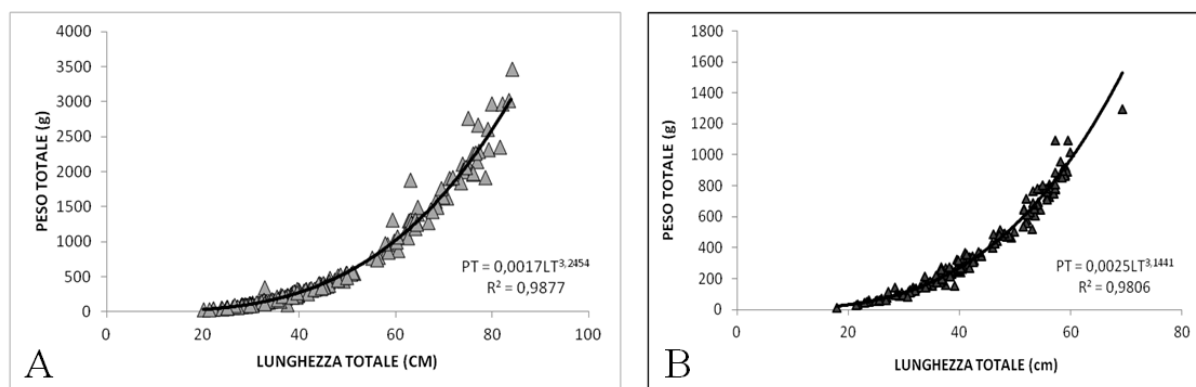


Figura 87. Rapporto tra la lunghezza e il peso degli esemplari femminili (A) e maschili (B) di *S. blainville*.

L'andamento dei valori delle lunghezze medie rispetto agli stadi maturativi appare piuttosto simile sia per le femmine che per i maschi (Fig. 88), nonostante queste ultime raggiungano taglie maggiori rispetto ai maschi. In generale, in entrambi i sessi, è possibile osservare come la lunghezza totale media aumenti con l'avanzare della maturità degli individui fino allo Stadio 3A, per poi rimanere più o meno costante negli stadi successivi. Per quanto riguarda la

popolazione femminile (Fig. 88A), questa tendenza è pienamente dimostrata statisticamente con l' ANOVA (F-ratio= 111,04; P-value < 0.05) e col Multiple Range Test, mettendo in evidenza differenze statisticamente significative solo tra i primi due stadi maturativi e gli altri. Per la popolazione maschile (Fig. 88B), i risultati statistici ottenuti sono risultati piuttosto simili (ANOVA, F-ratio= 140,92; P-value < 0.05).

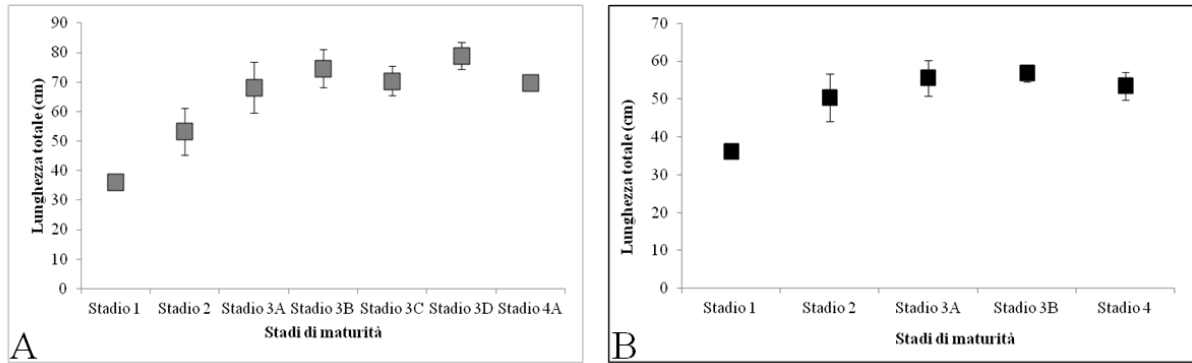






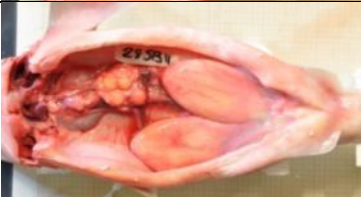







Figura 88. Andamento delle taglie maturative nella popolazione femminile (A) e maschile (B) di *S. blainville*.

Femmine - ovario

Macroscopicamente sono state individuate 8 fasi, in accordo con la scala di maturità utilizzata (Tab. 18).

Tabella 18. Scala di maturità macroscopica di *S. blainville*.

FEMMINE		MASCHI	
Stadio 1 IMMATURO		Stadio 1 IMMATURO	
Stadio 2 IN SVILUPPO		Stadio 2 IN SVILUPPO	
Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI		Stadio 3A CAPACE DI RIPRODURSI	
Stadio 3B INIZIO GRAVIDANZA		Stadio 3B ATTIVO	
Stadio 3C MEDIA GRAVIDANZA		Stadio 4 IN REGRESSIONE	
Stadio 3D TARDA GRAVIDANZA			
Stadio 4A POST PARTO			
Stadio 4b IN RIGENERAZIONE			

Microscopicamente nelle femmine immature l'ovario di *S. blainville* è risultato formato prevalentemente dall'organo epigonale (contenente diversi tipi di cellule del sangue, soprattutto leucociti, granulociti e linfociti) che ricopriva la maggior parte dell'ovario. I primi follicoli ovarici osservati erano di due tipi: primordiali e primari. I follicoli primordiali consistevano in un oocita primario circondato da un singolo strato di cellule follicolari appiattite, mentre i follicoli primari, più grandi dei precedenti, mostravano un epitelio follicolare costituito da un doppio strato di cellule colonnari (Fig. 89A). In fase di maturazione, l'ovario conteneva dei follicoli in previtellogenesi. Essi mostravano un epitelio follicolare più complesso e inclusioni lipidiche cominciano ad essere presenti (Fig. 89B). A partire dalle femmine mature, iniziano a vedersi follicoli in fase di vitellogenesi. A questo stadio, si può notare la formazione di gocce di tuorlo all'interno del follicolo, e una pseudo-stratificazione più complessa dell'epitelio follicolare (Fig. 89C) nella cellula uovo. Nelle fasi cosiddette materne (Stadi3B-D), (Fig. 89D) gli ovari di *S. blainville* continuano ad avere follicoli in piena vitellogenesi, situazione peraltro riscontrata anche nelle femmine in post-parto. Non sono stati osservati follicoli atresici o post-ovulatori.

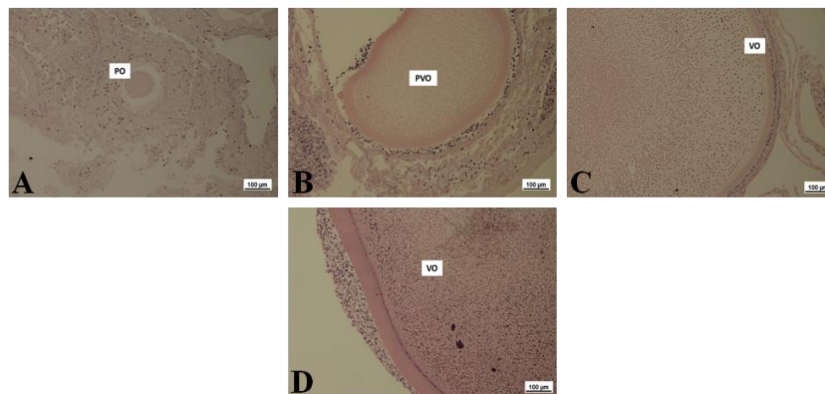


Figura 89. Sezioni di ovario di femmine di *S. blainville*: A) Oocita primario (PO) in una femmina immatura; B) oocita in pre-vitellogenesi (PVO) in una femmina in via di maturazione; C) oocita in vitellogenesi (VO) in una femmina matura e in femmine in stato di gravidanza (D).

La ghiandola oviducale

Nelle femmine immature, la ghiandola oviducale mostra una semplice forma a barile, quasi non distinguibile dal resto del tratto riproduttivo. Istologicamente la ghiandola era indifferenziata e risultava composta solo da tessuto connettivo e semplici cellule epiteliali colonnari. Nelle femmine in maturazione invece, le lamelle hanno iniziato il loro sviluppo lungo tutto il lume della ghiandola e i tubuli ghiandolari hanno iniziato la differenziazione. In entrambe queste fasi, la tecnica PAS/AB non ha reagito. Nelle femmine mature la ghiandola è completamente differenziata nelle quattro zone caratteristiche (club, papillary, baffle e terminal). Tutte le zone sono composte da tessuto connettivo ricco di vasi sanguigni e tubuli secretori rivestiti da un semplice epitelio colonnare con cellule ciliate e secretorie.

Club (Figg. 90A, B) e papillary (Figg. 90C, D) si distinguevano dalle caratteristiche lamelle rispettivamente a forma di clava e digitiformi mentre le secrezioni prodotte dai tubuli di queste zone erano di natura PAS+ e AB+ per quanto riguarda la club, e solo PAS+ per quanto riguarda la papillary, il che significa che c'è stata una produzione massiva di mucopolisaccaridi neutri. La baffle zone ha mostrato le caratteristiche lamelle chiamate "baffle plates" e "plateau projections" (ciascuna contenente vasi sanguigni all'interno). Questa zona non ha reagito alla tecnica PAS/AB (Figg. 90E, F).

La terminal zone non ha mostrato delle vere e proprie lamelle (Fig. 90G) ed era costituita da piccole e grandi rientranze e da un epitelio ghiandolare che ha mostrato una produzione di mucine acide solfatate (AB+) e all'interno di questi tubuli mucosi è stata riscontrata la presenza di spermatozoi impacchettati (Fig. 90H).

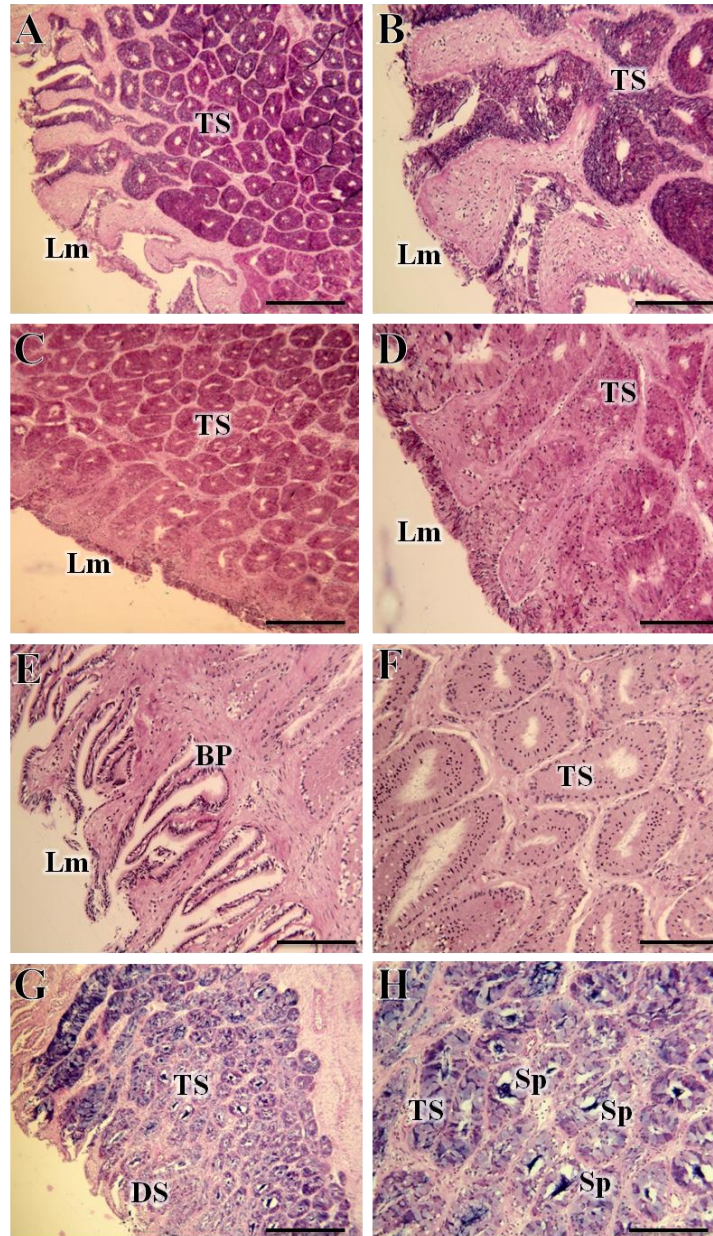


Figura 90. Sezioni istologiche della ghiandola oviduciale di *S. blainville*. A) panoramica della club zone che mostra le tipiche lamelle (Lm) a forma di clava e i tubuli secretori (TS) che hanno reagito alla tecnica istochimica PAS/AB (Scale bar 300 μ m); B) particolare delle lamelle (Lm) della club zone (Scale bar 100 μ m); C) panoramica della papillary zone che mostra le tipiche lamelle (Lm) digitiformi e i tubuli secretori (TS) produttori mucopolisaccaridi neutri (PAS+) (Scale bar 300 μ m); D) particolare delle lamelle (Lm) della papillary zone (Scale bar 100 μ m); E) particolare delle lamelle (Lm) della baffle zone (Scale bar 100 μ m) con le tipiche baffle plates (BP) (Scale bar 100 μ m); F) tubuli secretori (TS) della baffle zone in cui la tecnica PAS/AB non ha reagito (Scale bar 100 μ m); G) panoramica della terminal zone che non possiede vere e proprie lamelle ma dotti secretori (DS) e tubuli secretori produttori mucopolisaccaridi acidi (AB+) (Scale bar 300 μ m); H) particolare dei tubuli secretori (TS) della terminal zone con spermatozoi (Sp) impacchettati all'interno (Scale bar 100 μ m).

Maschi – testicolo

Macroscopicamente sono stati individuati 5 stadi in accordo con la scala di maturità utilizzata (Tab. 18).

I testicoli dello spinarolo bruno hanno mostrato i classici lobuli sferoidali disposti in zone corrispondenti secondo le differenti fasi della spermatogenesi. Ogni lobulo era costituito da una spermatocisti dotata di una cavità centrale. I lobuli hanno preso origine da una zona ventro-laterale denominata zona germinativa e sono poi proceduti in maniera lineare verso la zona dorsale opposta, dove hanno avuto origine tutte le fasi della spermatogenesi.

Nei maschi immaturi, le sezioni istologiche mostravano prevalentemente spermatogoni (Fig. 91A). A partire dai maschi in via di sviluppo, invece si sono potute apprezzare le diverse fasi della spermatogenesi, ma in particolare, in questa fase, spermatociti e spermatidi risultavano essere predominanti nella sezione testicolare (Fig. 91B). Negli esemplari maturi, il testicolo risultava essere composto principalmente da lobuli contenenti spermatozoi aggregati in fasci (Fig. 91C) e supportati nella maturazione dalle cellule del Sertoli. Infine, nei maschi in regressione, si sono potute osservare spermatocisti contenenti spermatozoi, essenzialmente svuotate e collassate (Fig. 91D).

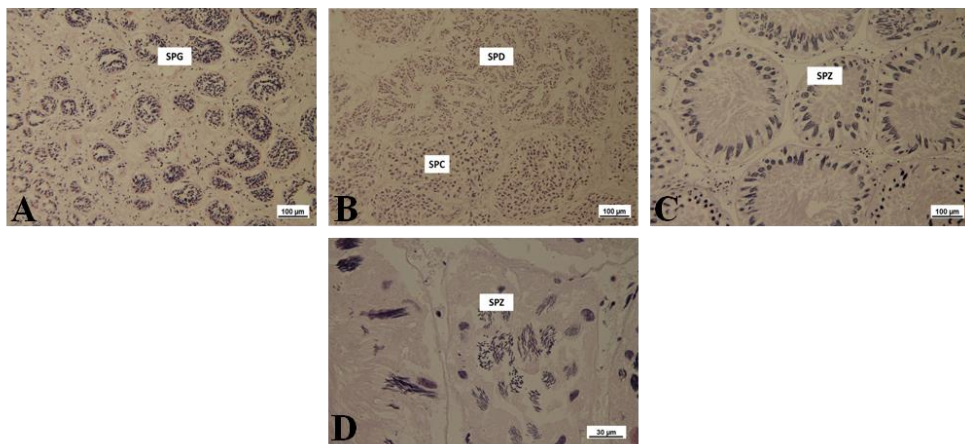


Figura 91. Sezioni istologiche di testicoli di *S. blainville*: A) spermatogoni immaturi (SPG); B) spermatocisti contenenti spermatociti (SPC) e spermatidi (SPD); C) spermatocisti in cui sono visibili spermatozoi maturi (SPZ) organizzati in fasci; D) spermatocisti collassata contenente spermatozoi (SPZ) non aggregati.

Maturità

La più piccola femmina adulta registrata misurava 59,3 centimetri di LT mentre il più piccolo esemplare maschile era di 48,2 centimetri di LT. La L_{50} stimata per questa specie è di 62,7 cm LT per le femmine e 52,6 cm LT per i maschi (Fig. 92).

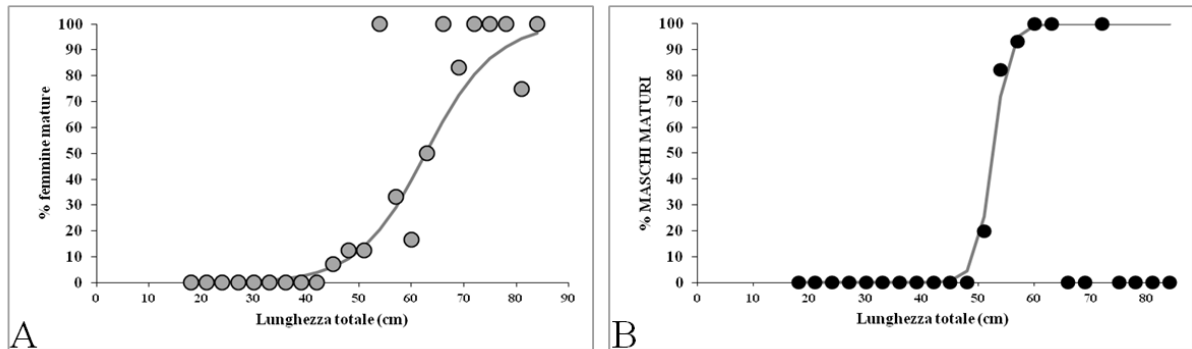


Figura 92. Ogiva maturativa stimata per le femmine e i maschi di *S. blainville*.

Si è osservato inoltre come la larghezza della ghiandola oviducale (Fig. 93A) abbia subito variazioni con l'avanzare della maturità dalle femmine immature fino a quelle mature. Durante le fasi di gravidanza, la larghezza della ghiandola raggiunge i valori più alti e rimane più o meno costante, leggermente in regressione nelle femmine in tarda gravidanza, mentre nelle femmine in post-parto, la larghezza della ghiandola aumenta nuovamente (ANOVA, F-ratio= 18.96, P-value = 0).

Nei maschi, la lunghezza degli pterigopodi è aumentata con il progredire della maturità mostrando un netto incremento nella crescita a partire dagli esemplari maturi (Fig. 90B) (ANOVA, F-ratio= 137.75, P-value =0).

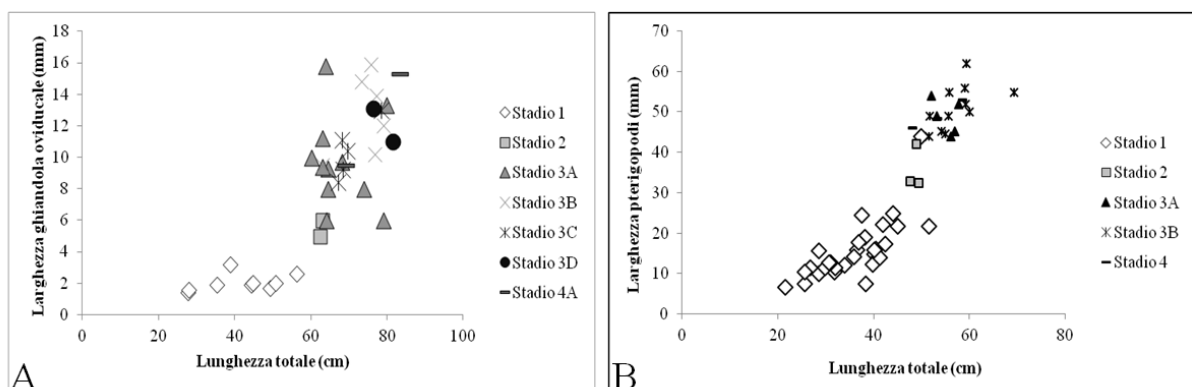


Figura 93. A) Relazione tra la lunghezza totale (LT) e la larghezza della ghiandola dell'ovidotto della popolazione femminile di *S. blainville*. B) Relazione tra la lunghezza totale e la lunghezza degli pterigopodi della popolazione maschile di *S. blainville*.

Nelle femmine (Fig. 94A), il valore massimo dell'IGS è stato registrato negli esemplari maturi ed è rimasto piuttosto stabile sia nelle fasi di gravidanza che dopo il parto. Differenze statisticamente significative sono state riscontrate tra gli stadi (ANOVA, F-ratio= 31,70, P-value= 0). L'evoluzione dell'IES attraverso le fasi di maturità ha mostrato un andamento simile a quello osservato nell'IGS. I valori più alti sono stati riscontrati nelle femmine mature con una conseguente lieve diminuzione durante la gravidanza, in particolare nella fase di tarda gravidanza (Fig. 94B). Un leggero incremento è stato osservato successivamente nelle femmine in post-parto. Le variazioni dell'IES sono risultate statisticamente significative tra le diverse fasi maturative (ANOVA, F-ratio= 21.78, P-value= 0).

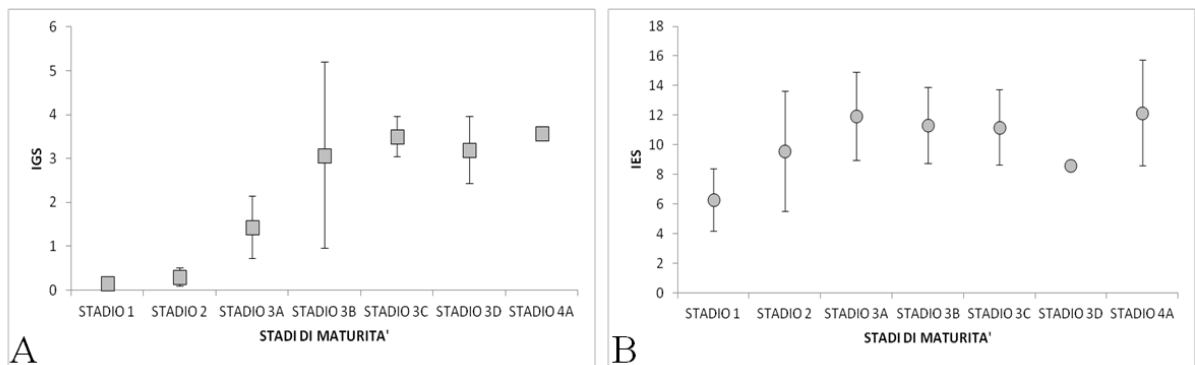


Figura 94. Valori percentuali dell'IGS e dell'IES nelle femmine di *S. blainville*.

Nei maschi l'IGS (Fig. 95A) ha subito un incremento dalle fasi immature fino a quelle mature con un successivo lieve decremento nei maschi attivi (ANOVA, F-ratio= 30.85, P-value< 0.05). Per quanto riguarda l'IES (Fig. 95B) c'è stato un progressivo aumento fino alla fase matura. Nello stadio 3B, i valori tendevano a diminuire leggermente. Differenze significative sono state trovate tra i vari stadi (ANOVA, F-ratio= 22.41, P-value= 0).

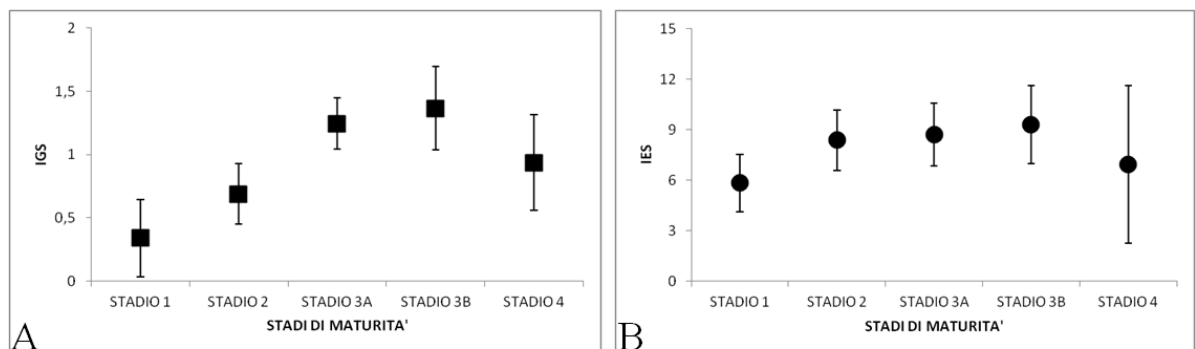


Figura 95. Valori percentuali dell'IGS e dell'IES nei maschi di *S. blainville*.

Le frequenze relative a ogni stadio di maturità per stagione di maschi e femmine sono mostrate in Fig. 96. Durante il periodo di campionamento quasi tutti gli stadi maturativi sono stati registrati. Per quanto riguarda i maschi, una predominanza di esemplari immaturi e in maturazione è stata osservata durante tutto l'anno. I maschi maturi e attivi sono stati campionati tutto l'anno, mentre quelli in regressione sembrano mancare in inverno (Fig. 96B). Anche per quanto riguarda la popolazione femminile, gli esemplari immaturi e in maturazione hanno predominato in tutte le stagioni, ma in minor percentuale in estate. Le femmine mature e in gravidanza sono state trovate tutto l'anno, ma soprattutto in estate e in autunno, mentre le femmine in regressione sembrano mancare nella stagione primaverile (Fig. 96A).

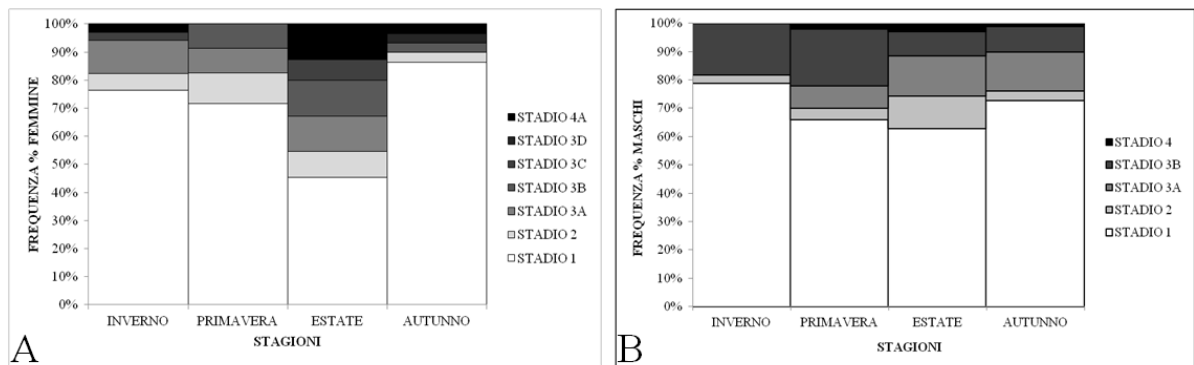


Figura 96. Distribuzione stagionale delle femmine di *S.blainville* e maschi per ogni fase maturativa durante il periodo di campionamento.

In generale, l'IGS nelle femmine mature ha mostrato valori massimi simili in inverno e primavera e leggermente più alti in estate e autunno (Fig. 97A) (ANOVA, F-ratio= 1.78, P-value > 0.05). Nei maschi maturi, i valori dell'IGS hanno mostrato una diminuzione dall'inverno all'estate e una leggera ripresa in autunno (Fig. 97B) (ANOVA, F-ratio= 0.87, P-value > 0.05).

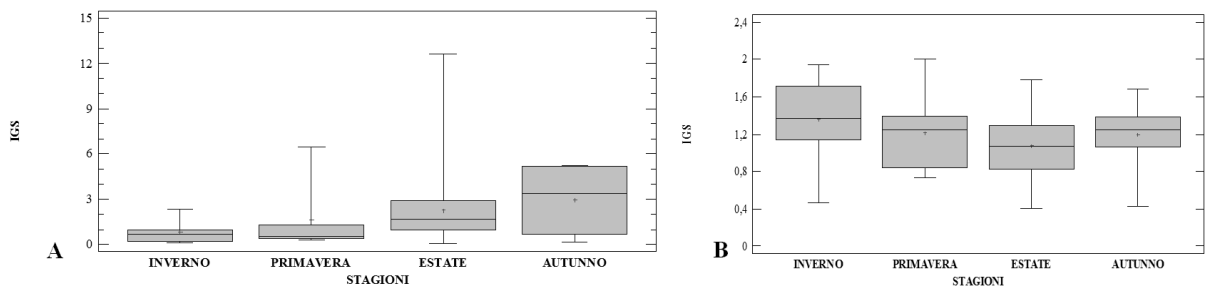


Figura 97. Valori medi dell'indice gonadosomatico (IGS) per le femmine mature (A) e maschi maturi e attivi (B) di *S. blainville*.

Fecondità

La fecondità ovarica nelle femmine mature, è variata da 1 a 17 follicoli maturi ($12,6 \pm 5,5$ media \pm D.S.). Il diametro dei follicoli vitellogenici è variato da 5,4 a 37,4 mm con un diametro medio di 17,7 mm (± 9 mm). Le femmine gravide hanno mostrato un totale di 3-4 embrioni completamente formati con lunghezze totali comprese tra 15,4 e 16,5 centimetri LT.

Conclusioni

Il presente studio ha riportato importanti informazioni sulla biologia riproduttiva dello spinarolo bruno nei mari di Sardegna.

Nella popolazione di *S. blainville* i maschi si sono mostrati in numero leggermente superiore rispetto alle femmine. Le femmine e i maschi di questa specie hanno mostrato una differente distribuzione di lunghezza tra loro con le femmine che raggiungono dimensioni maggiori rispetto ai maschi. Questo dimorfismo sessuale è molto comune tra gli squali (es. Clarke *et al.*, 2001, 2002; Sion *et al.*, 2003) ed è già stato registrato per lo spinarolo bruno (Quignard, 1971; Cannizzaro *et al.*, 1995; Sion *et al.*, 2003; Kousteni e Megalofonou, 2011). Le lunghezze totali maggiori registrate nelle acque sarde sono state rispettivamente, per femmine e maschi, di 84 cm e 63,9 cm e sono risultate inferiori a quelle riportate da Tortonese (1956) e Cannizzaro *et al.*, 1995 per quanto riguarda le acque italiane, mentre per quanto riguarda lo studio effettuato nel Mar Egeo da Kousteni e Megalofonou (2011) gli esemplari mostrano in genere taglie inferiori rispetto a quelli sardi, a parte l'unico maschio di 79 cm prelevato nelle acque greche.

L'istologia degli ovari e dei testicoli ha dato informazioni aggiuntive alla scala di maturità macroscopica utilizzata per *S. blainville* ci hanno permesso di assegnare più facilmente i diversi stadi maturativi. Si è inoltre potuto notare come gli ovari dello spinarolo bruno mostrino sempre follicoli in vitellogenesi a partire dalle femmine mature e che continuano ad esserlo anche durante le fasi di gravidanza e nelle femmine in post-parto. E perciò pare che lo spinarolo bruno abbia una strategia riproduttiva che gli consente di avere un ciclo continuo durante tutto l'anno come osservato da Cannizzaro *et al.* (1995) e Kousteni e Megalofonou (2011), ma diversamente da altri squaliformi vivipari che invece mostrano un ciclo riproduttivo alternato con ovari in regressione durante le fasi di gravidanza come *E. spinax* (vedi paragrafo precedente).

Come riscontrato anche nel sàgrì nero, *S. blainville* presenta un testicolo diametrale (Pratt, 1988), in cui lo sviluppo della spermatocisti inizia da una zona germinale e si sviluppa lungo il diametro della gonade. Negli Squaliformes solo *Squalus acanthias*, *Centroscymnus coelolepis* e *Centrophorus squamosus* mostrano questo tipo di testicoli. Macroscopicamente,

la ghiandola oviducale di *S. blainville* è apparsa con la tipica forma a barile e senza estensioni laterali pronunciate, similmente a quella di *Squalus acanthias* (Hamlett *et al.*, 1998). La morfologia principale e le caratteristiche funzionali della ghiandola erano virtualmente identiche a quelle degli altri Condroitti. Le sezioni istologiche hanno mostrato che le femmine in fase di maturazione avevano una ghiandola non ancora differenziata, con lamelle omogenee, mentre negli esemplari in maturazione, la ghiandola inizia pian piano il suo sviluppo e i tubuli cominciano ad essere riconoscibili; tuttavia la ghiandola non mostrava ancora alcuna attività secretoria. Nelle femmine mature si inizia ad apprezzare lo sviluppo della ghiandola e delle differenti secrezioni prodotte dalle quattro diverse zone. La natura chimica delle secrezioni nella club e papillary zone consisteva di mucine neutre come osservato in altri squali vivipari come *Iago omanensis* (Hamlett *et al.*, 2002) e *E. spinax*. La baffle zone si è dimostrata essere molto ridotta, specialmente in confronto alle due zone precedenti e con poche lamelle, una caratteristica comune nelle specie vivipare in cui il terzo rivestimento dell'uovo è ridotto a una "candela" flessibile che circonda gli embrioni e che scompare prima del parto (Serra Pereira *et al.*, 2011). La terminal zone non ha mostrato delle vere e proprie lamelle e semplici ghiandole tubulari che hanno reagito all'alcian blu confermando la produzione di mucopolisaccaridi acidi. E' proprio in questa zona che si sono riscontrati spermatozoi impacchettati in una matrice glucidica all'interno dei tubuli, come riscontrato in altre specie vivipare (es, *Mustelus antarticus* - Storrie *et al.*, 2008; *Centroscymnus coelolepis* - Moura *et al.*, 2011; *Raja clavata* - Serra Pereira *et al.*, 2011). In specie con questo tipo di conservazione e un lungo ciclo di gestazione, Pratt (1993) ha suggerito che lo sperma può essere conservato fino a 15 mesi. Supponendo che lo sperma conservato sarà successivamente utilizzato nella fecondazione, si può realmente considerare un lungo periodo di stoccaggio degli stessi in questa specie, considerato anche il fatto che la gravidanza potrebbe durare 17 mesi come ipotizzato da Canizzaro *et al.* (1995). La presenza di sperma anche nelle femmine in post-parto potrebbe rappresentare un meccanismo evolutivo che aumenta le probabilità di successo dell'inseminazione (Pratt, 1993), specialmente in specie con bassi tassi di densità come lo spinarolo bruno e come riscontrato anche in *E. spinax*.

Nelle acque della Sardegna, la taglia di prima maturità nelle femmine era più alta rispetto ai maschi e in linea con i risultati ottenuti per la stessa specie da Cannizzaro *et al.* (1995), Sion *et al.* (2003) e Kousteni e Megalofonou (2011). Questo modello può essere, in parte, spiegato con la necessità per le femmine di raggiungere una dimensione maggiore per sostenere lo sviluppo della prole e compiendo un minore investimento nella crescita a favore della

riproduzione, che si traduce in una maturità sessuale ritardata nelle femmine (Cortés, 2000). Le dimensioni della taglia di prima maturità stimate in questo studio risultano essere superiori a quello stimate nel Mediterraneo da Canizzaro *et al.* (1995), Sion *et al.* (2003) e Kousteni e Megalofonou (2011).

I Condroitti, mostrano essenzialmente due strategie riproduttive: alcune specie hanno un periodo riproduttivo ben definito mentre altre ne presentano uno esteso, durante tutto l'anno (Wourms, 1977). Durante il periodo di campionamento, sono state registrate quasi tutte le fasi di maturità. Le femmine immature hanno prevalso durante tutte le stagioni, in contrasto con quelle mature e in stato di gravidanza che sono state ritrovate in percentuali minori, ma in tutte le stagioni dell'anno andando a confermare ulteriormente il periodo riproduttivo esteso durante tutto l'anno (Cannizzaro *et al.*, 1995). Questa strategia riproduttiva è condivisa anche da altri squaliformi come *Heptranchias perlo* e *Centrophorus granulosus* come riportato da Capapé (1985) lungo le coste della Tunisia. Anche i maschi maturi e pronti all'accoppiamento sono stati ritrovati durante tutto l'anno, a confermare ulteriormente che l'accoppiamento e l'ovulazione si verificano in tutte le stagioni dell'anno (Quignard, 1971; Cannizzaro *et al.*, 1995; Sion *et al.*, 2003; Kousteni e Megalofonou, 2011). Questo trend sembrerebbe anche essere confermato dall'andamento stagionale dell'indice gonado-somatico che si è mostrato piuttosto costante in tutte le stagioni dell'anno per maschi e femmine, nonostante una leggera prevalenza nelle stagioni estive e autunnali per le femmine e invernali e autunnali per i maschi; nel canale di Sicilia, sembra che lo spinarolo bruno si riproduca preferenzialmente nella stagione primaverile (Cannizzaro *et al.*, 1995), mentre nel mar Egeo, Kousteni e Megalofonou (2011) hanno riportato un ciclo riproduttivo più esteso che va dalla stagione primaverile a quella autunnale.

Il fegato sembra giocare un ruolo chiave nella strategia riproduttiva di *S. blainville* e specialmente nelle femmine di questa specie. La crescita dell'IES durante lo sviluppo degli ovari e che si è mantenuta in percentuali piuttosto alte anche nelle fasi di gravidanza può essere correlata alla produzione di vitellogenina (un precursore delle proteine che costituiscono il tuorlo) da parte del fegato che viene utilizzata per supportare lo sviluppo degli embrioni (Koob e Callard, 1999). Durante l'ultimo stadio della gravidanza, i valori dell'IES sono infatti diminuiti, mentre, nella fase di post-parto, i valori sono aumentati leggermente, probabilmente perché le femmine iniziano a produrre lipidi per il ciclo riproduttivo successivo. Questi trend sono stati segnalati anche per *E. spinax* (Coelho e Erzini, 2008; Aranha *et al.*, 2009; presente tesi) e sembra comune anche in altri squalidi (Clarke *et al.*, 2001; Jacobsdóttir, 2001).

Sulla base dei nostri risultati, *S. blainville* ha mostrato una bassa fecondità. Come osservato anche nel sagrì nero (vedi paragrafo precedente), la fecondità ovarica è risultata superiore a quella uterina, probabilmente quest'ultimo fatto è dovuto alla perdita degli embrioni da parte delle femmine gravide durante il processo di pesca. La fecondità uterina da noi registrata (3-4 embrioni) è risultata inferiore a quella osservata in altre aree del Mediterraneo (fino a 6 embrioni nel Mar Egeo; Kousteni e Megalofonou) e nelle acque del Sud Africa (fino a 8 embrioni; Ebert *et al.*, 2002). Gli embrioni completamente formati e che presentavano ancora il sacco vitellino, mostravano lunghezze piuttosto simili con un range che è variato tra 15,4 e 16,5. Queste taglie si sono mostrate leggermente superiori a quelle riportate nel canale di Sicilia (14-14,5 cm; Cannizzaro *et al.*, 1995).

In conclusione, questo lavoro ha avuto come obiettivo quello di aumentare i dati sulla conoscenza della biologia dello spinarolo bruno *S. blainville*, una risorsa che presenta una scarsa densità di popolazione nei mari sardi. I dati sulla biologia riproduttiva, e l'approfondimento degli studi sui caratteri sessuali secondari (es. la ghiandola oviducale), rappresentano un contributo prezioso per poter conoscere e comprendere al meglio la strategia riproduttiva di questa specie e creare piani di gestione.

CAPITOLO 7

7.1. Frequenza dei riproduttori (spawners) e andamento delle taglie medie.

In questo capitolo si è voluta analizzare la frequenza dei riproduttori delle sei specie di cui si è analizzata la biologia riproduttiva nei due capitoli precedenti. I dati provengono dalle campagne MEDITS effettuate a partire dal 2005 fino al 2013 in quanto, precedentemente, non tutte le specie di Condroitti erano considerate come “target” per cui i sessi e gli stadi maturativi non venivano rilevati. Quantificare l’occurrence e la persistenza della frequenza dei riproduttori, il suo trend nel corso degli anni, e l’andamento delle loro taglie medie può rappresentare un metodo abbastanza esaustivo per comprendere al meglio se una popolazione stia risentendo di un eccessivo sforzo di pesca.

Per quanto riguarda la razza monaca *D. oxyrinchus*, e il sagrì nero *E. spinax*, si è deciso di non intraprendere questo tipo di analisi in quanto il periodo riproduttivo preferenziale si colloca nelle stagioni autunnale-invernale (Vedi capitoli 5 e 6, rispettivamente) che non coincide con il periodo in cui si svolge la campagna di pesca MEDITS.

7.2 Risultati

Galeus melastomus

Il gattuccio boccanera è risultato ben distribuito in tutte le 7 zone, anche se una percentuale piuttosto bassa dei riproduttori è stata riscontrata nella zona 3 nonostante l'elevato numero di individui campionati (Tab. 19) (Fig. 98). I riproduttori sono stati catturati a profondità comprese tra 162 e 730 m. Anche se le zone 1 e 2 presentano il maggior numero di individui campionati, le zone 5 e 6 presentano una proporzione di spawners più alta sul totale degli individui catturati, rispettivamente col 26.6% e 37.9% (Tab. 19). Il trend dei riproduttori sembrerebbe stabile nelle zone 2, 3 e 7), in crescita nella zona 4, e in diminuzione nelle zone 1, 5 e 6 con differenze statisticamente significative solo per quest'ultima (Spearman test, P-value <0.05) (Fig. 98). In generale, i riproduttori maschi, come è facilmente spiegabile dalla biologia della specie, si sono mostrati sempre superiori rispetto alle femmine (Tab. 19). I maschi, infatti, diversamente dalle femmine, una volta raggiunta la maturità sessuale, tendono ad rimanere in tale condizione per il resto del loro ciclo vitale.

Tabella 19. In questa tabella vengono mostrati i risultati riguardanti la popolazione di *G. melastomus* nelle 7 zone di campionamento della Sardegna (2005-2013). Viene mostrato il totale degli individui campionati, la frequenza % media degli spawners e relativo trend, nonché la % media degli spawners maschili e femminili (sulla % totale degli spawners rilevati) con le relative taglie (media±D.S.) e il trend associato.

	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 3	ZONA 4	ZONA 5	ZONA 6	ZONA 7
Individui tot	5759	11281	2689	271	1176	1623	2127
% spawners	19.6	10.4	2.6	17.3	26.6	37.9	17.2
Trend	D	S	S	C	D	D	S
Spearman	0.40	0.70	0.23	0.57	0.60	0.007*	0.96
% spawners femmine	43.7	30.2	23	42.8	54.3	13.7	15.5
Taglie	47.4±1.5	48.1±1.9	50.3±2.0	49.9±1.7	49.9±1.7	48.6±2.6	49.1±2.3
Trend	S	S	D	D	S	D	S
Spearman	0.86	0.93	0.62	0.05	0.71	0.03*	0.63
% spawners maschi	56.3	69.8	77	57.2	45.7	86.3	84.5
Taglie	45.8±1.6	44.3±0.9	46.1±1.3	46.4±2.2	44.2±2.3	44.7±1.0	45.4±2.3
Trend	D	D	C	C	D	S	D
Spearman	0.09	0.26	0.13	0.22	0.83	0.89	0.18

(*) differenze statisticamente significative: test di Spearman P < 0.05.

C = trend in crescita; D = trend in diminuzione; NV= trend non valutabile; S= trend stabile.

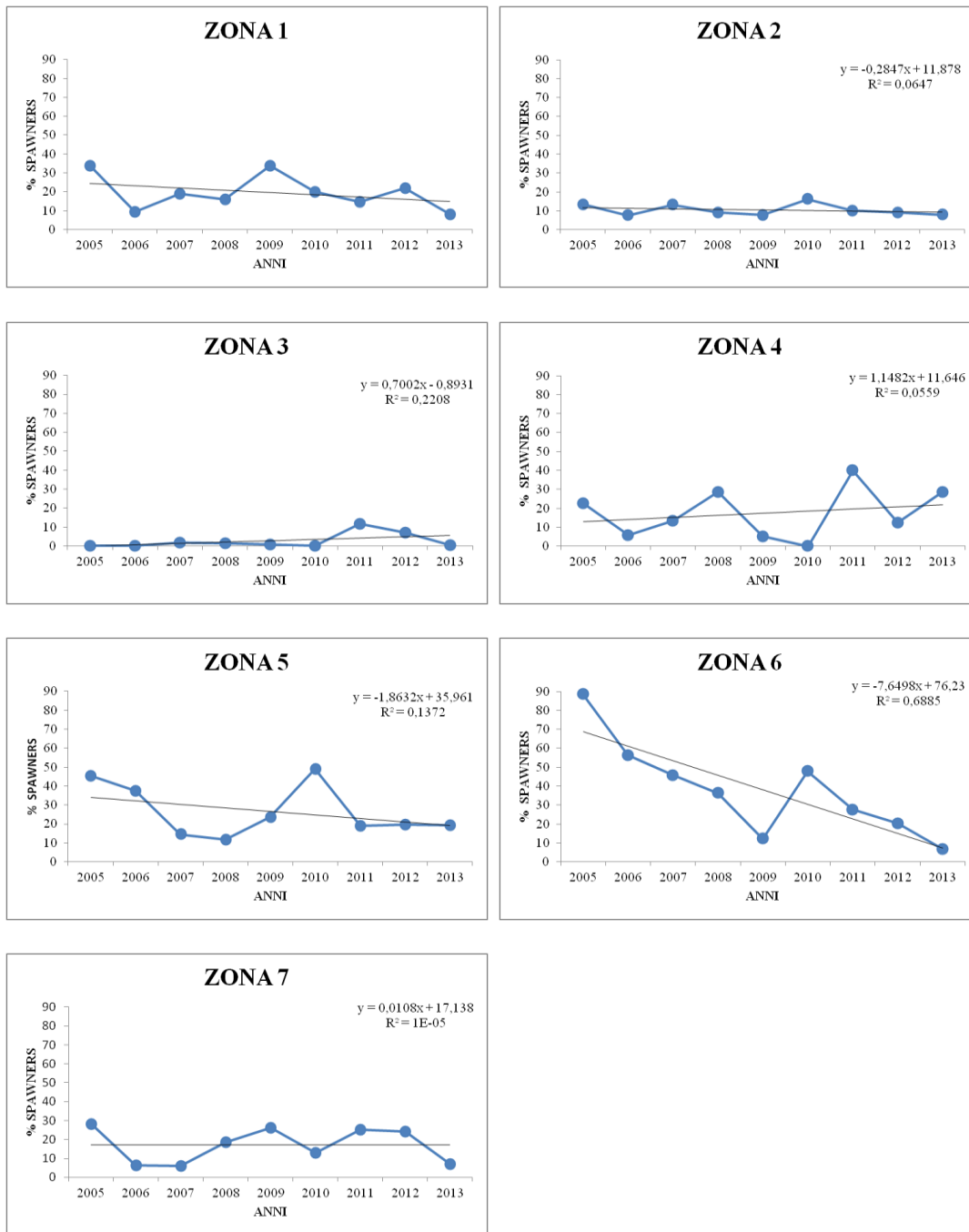


Figura 98. Percentuale degli spawners di *G. melastomus* nelle 7 zone della Sardegna durante la campagna di pesca a strascico MEDITS (2005 al 2013).

Le femmine hanno mostrato taglie medie comprese tra 47.4 ± 1.5 (media \pm D.S.) e 50.3 ± 2.0 (media \pm D.S.), mentre i maschi tra 44.2 ± 2.3 (media \pm D.S.) e 46.4 ± 2.2 (media \pm D.S.).

Per quanto riguarda l'andamento delle taglie, maschi e femmine hanno presentato, in genere trend opposti tra loro (in diminuzione per le femmine e stabile o in crescita per i maschi), tuttavia, nessun trend riscontrato, ha mostrato differenze statisticamente significative, ad eccezione di quello osservato per le femmine nella zona 6 dove le taglie medie sembrano essere visibilmente in calo nel corso degli anni (Spearman test, P-value <0.05), (Fig. 99).

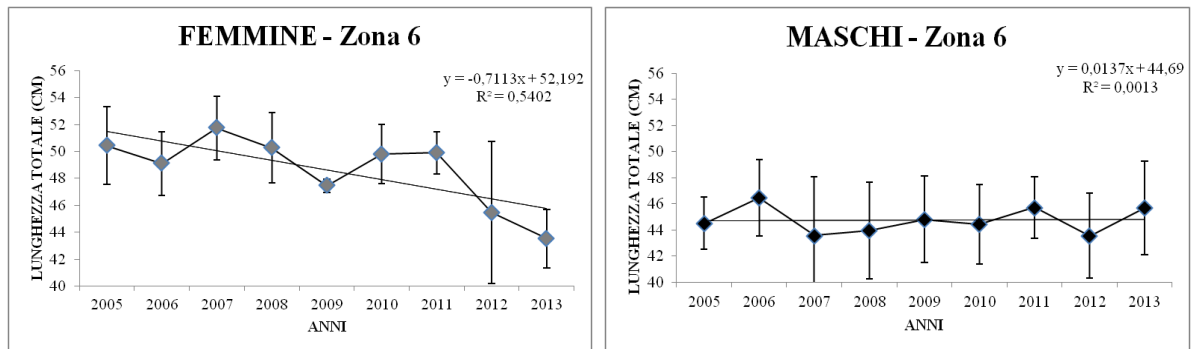


Figura 99. Trend delle lunghezze medie della popolazione femminile e maschile di *G. melastomus*.

I riproduttori di *G. melastomus* sembrano essere maggiormente distribuiti nella zona orientale della Sardegna anche se tuttavia la loro presenza risulta essere ben rappresentata in tutte le zone (Fig. 100). Questi sembrano avere delle concentrazioni preferenziali in tutte le zone, tranne nelle zone 2 e 7 dove sembrano essere più ampiamente distribuiti.

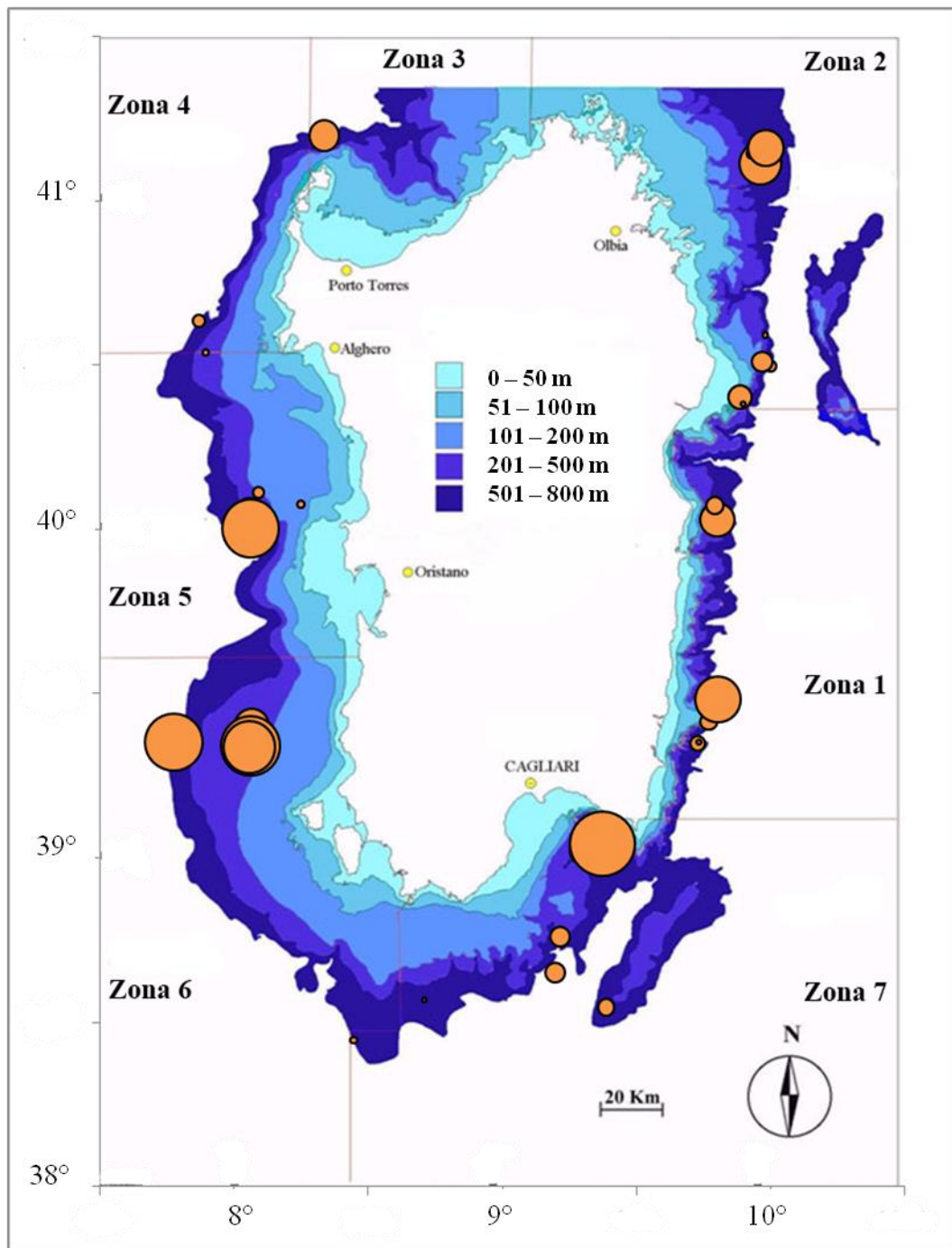


Figura 100. Distribuzione e frequenza % degli spawners di *G. melastomus* nelle 7 zone della Sardegna rilevati nel corso delle campagne MEDITS (2005 -2013).

Raja brachyura

La razza bionda ha mostrato frequenze piuttosto basse dei riproduttori, catturati a profondità comprese tra 30 e 59 m. Questi si sono localizzati, rispettivamente, nelle zone 6, 5 e 4, mentre nella zona 2 è stata riscontrata la percentuale più bassa in assoluto (Tab. 20, Fig. 101). Nelle zone 5, 6 e 2 sembrerebbe esserci un trend in crescita dei riproduttori, anche se non sono state riscontrate differenze statisticamente significative; mentre nella zona 4 il trend sembrerebbe stabile (Tab. 20, Fig. 101). La zona 6 sembra essere quella con la più alta frequenza di spawners.

Tabella 20. In questa tabella vengono mostrati i risultati riguardanti la popolazione di *R. brachyura* nelle 7 zone di campionamento della Sardegna (2005-2013). Viene mostrato il totale degli individui campionati, la frequenza % media degli spawners e relativo trend, nonché la % media degli spawners maschili e femminili (sulla % totale degli spawners rilevati) con le relative taglie (media±D.S.) e il trend associato.

	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 3	ZONA 4	ZONA 5	ZONA 6	ZONA 7
Individui tot	0	54	60	456	782	639	5
% spawners		0.6	0	1.5	1.6	4.3	0
Trend		C		S	C	C	
Spearman		0.72		0.42	0.17	0.75	
% spawners femmine		100		50	33.3	65	
Taglie		95		91.9±6.6	95.2±6.5	93.2±5.5	
Trend		NV		D	D	D	
Spearman				0.00001*	0.1	0.04*	
% spawners maschi				50	66.7	35	
Taglie				85.9±10.2	86 ±0.9	86±2.8	
Trend				D	D	C	
Spearman				0.00001*	0.78	0.73	

(*) differenze statisticamente significative: test di Spearman $P < 0.05$.

C = trend in crescita; D = trend in diminuzione; NV= trend non valutabile; S= trend stabile.

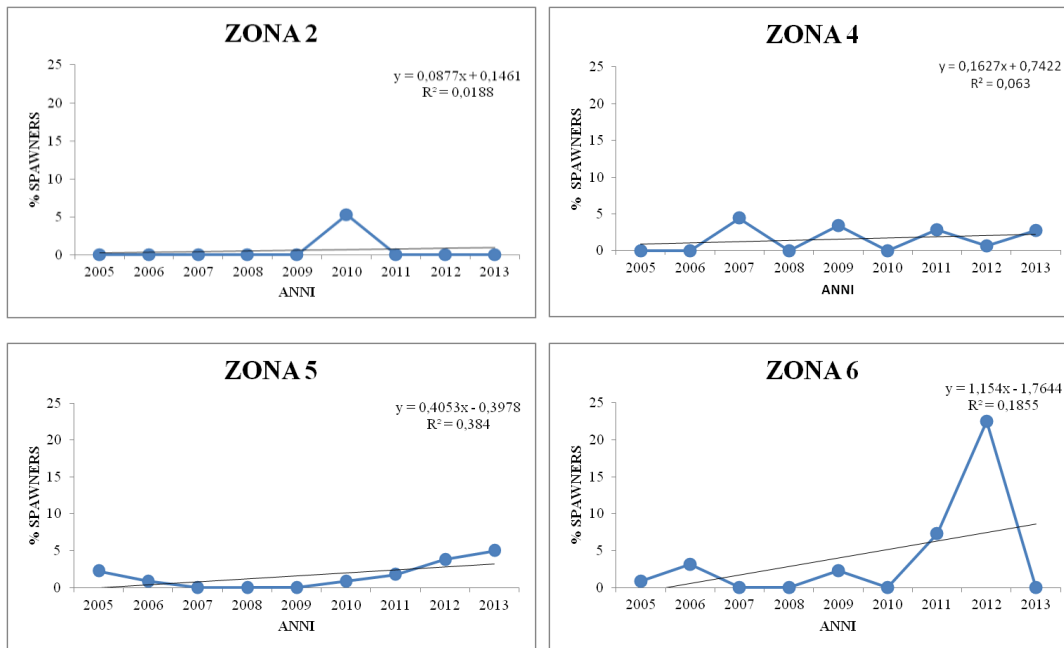


Figura 101. Percentuale degli spawners di *R. brachyura* nelle 7 zone della Sardegna durante la campagna di pesca a strascico MEDITS (2005 al 2013).

Le femmine hanno mostrato taglie medie comprese tra 93.2 ± 5.5 (media \pm D.S.) e 95.2 ± 6.5 (media \pm D.S.), mentre i maschi tra 85.9 ± 10.2 (media \pm D.S.) e 86 ± 2.8 (media \pm D.S.).

Per quanto riguarda l'andamento delle taglie medie, si è potuto notare come nella zona 4, queste sembrano in calo sia per le femmine che per i maschi con differenze statisticamente significative per entrambi i sessi (Spearman test, P-value <0.05).

Mentre, per quanto riguarda i riproduttori presenti nella zona 6, sembra esserci un trend in calo solo nelle femmine (Spearman test, P-value <0.05).

I riproduttori di *R. brachyura* sembrano essere maggiormente distribuiti nella zona occidentale della Sardegna e specialmente nella zona 6 dove sono riscontrate le frequenze maggiori (Fig. 102).

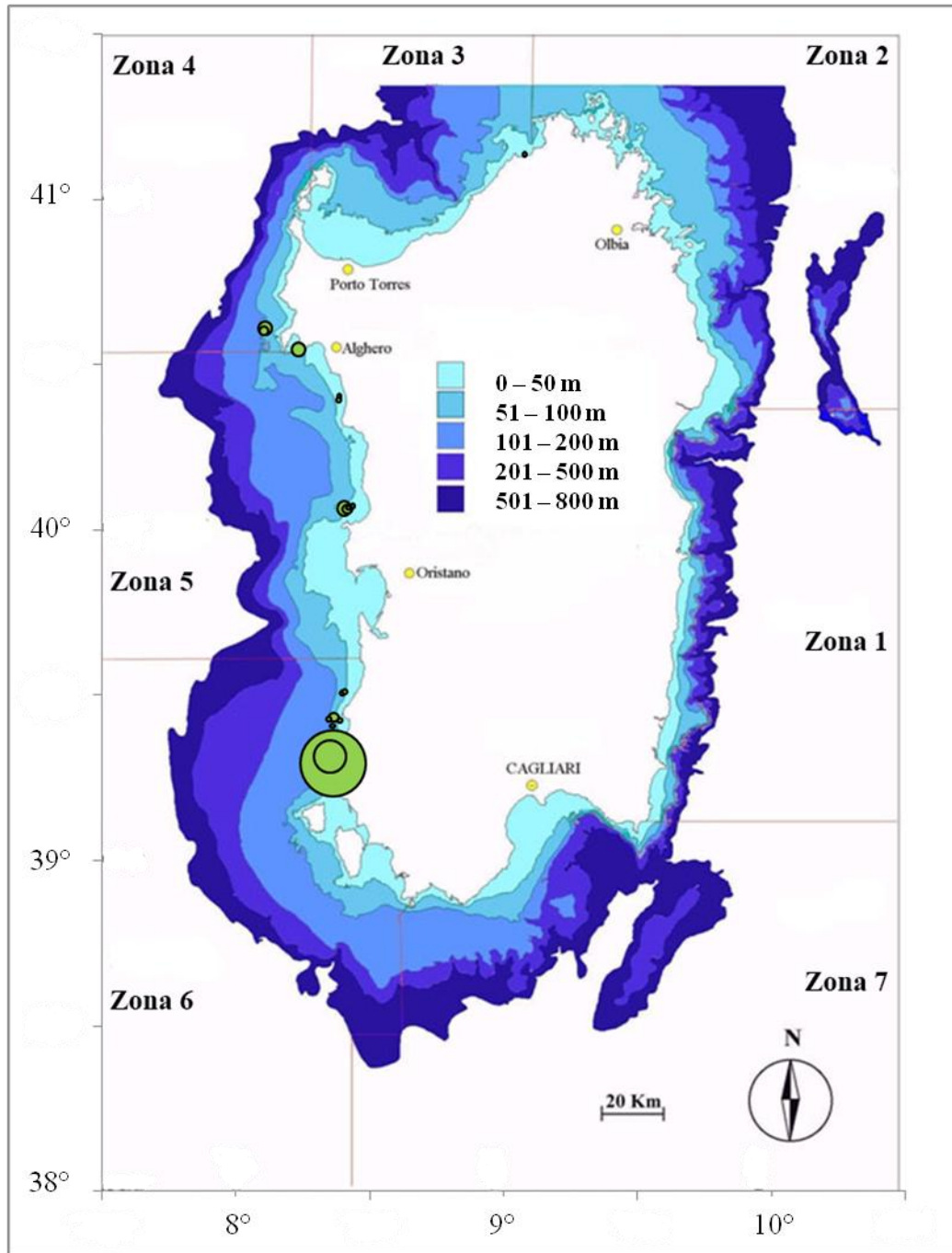


Figura 102. Distribuzione e frequenza % degli spawners di *R. brachyura* nelle 7 zone della Sardegna rilevati nel corso delle campagne MEDITS (2005 -2013).

Raja miraletus

La razza bruna mostra spawners distribuiti lungo tutte le zone della Sardegna, tranne nella zona 1 dove non se ne sono registrati (Tab. 21). Le frequenze maggiori dei riproduttori sono state registrate rispettivamente nelle zone 5, 6 e 4 (Tab. 21). In generale le diverse zone sembrerebbero mostrare un trend in crescita (Fig. 103), tranne la zona 7 che mostra un trend opposto (Fig. 103); per nessuna zona presa in analisi sono state riscontrate differenze statisticamente significative. I riproduttori sono stati campionati a profondità comprese tra 30 e 158 m.

Tabella 21. In questa tabella vengono mostrati i risultati riguardanti la popolazione di *R. miraletus* nelle 7 zone di campionamento della Sardegna (2005-2013). Viene mostrato il totale degli individui campionati, la frequenza % media degli spawners e relativo trend, nonché la % media degli spawners maschili e femminili (sulla % totale degli spawners rilevati) con le relative taglie (media±D.S.) e il trend associato.

	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 3	ZONA 4	ZONA 5	ZONA 6	ZONA 7
Individui tot	28	459	172	180	782	553	61
% spawners	0	9.7	5	11.6	21.1	11.9	8.1
Trend		C	S	C	C	S	D
Spearman		0.25	0.85	0.08	0.08	0.15	0.16
% spawners femmine		26.6	33.3	63.2	46.4	54.5	60
Taglie		43.4±1.8	46.2	40.4±1.5	39.3±2.5	40.1±1.8	44.3±0.2
Trend		D	NV	D	D	S	NV
Spearman		0.02*		0.05	0.03*	0.66	
% spawners maschi		73.4	66.7	36.8	53.6	45.5	40
Taglie		42.3±1.5	43 ±2.7	40.1±1.2	39.4±2.5	38.8±1.6	43.6±0.9
Trend		D	D	C	D	D	NV
Spearman		0.19	0.38	0.17	0.12	0.17	

(*) differenze statisticamente significative: test di Spearman $P < 0.05$.

C = trend in crescita; D = trend in diminuzione; NV= trend non valutabile; S= trend stabile.

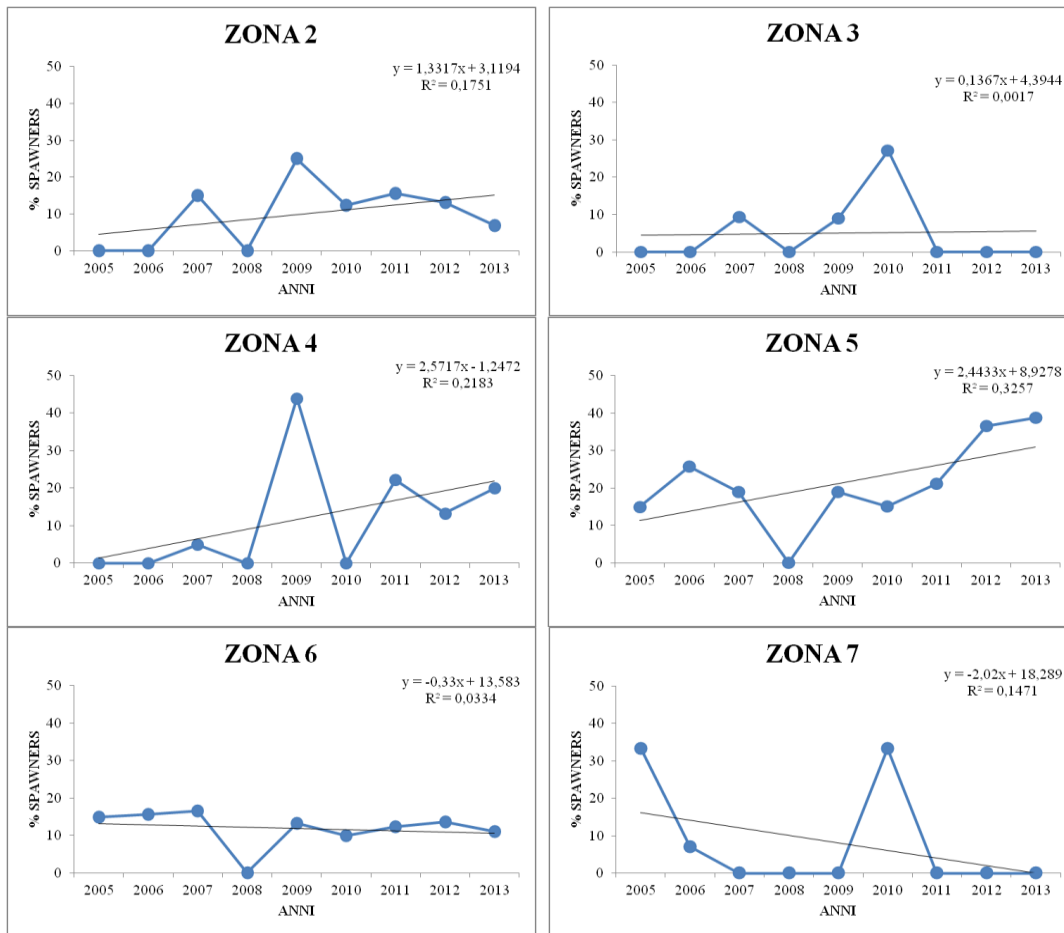


Figura 103. Percentuale degli spawners di *R. miraletus* nelle 7 zone della Sardegna durante la campagna di pesca a strascico MEDITS (2005 al 2013).

Le femmine hanno mostrato taglie medie comprese tra 39.3 ± 2.5 (media \pm D.S.) e 46.2, mentre i maschi tra 38.8 ± 1.6 (media \pm D.S.) e 43.6 ± 0.9 (media \pm D.S.).

Per quanto riguarda l'andamento delle taglie, non è stato possibile stimare un trend per gli individui della zona 7 e per le femmine della zona 3 perché il campione era esiguo.

In generale, l'andamento delle dimensioni corporee per maschi e femmine sembra essere decrescente, ma, in particolare, questo trend sembra essere riscontrato per le femmine delle zone 2 e 5 (Fig. 104) dove sono state riscontrate differenze statisticamente significative (Spearman test, P-value <0.05).

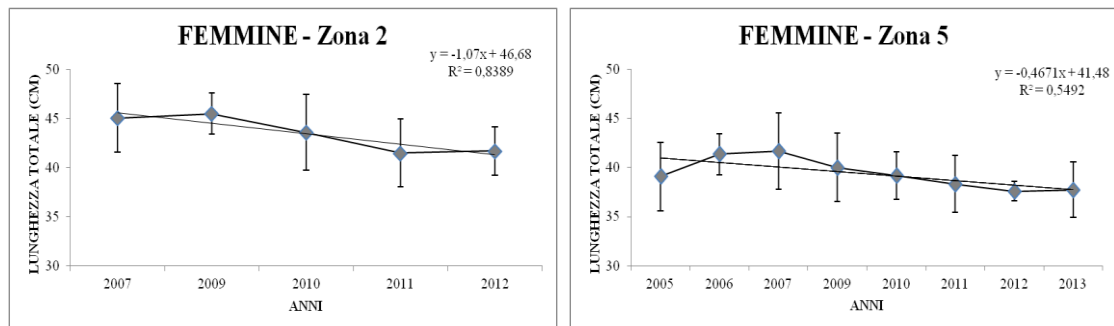


Figura 104. Trend delle lunghezze medie della popolazione femminile di *R. miraletus*.

I riproduttori di *R. miraletus* sembrano essere maggiormente distribuiti nella zona occidentale della Sardegna e specialmente nelle zone 5 e 6 dove sono riscontrate le frequenze maggiori (Fig. 105). In quasi tutte le zone sembrano esserci delle concentrazioni preferenziali, ad eccezione delle zone 2 e 6 dove la distribuzione essere interessare aree più vaste.

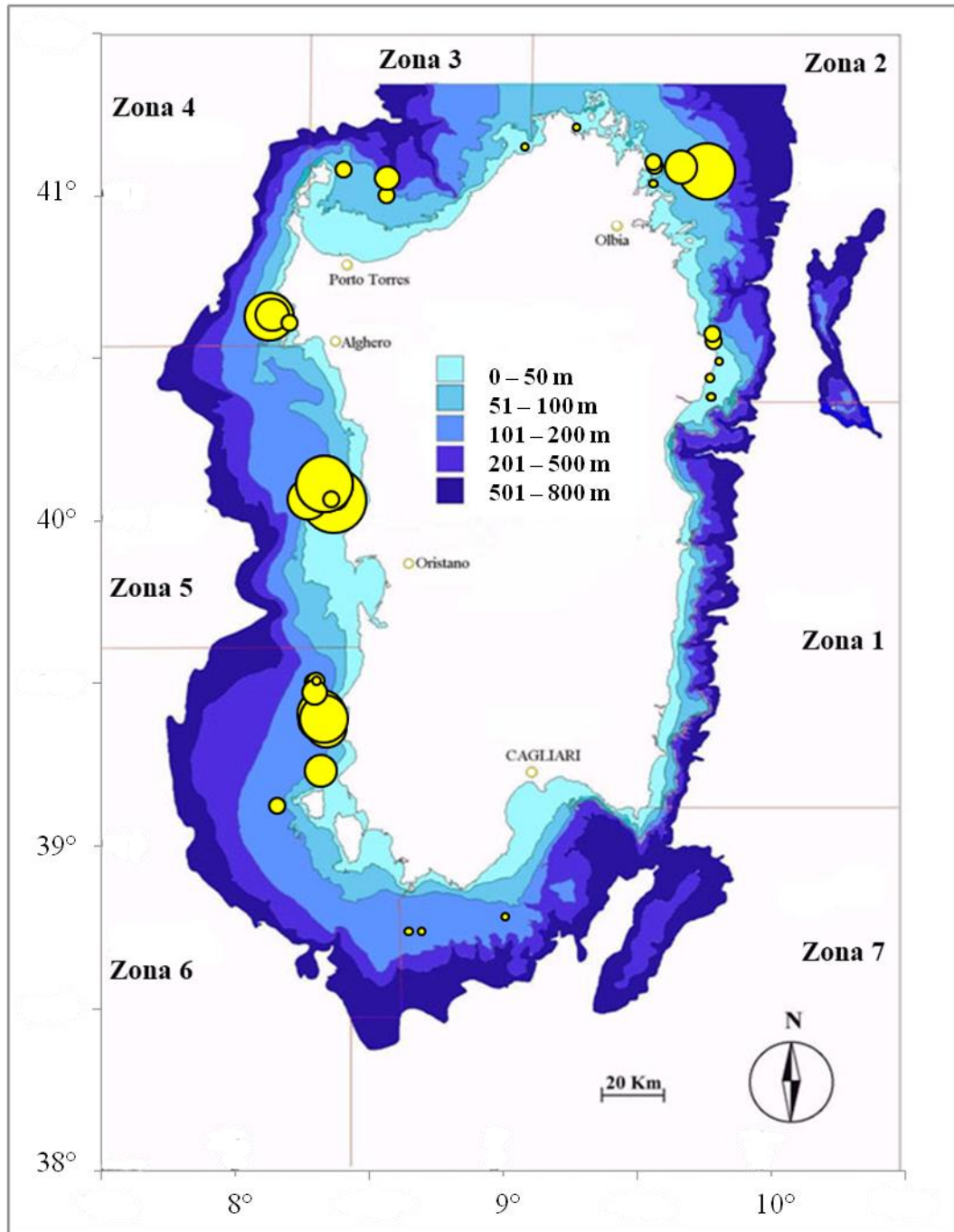


Figura 105. Distribuzione e frequenza % degli spawners di *R. miraletus* nelle 7 zone della Sardegna rilevati nel corso delle campagne MEDITS (2005 -2013).

Squalus blainville

Lo spinarolo bruno, tra le 6 specie prese in analisi, è certamente quella meno abbondante e meno frequente (vedi capitolo 4) e tutto ciò si è riflesso anche nell'analisi dei riproduttori. Tuttavia, questi sono risultati essere presenti in tutte le zone a profondità comprese tra 174 e 534 m, (tranne nella zona 1) con frequenze maggiori rispettivamente nelle zone 6, 3, 7 e 2 che sembrano mostrare un trend in crescita (Tab. 22, Fig. 106), statisticamente significativo (Spearman test, P-value <0.05).

Tabella 22. In questa tabella vengono mostrati i risultati riguardanti la popolazione di *S. blainville* nelle 7 zone di campionamento della Sardegna (2005-2013). Viene mostrato il totale degli individui campionati, la frequenza % media degli spawners e relativo trend, nonché la % media degli spawners maschili e femminili (sulla % totale degli spawners rilevati) con le relative taglie (media±D.S.) e il trend associato.

	ZONA 1	ZONA 2	ZONA 3	ZONA 4	ZONA 5	ZONA 6	ZONA 7
Individui tot	2	11	61	72	10	51	41
% spawners	0	8.3	23	0.4	5.5	30.5	16.2
Trend		C	C	S	C	C	C
Spearman		0.02*	0.006*	0.47	0.12	0.009*	0.04*
% spawners femmine		1	2	1	1	19	0
Taglie		77.2	71.9±2.6	79	65.5	73.2±7.1	
Trend		NV	NV	NV	NV	D	
Spearman						0.005*	
% spawners maschi		1	6	0		2	3
Taglie		61	55.3 ±3.2			51.5	55.2±3.2
Trend		NV	C			NV	D
Spearman			0.001*				0.05

(*) differenze statisticamente significative: test di Spearman P < 0.05.

C = trend in crescita; D = trend in diminuzione; NV= trend non valutabile; S= trend stabile.

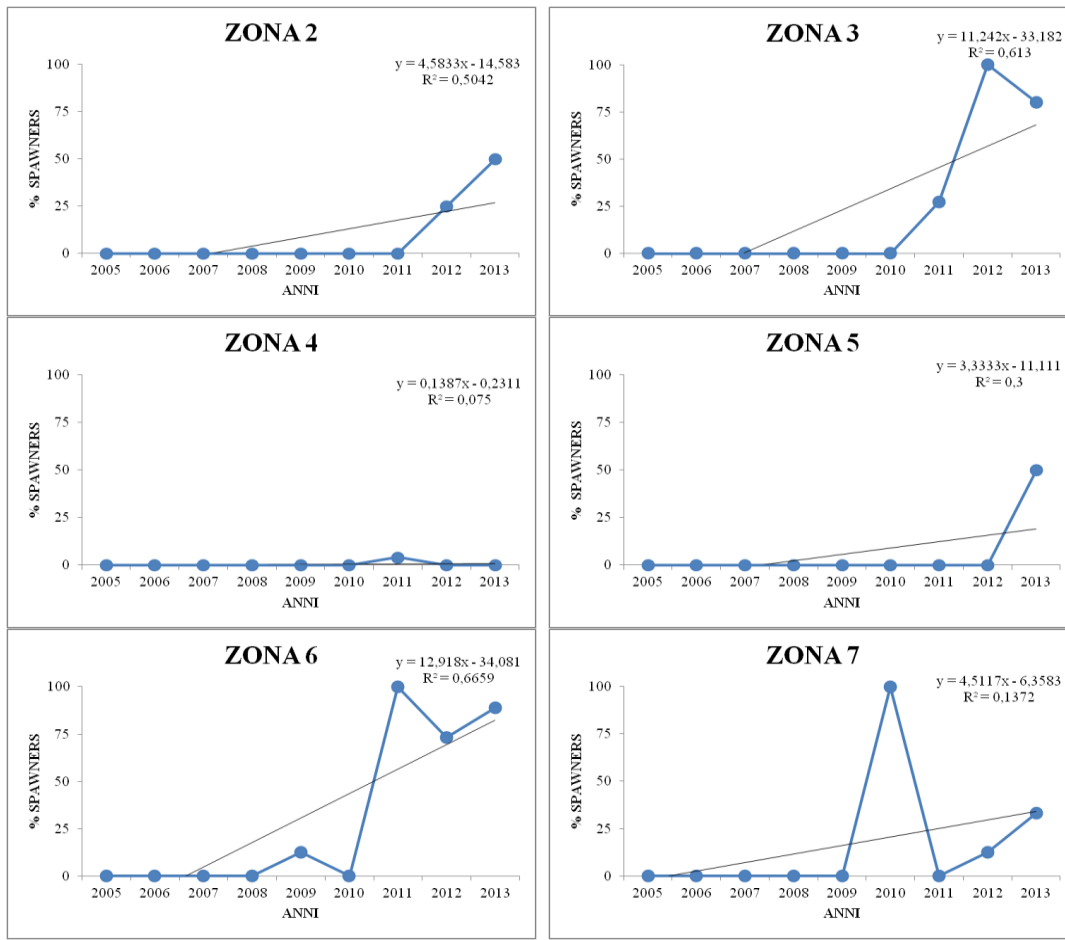


Figura 106. Percentuale degli spawners di *S. blainville* nelle 7 zone della Sardegna durante la campagna di pesca a strascico MEDITS (2005 al 2013).

Le femmine hanno mostrato taglie medie comprese tra 65.5 e 79, mentre i maschi tra 51.5 e 61.

Neanche in questo caso è stato possibile valutare accuratamente il trend delle taglie medie degli individui maschili e femminili di questa specie. Per quanto riguarda i maschi, è stato riscontrato un trend in crescita nella zona 3 (Spearman test, P-value <0.05), mentre nella zona 7 viene evidenziata una diminuzione, tuttavia non sono state riscontrate differenze statisticamente significative. Mentre, per quanto riguarda le femmine, nella zona 6 sembrerebbe che le taglie dei maturi siano in decremento (Spearman test, P-value <0.05).

I riproduttori di *S. blainville* sembrano essere maggiormente distribuiti nella zona occidentale della Sardegna e specialmente nella zona 6 dove sono riscontrate le frequenze maggiori (Fig. 107). In quasi tutte le zone sembrano non esserci delle vere e proprie concentrazioni preferenziali, ad eccezione della zona 6 dove essa risulta essere maggiore nello strato batimetrico più profondo indagato.

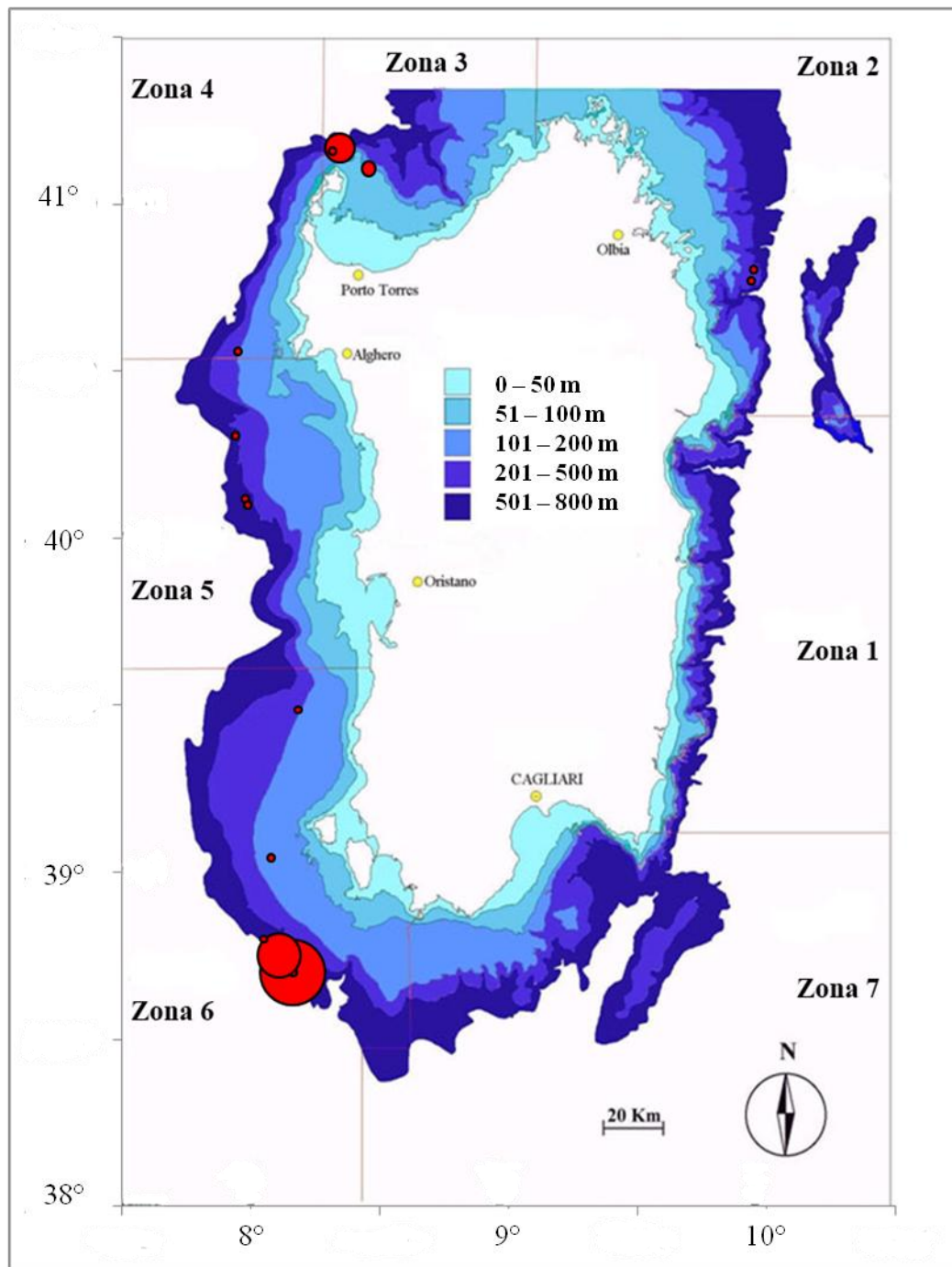


Figura 107. Distribuzione e frequenza % degli spawners di *S. blainville* nelle 7 zone della Sardegna rilevati nel corso delle campagne MEDITS (2005 -2013).

7.3 Conclusioni

Le analisi effettuate per la valutazione della presenza e frequenza dei riproduttori e l'andamento delle taglie medie nel corso degli anni, ci hanno permesso di mettere in luce pattern differenti.

Il gattuccio boccanera ha presentato le più alte frequenze di riproduttori che sono risultati ben distribuiti in tutte le zone prese in analisi, seppur maggiormente nella costa orientale. Il trend dei riproduttori sembra mostrare un preoccupante calo nella zona 6; questo trend sembra essere confermato dal fatto che anche le femmine presenti in questa zona presentano un trend delle taglie medie in diminuzione (mentre i maschi sembrano essere stabili) seppure mai inferiori alla taglia di maturità stimata per questa specie (vedi Capitolo 5). Questo pattern dovrebbe comunque destare preoccupazione perché potrebbe significare che in questa zona la risorsa stia risentendo dello sforzo di pesca.

La razza bionda, seppur reperita con minore frequenza rispetto alle altre specie, risulta avere una distribuzione dei riproduttori principalmente nella costa occidentale dove questi sembrano concentrarsi preferenzialmente in punti specifici. Il trend dei riproduttori sembrerebbe in crescita, tuttavia è difficile stimare correttamente questo valore vista l'esiguità del campione analizzato, anche se la specie si trovi nel periodo di riproduzione stimato (vedi Capitolo 5). Per quanto riguarda l'andamento delle taglie, si è quasi sempre notato un trend in diminuzione per maschi e femmine, anche se queste sono risultate sempre superiori alla taglia di maturità stimata (vedi Capitolo 5). Tuttavia, vista la scarsità degli spawners campionati e le concentrazioni preferenziali che essi hanno mostrato, questa specie sembrerebbe risentire dello sforzo di pesca, ma bisognerebbe migliorare il monitoraggio per avere una visione più chiara dello status della risorsa.

La piccola razza bruna ha mostrato una frequenza e una distribuzione dei riproduttori in tutte le zone della Sardegna, eccetto che nella zona 1, ma in generale sembra che questi siano preferenzialmente distribuiti nella zona occidentale. *R. miraletus* sembra mostrare trend in crescita eccetto che nelle zone 6 e 7 che invece mostrano un trend inverso. Nella zona occidentale (zone 4, 5 e 6) le taglie medie di maschi e femmine sono risultate in diminuzione e in generale risultano essere molto inferiori alla taglia di maturità stimata per questa specie (vedi Capitolo 5). Questo dovrebbe essere un campanello d'allarme e un sintomo che questa specie stia risentendo della pressione di pesca in queste zone. Sarebbe auspicabile aumentare il monitoraggio e seguire attentamente l'andamento di questo trend che sembra essere preoccupante.

Infine, lo spinarolo bruno, la specie in assoluto meno frequente e abbondante (vedi Capitolo 4) ha mostrato anche una presenza piuttosto esigua dei riproduttori che sembrano essere distribuiti maggiormente dalla zona nord-occidentale fino a sud (Zone 3-6). Nonostante la scarsità dei riproduttori reperiti, questi sembrerebbero mostrare un trend in crescita in quasi tutte le zone analizzate. Per quanto riguarda l'andamento delle taglie, sia i maschi che le femmine non hanno mai mostrato taglie medie inferiori alla taglia di maturità stimata per questa specie (vedi Capitolo 6), anche se c'è da evidenziare un apparente calo nelle taglie delle femmine della zona 6 dove si è registrata la concentrazione più alta dei riproduttori. In generale sembrerebbe che questa risorsa non stia risentendo dello sforzo di pesca, ma data la scarsità dei dati acquisiti, è difficile verificare con esattezza questa ipotesi.

Concludendo, dai risultati emersi in questo capitolo, sarebbe opportuno attuare la tutela (limitando il numero delle catture o eventualmente chiudendo determinate aree) delle zone di maggiore concentrazione degli spawners per le specie indagate e, dato che non è ancora presente una legislazione a riguardo, considerare delle taglie minime di cattura, soprattutto per le specie che mostrano un trend in declino. Nella tabella 23 vengono mostrate le proposte effettuate sulla base dei risultati ottenuti in questi anni.

Tabella 23. Principali zone di tutela (individuate per il periodo estivo) e taglie minime di cattura proposte.

Specie	Zone di tutela	Taglia minima di cattura proposta
<i>G. melastomus</i>	Zona 5, Zona 6, Zona 7	Femmine= 47 cm; Maschi= 44 cm
<i>R. brachyura</i>	Zona 4, Zona 5, Zona 6	Femmine= 90 cm; Maschi=83 cm
<i>R. miraletus</i>	Zona 2, Zona 5, Zona 6	Femmine e Maschi= 44 cm
<i>S. blainville</i>	Zona 3, Zona 6	Femmine= 64 cm; Maschi= 54 cm

Le zone individuate sono state considerate in base alla maggior concentrazione dei riproduttori e per il fatto che si sono registrati dei trend in calo (anche se non per tutte le specie e non in tutte le zone). Le taglie minime di cattura sono state proposte considerando la taglia di maturità sessuale (L_{50}) delle singole specie e separatamente per maschi e femmine visto il dimorfismo tra sessi; solo la razza bruna *R. miraletus* non presenta tale dimorfismo e per cui le taglie coincidono.

Infine, considerato il fatto che i dati riportati in questo capitolo si riferiscono alle catture effettuate durante la campagna di pesca scientifica MEDITS (che si svolge principalmente nel periodo tardo-primaverile/estivo) ci si propone di ampliare e migliorare i monitoraggi anche

per quelle specie che mostrano un periodo riproduttivo preferenziale in autunno e inverno (es. *D. oxyrinchus* e *E. spinax*) e cercare di estendere queste analisi anche alle altre specie di Condroitti presenti nei mari di Sardegna.

CAPITOLO 8

CONCLUSIONI

La rapida espansione della pesca e il commercio globale costituiscono i principali fattori di minaccia delle coste e dei mari (Polidoro *et al.*, 2008; Anderson *et al.*, 2011; McClenachan *et al.*, 2012). L'estensione e il grado di impatto globale che le attività alieutiche hanno sulla biodiversità marina, tuttavia, sono poco conosciuti e molto controversi (Dulvy *et al.*, 2014). Nonostante ciò, è certo il fatto che la pesca eccessiva e il degrado degli habitat abbiano alterato profondamente le popolazioni degli animali marini (Hutchings, 2000; Lotze *et al.*, 2006; Polidoro *et al.*, 2012), in particolare quelle di squali e razze (Stevens *et al.*, 2000; Dudley e Simpfendorfer, 2006; Ferretti *et al.*, 2010).

I Condroitti costituiscono un'importante risorsa, che costituisce una notevole frazione del by-catch, che da decenni sta subendo un incremento della mortalità che ne ha alterato le abbondanze relative e le strutture di popolazione in tutto il mondo. Questo è dovuto principalmente alla loro strategia riproduttiva di tipo k che li rende estremamente vulnerabili e poco resilienti agli alti tassi di mortalità dovuti alla pesca (Musick, 1999; Cortés, 2002; Dulvy e Forrest, 2010).

La conoscenza dei parametri biologici correlati alla biologia riproduttiva (life-history traits) e dello stato delle popolazioni di questi organismi marini risultano fondamentali per una corretta gestione della pesca.

I mari di Sardegna rappresentano un piccolo hotspot della biodiversità nel centro del Mediterraneo, oltre ad essere un'importante anello di congiungimento dei due versanti (occidentale ed orientale). L'elevata ricchezza di specie di Condroitti che abitano questi mari unitamente all'assenza di misure che li tutelino, ha fornito lo spunto per intraprendere uno studio sullo status dei questi predatori marini, al fine di stabilire delle basi (studiando i principali parametri biologici) da cui partire per una loro corretta gestione. Questo obiettivo è stato raggiunto conducendo analisi specifiche sulla maturità sessuale andando ad approfondire aspetti sulle loro strategie riproduttive.

I risultati sui trend delle abbondanze delle specie demersali hanno innanzitutto permesso di identificare le specie più abbondanti e per le quali le informazioni sul ciclo riproduttivo e sui parametri annessi risultano scarse o frammentarie in letteratura. Le specie studiate (*Dipturus oxyrinchus*, *Etmopterus spinax*, *Galeus melastomus*, *Raja brachyura*, *R. miraletus* e *Squalus blainville*) sono inoltre tutte inserite nelle liste rosse IUCN.

Dal momento che l'individuazione delle diverse fasi del ciclo biologico di una specie è fondamentale per l'identificazione dei principali parametri riproduttivi, l'adozione di scale di maturità standardizzate e specifiche per ovipari e vivipari, attraverso l'osservazione macroscopica degli apparati riproduttori, supportata dalle analisi istologiche, è stata determinante per la corretta attribuzione degli stadi maturativi.

I parametri biologici analizzati hanno messo in luce una generalizzata vulnerabilità alla mortalità da pesca di tutte le specie studiate. Nello specifico, razze e squali hanno mostrato tutti un raggiungimento estremamente tardivo delle maturità sessuale, in entrambi i sessi, con L_{50} generalmente superiori all'80% della loro taglia massima raggiunta. Tale dato, se confrontato con quelli relativi all'Oceano Atlantico, in cui è stato riportato un raggiungimento della taglia di prima maturità sessuale a circa il 75% della taglia massima (Cortés, 2000) porterebbe a formulare due ipotesi: 1) i valori da noi ottenuti potrebbero essere sovrastimati per la mancata cattura di individui di taglie elevate, o 2) l'intervallo di taglia dei nostri campioni risulta adeguato e le specie maturano effettivamente tardi nel loro ciclo vitale. La seconda ipotesi sembra da noi la più accreditata in quanto vengono riportate, per alcune specie, delle taglie di cattura tra le più alte reperite in Mediterraneo (e.g. *D. oxyrinchus* e *R. brachyura*) o comunque in linea con la letteratura esistente (e.g. *G. melastomus*, *R. miraletus*). In tutte le specie, fatta eccezione per *R. miraletus*, le taglie di maturità si sono mostrate più elevate nelle femmine rispetto ai maschi. Tale pattern potrebbe essere in parte spiegato dalla necessità, da parte delle femmine, di raggiungere taglie maggiori per supportare capsule ovigere o embrioni e dalla necessità di un investimento energetico minore nell'accrescimento in favore della riproduzione. E' noto infatti, come gli elasmobranchi tendano a crescere pochissimo una volta maturi (Ebert *et al.*, 2007).

Il potenziale riproduttivo nelle specie vivipare analizzate, entrambi squali aplacentati lecitotrofici, sembra dipendere strettamente dai differenti momenti di attività della fase ovarica e uterina. Le importanti variazioni dell'Indice Epato-somatico durante le fasi ovarica e uterina in *E. spinax*, dipendono dalla richiesta di vitellogenina durante la maturazione dei follicoli ovarici, legata alla deposizione dei lipidi che vengono utilizzati nello sviluppo degli embrioni. Alti valori di IES durante la fase ovarica permettono alla specie di investire la maggior parte dell'energia principalmente in questo periodo aumentandone il potenziale riproduttivo. Diversamente da *E. spinax*, in *S. blainville*, caratterizzato da un'attività riproduttiva continua in cui gli oociti continuano a svilupparsi ed accrescersi anche durante la gestazione, l'attività epatica sembra rimanere piuttosto elevata e costante anche durante la

gravidanza per garantire la produzione di tuorlo durante il ciclo riproduttivo investendo la maggior parte dell'energia sulla riproduzione.

La determinazione della durata del periodo riproduttivo risulta alla base per una corretta gestione di una risorsa. In accordo con Wourms (1977), i Condroitti possono possedere tre tipi basilari di ciclo riproduttivo: 1) riproduzione durante un particolare periodo dell'anno; 2) un ciclo annuale con uno o due picchi; 3) un ciclo annuale o biennale ben definito. Tra le specie ovipare studiate, *D. oxyrinchus* e *G. melastomus* hanno mostrato un periodo riproduttivo esteso con uno e due picchi rispettivamente durante l'anno. Un ciclo riproduttivo limitato ad periodo ben definito, invece, ha caratterizzato le due razze costiere. Relativamente alle specie vivipare, che mostrano un ciclo riproduttivo che consta di due periodi differenti (vitellogenesi e gestazione), esse hanno presentato una gestazione piuttosto estesa che va da 1.5 a tre anni circa. Risulta quindi evidente come la cattura cospicua di queste specie, preferenzialmente di sesso femminile, durante il periodo di riproduzione, considerando anche le loro taglie di prima maturità tardive, porterebbe ad un lento declino di queste popolazioni.

Un ciclo riproduttivo piuttosto esteso nei due squaliformi vivipari è stato ulteriormente confermato dall'analisi della micro-architettura della ghiandola oviducale, attraverso la quale è stato osservato per la prima volta un 'long-term storage' ossia una conservazione a lungo termine dello sperma (di circa due anni) in particolari compartimenti chiamati Sperm Storage Tubules (SST). Tale osservazione porterebbe ad ipotizzare una strategia riproduttiva che li avvantaggerebbe nella sopravvivenza negli ambienti profondi, dove le probabilità di accoppiamento sono piuttosto scarse aumentando così la fitness riproduttiva.

Il periodo riproduttivo limitato riscontrato in *R. miraletus*, invece è stato convalidato da uno 'short-term storage' degli spermatozoi nella ghiandola oviducale, ossia una conservazione piuttosto rapida degli stessi da "utilizzare" limitatamente ai mesi di riproduzione. Al contrario, la razza monaca che mostra un ciclo riproduttivo annuale, sembra conservare gli spermatozoi (rinvenuti nei recessi più profondi della ghiandola) per periodi di tempo più lunghi (in termini di mesi).

L'eccessivo sfruttamento di una specie può portare a dei cambiamenti densità-dipendenti (Fahy, 1989) e, in alcune popolazioni di Condroitti, la risposta all'eccessivo sforzo di pesca potrebbe venir compensata dalla riduzione delle taglie medie di maturità (Ellis e Keable, 2008). Considerando questi aspetti, l'individuazione delle specifiche aree di concentrazione degli spawners e l'analisi dei trend temporali sulle loro taglie medie, ha messo in evidenza come la costa occidentale della Sardegna sia quella con una più alta concentrazione di riproduttori e che, per specie come *R. miraletus* e *G. melastomus* le taglie medie dei maturi

stiano temporalmente subendo un calo, spesso anche oltre la L_{50} . Per questo motivo sono state proposte delle zone specifiche sulle quali pensare di proporre misure di tutela e vengono indicate delle taglie minime di cattura *ad hoc* per ogni specie.

Infine, la realizzazione di una tavola dicotomica ottenuta attraverso un'analisi morfologia e morfometrica delle capsule ovigere delle principali specie di Rajidae ha rappresentato un importante step per poter acquisire in futuro informazioni sulla distribuzione spaziale e temporale delle capsule rinvenute spiaggiate o durante le attività di pesca e sulle eventuali aree di nursery in Mediterraneo.

Concludendo, il quadro generale dello status riproduttivo delle sei specie indagate nelle acque sarde, espresso finora, rappresenta un primo gradino per poter improntare delle misure gestionali a livello isolano e successivamente mediterraneo. Ci si auspica che queste informazioni possano essere prese in considerazione e utilizzate per la realizzazione di politiche di gestione adeguate da parte degli organi competenti. Inoltre, nel prossimo futuro, ci si impegna a migliorare i monitoraggi, grazie alla realizzazione di campionamenti mirati, protratti nel tempo. Infine ci si propone di estendere la ricerca anche alle altre specie di Condritti presenti nei mari di Sardegna per avere un quadro della situazione più completo, in modo da poter salvaguardare questi importanti predatori, senza i quali gli ecosistemi marini sarebbero destinati a collassare.

BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Aziz S.H., Ezzat A. e Hussein M.O. 1987.** Sexuality, reproduction and fecundity of *Raja miraletus* (L) from the Mediterranean waters off Alexandria. *Bulletin of the National Institute of Oceanography and Fisheries*, 13(1):119–132.
- Abdel-Aziz S.H., Khalil A.N. e Abdel-Maguid S.A. 1993.** Reproductive cycle of the common guitarfish, *Rhinobatos rhinobatos* (Linnaeus, 1758), in Alexandria waters, Mediterranean Sea. *Australian Journal and Marine Freshwater Research* 44: 507–517.
- Anderson E.D. 1990.** Fishery models as applied to elasmobranch fisheries. In H.L. Pratt, Jr., S.H. Gruber & T. Taniuchi (eds). *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries*. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report NMFS 90. pp. 473–484.
- Anderson S.C., Flemming J.M., Watson R., Lotze H.K. 2011b.** Serial exploitation of global sea cucumber fisheries. *Fish and Fisheries* 12: 317–339.
- Aranha A., Menezes G., Pinho M.R. 2009.** Biological aspects of the velvet belly, *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) off the Azores, North East Atlantic. *Marine Biology Research*, 5: 257–267.
- Baino R., Serena F., Ragonese S., Rey J. e Rinelli P. 2001.** Catch composition and abundance of Elasmobranchs based on the MEDITS program. *Rapp. Comm. int. Mer Médit* 36: 234 pp.
- Barone M., De Ranieri S., Fabiani O., Pirone A., Serena F. 2007.** Gametogenesis and maturity scale of *Raja asterias* Delaroché, 1809 (Chondrichthyes, Rajidae) from the South Ligurian Sea. *Hydrobiologia*, 580: 245–254.
- Bass A.J., D'Aubrey J.D. e Kistnasamy N. 1973.** Sharks of the east coast of southern Africa. I. The genus *Carcharhinus* (Carcharhinidae). Oceanographic Research Institute (Durban). Investigational Report n° 33. 168 pp.
- Bauchot M.L. 1987.** Raies et autres batoidés. In: Fisher M., Schneider M. and Bauchot M.L. (eds) *Fishes FAO Identification des Espèces pour les Besoins de la Pêche. Méditerranée et Mer Noire. Zone de Pêche 37. Révision 1. II* FAO, Rome. pp: 847–885.
- Bello G. 1997.** Cephalopods from the stomach contents of demersal chondrichthyans caught in the Adriatic Sea. *Vie et Milieu. Serie A Biologie Marine*, 47: 221–227.
- Belluscio A., Scacco U., Carpentieri P., Colloca F., Ardizzone G.D. 2000.** Strategie alimentari di due specie di selaci di acque profonde *Galeus melastomus*, Rafinesque 1810 e *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758), nel mar Tirreno centrale. *Biologia Marina Mediterranea*, 7: 417–426.
- Bertrand J.A., Gil de Sola L., Papaconstantinou C., Relini G., Souplet A. 2000.** An international bottom trawl survey in the Mediterranean: the Medits programme. In: Proceedings of the symposium “Demersal resources in the Mediterranean”, Pisa, 18-21 March 1998. Ifremer, Plouzané. Actes de Colloques 26. p. 76- 93.
- Bonfil R. 1994.** Overview of world elasmobranch fisheries. FAO Fisheries Technical Paper n° 341. Rome. 119 pp.
- Bonfil R. 1999.** The dogfish (*Squalus acanthias*) fishery of British Columbia, Canada and its management. In R. Shotton (ed.). *Case studies of the management of elasmobranch fisheries*. FAO Fisheries Technical Paper n°. 378. Rome. pp. 608–655.
- Bor P. 2002.** Egg-capsules of sharks and skates. World Wide Web Electronic Publication. <http://www.rajidae.tmfweb.nl/rotable.html>. Brito, A., 1991. Catalogo de los peces de las Islas Canarias. Francisco Lemus, la Laguna. 230 pp.
- Bradai M.N., Saidi B., Enajjar S. 2012.** Elasmobranchs of the Mediterranean and Black sea: status, ecology and biology. Bibliographic analysis. Studies and reviews. General Fisheries Commission For the Mediterranean. N° 91. Rome FAO, 103 pp.

- Braccini J. M. e Chiaramonte G. E. 2002.** Reproductive Biology of *Psammobatis extenta*. *Journal of Fish Biology* 61: 272–288.
- Brito Hernández A. 1991.** Catálogo de los peces de las Islas Canarias.
- Brito A., Pascual P.J., Falcón J.M., Sancho A., Gonzáles G. 2002.** Peces de las islas Canarias: catálogo comentado e ilustrado. Francisco Lemus Editor, Tenerife, 419 pp.
- Cabiddu S., Atzori G., Mereu M. e Palmas F. 2013.** Egg-cases of *Galeus melastomus* (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) in Sardinian waters. In: Rapport du 40e Congrès de la CIESM, 40th Ciesm Congress Proceedings, Marseille (France): p. 500.
- Caddy J. F. e Mahon R. 1995.** Reference points for fishery management. FAO Fisheries Technical Paper 347. 82 pp.
- Callard G.V. 1991.** Spermatogenesis. In: Pang P.e Schreibman M. (ed.). *Vertebrate Endocrinology: Fundamentals and Biomedical Implications*, Vol. 4, Part A, Academic Press, San Diego. pp. 303–341.
- Camhi M., Fowler S., Musick J., Bräutigam A. e Fordham S. 1998.** Sharks and their relatives: Ecology and Conservation. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission Occasional Paper n° 20.
- Cannizaro L., Rizzo P., Levi D. e Gancitano S. 1995.** Age determination and growth of *Squalus blainvillei* (Risso, 1826). *Fisheries Research*, 23: 113–125.
- Capapé C Quignard J.P. 1974.** Contribution à la biologie des Rajidæ des côtes tunisiennes. I. *Raja miraletus* Linné 1758: Répartition géographique et bathymétrique, sexualité, reproduction, fécondité. *Arch. Inst. Pasteur Tunis* 51: 39–60.
- Capapé C., e Quignard J.P. 1975.** Essai d'évaluation de la fecondite chez les selaciens ovipares. Cas de *Raja miraletus* Linné 1758 et de *Raja radula* Delaroché 1809 des cotes tunisiennes. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 52(3): 263–276.
- Capapé C. 1976.** Contribution à la biologie des Rajidæ des côtes tunisiennes. III. *Raja clavata* Linné, 1758. Répartition géographique et bathymétrique, sexualité, reproduction et fécondité. Bulletin of the Museum of Natural History, Paris, 3ème Série, n° 393. *Zoology* 75: 907–922.
- Capapé C. 1977.** Contribution à la biologie des Scyliorhinidae des côtes tunisiennes. I. *Scyliorhinus canicula* (Linne', 1758): Répartition géographique et bathymétrique, sexualité, reproduction, fécondité. *Bulletin Office National Pêche Tunisie* 1(1): 83–101.
- Capapé C., Quignard J.P. e Mellinger J. 1990.** Reproduction and development of two angel sharks, *Squatina squatina* and *S. oculata* (Pisces: Squatinidae), off Tunisian coasts: semi-delayed vitellogenesis, lack of egg capsules, and lecithotrophy. *Journal of Fish Biology* 37: 347–356.
- Capapé C., Bradai M.N., Seck A.A., Diatta Y., Tomasini J.A. et al., 2001.** Aspects of the reproductive biology of the velvet belly, *Etmopterus spinax* (Elasmobranchii: Squalidae). Bulletin de l'Institut des Sciences et Technologies de la Mer de Salammbô, 28, 55–64.
- Capapé C., Guélorget O., Vergne Y., Marques A. e Quignard J.P. 2006.** Skates and rays (Chondrichthyes) from waters off the Languedocian coast (southern France, northern Mediterranean): a historical survey and present status. In Annales. Analizaistrske in mediteranske studije. *Series historia naturalis* 16(2): 165–178.
- Capape C., Diatta Y., Seck A.A., e Guelorget O. 2007a.** Aspects of the reproductive biology of the brown ray *Raja miraletus* (Chondrichthyes: Rajidae) from the coast of Senegal (Eastern Tropical Atlantic). *Cahiers de biologie marine*, 48(2): 169–178.
- Capapé C., Guélorget O., Siau Y., Vergne Y. e Quignard J. P. 2007b.** Reproductive biology of the thornback ray *Raja clavata* L., 1758, (Chondrichthyes: Rajidae) from the coast of Languedoc (Southern France, Northern Mediterranean). *Vie Milieu*, 57(1-2): 83–90.

- Capapé C., Diatta Y., Ndiaye P., Reynaud C., e Oddone, M.C. 2010.** New biological data on the brown ray, *Raja miraletus* (Chondrichthyes: Rajidae), off the coast of Senegal (eastern tropical Atlantic). *Ciencias Marinas*, 36(3): 301–309.
- Carrassón M., Stefanescu C. e Cartes J.E. 1992.** Diets and bathymetric distributions of two bathyal sharks of the Catalan deep sea (western Mediterranean). *Marine Ecology Progress Series* 82 (1): 21–30.
- Casey J.M. e Myers R.A. 1998.** Near extinction of a large, widely distributed fish. *Science* 281:690–692.
- Castro J.I., Ubucis P.M. e Overstrom N.A. 1988.** The reproductive biology of the chain dogfish, *Scyliorhinus retifer*. *Copeia* 1988: 740–746.
- Castro J.I. 1993.** The biology of the finetooth shark, *Carcharhinus isodon*. *Environmental Biology of Fishes* 36: 219–232.
- Catalano B., Dalù M., Scacco U. e Vacchi M. 2007.** New biological data on *Raja brachyura* (Chondrichthyes, Rajidae) from around Asinara Island (NW Sardinia, Western Mediterranean). *Italian Journal of Zoology* 74(1): 55–61.
- Catchpole T. L., Enever R. e Doran S. 2007.** Programme 21: Bristol Channel Ray Survival. Lowestoft, UK: CEFAS.
- Cavanagh R. D. e Gibson C. 2007.** Overview of the conservation status of cartilaginous Fishes (Chondrichthyans) in the Mediterranean Sea. IUCN, Gland (Switzerland) and Malaga (Spain). 42 pp.
- Cecchi E., Mancusi C., Pajetta R., Serena F. 2004.** Contributo alla conoscenza della biologia di *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) (Chondrichthyes, Etmopteridae). *Biologia Marina Mediterranea*, 11 (2): 564–568.
- Cerri P.S. e Sasso-Cerri E. 2003.** Staining methods applied to glycol methacrylate embedded tissue sections. *Micron* 34(8): 365–372.
- Chen C.T., Leu T.C. e Joung S.J. 1988.** Notes on reproduction in the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, in Northeastern Taiwan waters. *Fisheries Bulletin* 86: 389–393.
- Chen C.T., Liao Y.Y. e Joung S.J. 1996.** Reproduction of the blacktip sawtail catshark, *Galeus sauteri*, in the waters off northeastern Taiwan. *Ichthyology Research* 43: 231–237.
- Clark R.S. 1922.** Rays and Skates, Part 1. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 12: 577–643.
- Clark E. e Von Schmidt K. 1965.** Sharks of the central gulf coast of Florida. *Bulletin of Marine Science* 15: 13–83.
- Clarke M.W., Connolly P.L., Bracken J.J. 2001.** Aspects of reproduction of the deep-water sharks *Centroscyrmnus coelolepis* and *Centrophorus squamosus* from west of Ireland and Scotland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 81: 1019–1029.
- Clarke M.W., Connolly P.L. e Bracken J.J. 2002.** Catch, discarding, age estimation and maturity of the squalid shark *Deania calceus* west and north of Ireland. *Fisheries Research* 56: 139–153.
- Clarke K.R. e Gorley R.N. 2006.** *PRIMERv6*: User manual/tutorial, PRIMER-E, Plymouth UK, 192pp.
- Coates M.I. e Sequeira S.E.K. 2001.** Early sharks and primitive gnathostome relationship. In: Ahlberg P.E. (Ed.), *Major events in early vertebrate evolution*. Taylor & Francis, London, New York. Spec. Vol. Ser., 61. Pp. 241–262.
- Coelho R., Erzini K. 2005.** Length at first maturity of two species of lantern sharks (*Etmopterus spinax* and *Etmopterus pusillus*) of southern Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85: 1163–1165.

- Coelho R., Erzini K. 2008.** Life history of a wide-ranging deepwater lantern shark in the north-east Atlantic, *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae), with implications for conservation. *Journal of Fish Biology*, 73 (6): 1419–1443.
- Coelho R., Blasdale T., Mancusi C., Serena F., Guallart J. et al., 2009.** *Etmopterus spinax*. In: IUCN 2013. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <<http://www.iucnredlist.org/details/161388/0>>. (Accessed 24 September 2013).
- Coelho R., Rey J., Gil De Sola L., Fernandez De Carvalho J., Erzini K. 2010.** Comparing Atlantic and Mediterranean populations of the velvet belly lantern shark, *Etmopterus spinax*, with comments on the efficiency of density-dependent compensatory mechanisms. *Marine Biology Research*, 6: 373–380.
- Compagno L.J.V. 1984.** Sharks of the World: An Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Food and Agricultural Organization. pp. 312
- Compagno L.J.V. 1988.** *Sharks of the Order Carcharhiniformes*. Princeton University Press, Princeton. 486 pp.
- Compagno L.J.V., Ebert D.A. e Smale M.J. 1989.** Guide to the sharks and rays of southern Africa. New Holland (Publ.) Ltd., London. 158 pp.
- Compagno L.J.V. 1990.** Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environmental Biology of Fishes* 28: 33–75.
- Compagno L.J.V. 2001.** *Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date*. Vol. 2. Bullhead, mackerel and carpet sharks (Heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes). FAO Species Catalogue for Fishery Purposes N° 1. Rome. 269 pp.
- Compagno L.J.V., Didier D.A. e Burgess G.H. 2005.** Classification of Chondrichthyan fishes. In: Fowler *et al.*, (Eds.) (IUCN/SSC Shark Specialist Group: Gland, 2005). *Sharks, Rays and Chimaeras: the status of the Chondrichthyan fishes*. pp. 4–11.
- Concha F., Hernandez S. e Oddone M.C. 2012.** Egg capsules of the raspthorn sand skate, *Psammobatis scobina* (Philippi, 1857) (Rajiformes, Rajidae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 44: 253–256.
- Conrath C.L. e Musick J.A. 2002.** Reproductive biology of the dusky smooth-hound, *Mustelus canis*, in the northwest Atlantic Ocean. *Environmental Biology of Fishes* 64: 367–377.
- Conrath C.L. 2005.** Reproductive biology. In: Musick J.A. e Bonfil R. (eds.), *Management Techniques for Elasmobranchs Fisheries*, FAO Fisheries Technical Paper 474, pp. 103–127.
- Cortés E. 2000.** Life History Patterns and Correlations in Sharks. *Reviews in Fisheries Science* 8(4):299–344.
- Cortés E. 2002.** Incorporating uncertainty into demographic modelling: application to shark populations and their conservation. *Conservation Biology* 18:1048–106.
- Costa F. 1991.** Atlante dei pesci dei mari italiani. Gruppo Ugo Mursia Editore S.p.A., Milano, Italy. 438 p.
- Costa M.E., Erzini K. e Borges T.C. 2005.** Reproductive biology of the blackmouth catshark, *Galeus melastomus* (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) off the south coast of Portugal. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 85: 1173–1183.
- Díaz-Andrade M.C., Galindez E.J., Estecondo S. 2009.** The ovary of the bignose fanskate *Sympterygia acuta* Garman, 1877 (Chondrichthyes, Rajidae) in the Bahía Blanca estuary, Argentina: morphology and reproductive features. *Brazilian Journal of Biology*, 69 (2): 405–413.
- Díaz-Soltera H. 1999.** Endangered and threatened species; revision of candidate species list under the Endangered Species Act. *Federal Register* 64 (120): 33166–33467.
- Didier D.A. 2004.** Phylogeny and classification of extant Holocephali. In: *Biology of Sharks and their Relatives*, Carrier J.C., Musick J.A., Heithaus M.R., Eds. (CRC Press, Boca Raton, 2004), pp. 115–138.

- Di Natale A. 1995.** Survey of red Shrimp fishing in the Western Italian Basins. Project MED92/005, 404 p. Final Report EU, DG XIV, (1).
- Dorel D. 1986.** Poissons de l'Atlantique nord-est relations taille-poids, (In French.). Ifremer: Nantes. pp. 165.
- Dudley S.F.J., Simpfendorfer C.A. 2006.** Population status of 14 shark species caught in the protective gillnets off KwaZulu-Natal beaches, South Africa, 1978-2003. *Marine and Freshwater Research* 57: 225–240.
- Dulvy N.K., Reynolds J.D., Metcalfe J.D. e Glanville J. 2000.** Fisheries stability, local extinctions and shifts in community structure in skates. *Conservation Biology* 14:1–11.
- Dulvy N.K. e Reynolds J.D. 2002.** Predicting extinction vulnerability in skates. *Conservation Biology* 16: 440–450.
- Dulvy N.K., Forrest R.E. 2010.** Life histories, population dynamics, and extinction risks in chondrichthyans. In: Carrier J.C., Musick J.A., Heithaus M.R., editors. *Sharks and their relatives II: biodiversity, adaptive physiology, and conservation*. Boca Raton: CRC Press. p. 635–676.
- Dulvy N.K., Fowler S.L., Musick J.A., Cavanagh R.D., Kyne P.M., Harrison L.R., Carlson J.K., Davidson L.N.K., Fordham S.V., Francis M.P., Pollock C.M., Simpfendorfer C.A., Burgess G.H., Carpenter K.E., Compagno L.J.V., Ebert D.A., Gibson C., Heupel M.R., Livingstone S.R., Sanciangco J.C., Stevens J.D., Valenti S., White W.T. 2014.** Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife*, 3: e00590.
- Ebert D.A. 2005.** Reproductive biology of skates, *Bathyraja* (Ishiyama), along the eastern Bering Sea continental slope. *Journal of Fish Biology*, 66(3): 618–649.
- Ebert D.A. e Compagno L.J.V. 2007.** Biodiversity and systematics of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). *Environmental Biology of Fishes*, 80 (2-3): 111–124.
- Ebert D.A., Compagno L.J.V. e Cowley P.D. 2007.** Aspects of the reproductive biology of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei) from southern Africa. *ICES Journal of Marine Science*, 65: 81–102.
- Ebert D.A. e Davis C.D. 2007.** Description of skate egg cases (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei) from the eastern North Pacific. *Zootaxa* 1393: 1–18.
- Ebert D.A., Smith W.D. e Cailliet G.M. 2008.** Reproductive biology of two commercially exploited skates, *Raja binoculata* and *R. rhina*, in the western Gulf of Alaska. *Fisheries Research* 94:48–57.
- Ebert D.A., Serena F. e Mancusi C. 2009.** *Squalus blainville*. In: IUCN 2013. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 3.1. <<http://www.iucnredlist.org/details/161388/0>>.
- Ellis J.R. e Shackley S.E. 1995.** Observations on egg-laying in the thornback ray. *Journal of Fish Biology* 46: 903–904.
- Ellis J.R., Cruz-Martínez A., Rackham B.D. e Rogers S.I. 2005.** The Distribution of Chondrichthyan Fishes around the British Isles and Implications for Conservation. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35: 195–213.
- Ellis J.R. e Keable J. 2008.** Fecundity of Northeast Atlantic spurdog (*Squalus acanthias*). *ICES Journal of Marine Science*, 65: 979–981.
- Ellis J., Ungaro N., Serena F., Dulvy N. K., Tint, F., Bertozzi M., Pasolini P., Mancusi C. e Notarbartolo di Sciarra G. 2009.** *Raja brachyura*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.2. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 13 December 2013.
- Fahy E. 1991.** The south eastern ray *Raja* spp. fishery, with observations on the growth of rays in Irish waters and their commercial grading. *Irish Fisheries Investigation Series B: Marine*. Dublin Ireland: The Stationery Office. pp. 3-18.

- Fahy E. 1989.** The Value of Alterations in Fecundity to an Exploited Shark Population, Illustrated by *Squalus acanthias* (L.). ICES Document CM 1989/Mini: 2. 10 pp.
- Fanelli E., Rey J., Torres P. e Gil de Sola L. 2009.** Feeding habits of blackmouth catshark *Galeus melastomus* Rafinesque, 1810 and velvet belly lantern shark *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758) in the western Mediterranean. *Journal of Applied Ichthyology* 25 (1): 83–93.
- FAO. 2000.** Fisheries Management: 1. Conservation and Management of Sharks. *FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries 4* (Supplement 1). 37 pp.
- Farias I., Figueiredo I., Serra-Pereira B., Bordalo-Machado P., Moura T. e Serrano Gordo L. 2005.** Diet comparison of four ray species *Raja clavata* Linnaeus, 1758; *Raja brachyura* Lafont, 1873; *Leucoraja naevus* (Müller & Henle, 1841) and *Raja montagui* Fowler, 1910 caught along the Portuguese continental coast. *Elasmobranch Fisheries Science* ICES CM 2005/n°28.
- Farrell E.D., O’Sullivan N., Sacchi C., Mariani S. 2014.** Multiple paternity in the starry smooth-hound shark *Mustelus asterias* (Carcharhiniformes: Triakidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 111:119–125.
- Ferretti F., Worm B., Britten G.L., Heithaus M.R., Lotze H.K. 2010.** Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters* 13: 1055–1071.
- Figueiredo I., Moura T., Bordalo-Machado P., Neves A., Rosa C. e Serrano-Gordo L. 2007.** Evidence for temporal changes in ray and skate populations in the Portuguese coast (1998–2003) and implications in the ecosystem. *Aquatic Living Resources*, 20(1): 85–93.
- Fishelson L. e Baranes A. 1998.** Observations on the Oman Shark, *Iago omanensis* (Triakidae), with emphasis on the morphological and cytological changes of the oviduct and yolk sac during gestation. *Journal of Morphology* 236:151–165.
- Fiorentino F., Gancitano V., Vitale S. 2011.** On the abundance of the Maltese skate in the GSA 16. Report of the Workshop on Stock Assessment of selected species of Elasmobranchs in the GFCM area, General Fisheries Commission for the Mediterranean. Scientific Advisory Committee (SAC) DG-Mare, Brussels, Belgium, 12-16 December 2011.
- Follesa M.C., Addis P., Murenu M., Saba R. e Sabatini A. 2003.** Annotated checklist of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Sardinian seas. *Biologia Marina Mediterranea* 10: 828–833.
- Follesa M.C., Mulas A., Cabiddu S., Porcu C., Deiana A.M. e Cau A. 2010.** Diet and feeding habits of two skate species, *Raja brachyura* and *Raja miraletus* (Chondrichthyes, Rajidae) in Sardinian waters (central-western Mediterranean). *Italian Journal of Zoology*, 77(1): 53–60.
- Follesa M.C., Cannas R., Cabiddu S., Cau Al., Mulas A., Porcu C., Cau A. 2012a.** Preliminary observations of the reproductive biology and diet for the Norwegian skate *Dipturus nidarosiensis* (Rajidae) from the Central Western Mediterranean Sea. *Cybium* 36(3): 473–477.
- Follesa M.C., Marongiu M.F., Cannas R., Porcu C., Cau A. 2012b.** Validation of oviparous and viviparous ICES maturity scales through histological analysis. In: ICES WKMSSEL REPORT 2012 - Report of the workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs (WKMSSEL), 11-14 December 2012, Lisbon, Portugal. ICES CM 2010/ACOM: 59. p. 7.
- Follesa M.C., Cau A., Cannas R., Mulas A., Pesci P., Porcu C. e Sabatini A. 2013.** Status and trends of demersal elasmobranchs in Sardinian seas (Central Western Mediterranean). In: Rapport du 40^e Congres de la CIESM, 40th Ciesm Congress Proceedings, Marseille (France): P. 490
- Francis M.P. e Mace J.T. 1980.** Reproductive biology of *Mustelus lenticulatus* from Kaikoura and Nelson. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 14:303–311.
- Francis M.P. e Stevens J.D. 1999.** Reproduction, embryonic development, and growth of the porbeagle shark, *Lamna nasus*, in the southwest Pacific Ocean. *Fishery Bulletin* 98:41–63.

- Froese R., Rainer S. e Pauly D. 2010.** "*Galeus melastomus*" in FishBase. October 2010 version.
- Froese R. e Pauly D. 2011.** FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, (08/2013).
- Gaichas S., Ruocco M., Stevenson D. e Swanson R. 2003.** Stock assessment and fishery evaluation of skate species (Rajidae) in the Gulf of Alaska. In: *Stock Assessment and Fishery Evaluation Report For The Groundfish Resources of the Gulf of Alaska* for 2004. North Pacific Fishery Management Council, 605W, 4th Avenue, Suite 306, Anchorage, AK 99501.
- Galíndez E.J. e Estecondo S. 2008.** Histological remarks of the oviduct and the oviducal gland of *Sympterygia acuta* Garman, 1877. *Brazilian Journal of Biology*, 68(2): 359–365.
- Galíndez E.J., Díaz-Andrade M.C., Avaca M.S., Estecondo S. 2010.** Morphological study of the oviducal gland in the smallnose fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). *Revista Brasileira de Biologia* 70(2): 325–333.
- Gallagher M. J., Nolan C. P. e Jeal F. 2005.** Age, growth and maturity of the commercial ray species from the Irish Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fisheries Science* 35: 47–66.
- Gennari E., Scacco U. 2007.** First age and growth estimates in the deep water shark, *Etmopterus spinax* (Linnaeus, 1758), by deep coned vertebral analysis. *Marine Biology*, 152: 1207–1214.
- Gibson C., Valenti S.V., Fowler S.L. e Fordham S.V. 2006.** The Conservation Status of Northeast Atlantic Chondrichthyans; Report of the IUCN Shark Specialist Group Northeast Atlantic Regional Red List Workshop, VIII. IUCN SSC Shark Specialist Group. pp. 76.
- Gilbert P.W. e Heath G.W. 1972.** The clasper-siphon sac mechanism in *Squalus acanthias* and *Mustelus canis*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 42A: 97–119.
- Gilmore R.G. 1993.** Reproductive biology of lamnoid sharks. *Environmental Biology of Fishes* 38:95–114.
- Gilmore R.G., Dodrill J.W. e Linley P.A. 1983.** Reproduction and embryonic development of the sand tiger shark, *Odontaspis taurus* (Rafinesque). *Fishery Bulletin* 81:201–225.
- Girard M., Du Buit M.H. 1999.** Reproductive biology of two deep-water sharks from the British Isles, *Centroscymnus coelolepis* and *Centrophorus squamosus*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79: 923–931.
- Grogan E.D. e Lund R. 2004.** The origin and relationships of early Chondrichthyes. In: Carrier J.C., Musick J.A. and Heithaus M.R. (eds.). *Biology of sharks and their relatives*. CRC Press, Boca Raton. pp. 3–32.
- Hamlett W.C., Wourms J.P. e Hudson J.S. 1985.** Ultrastructure of the full term shark yolk sac placenta. I. Morphology and cellular transport at the fetal attachment site. *Journal of Ultrastructure Research* 91: 192–206.
- Hamlett W.C. 1997.** Reproductive modes of elasmobranchs. Shark News 9. Internet access: <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/Organizations/SSG/9Newsletter/shark9news1.htm>.
- Hamlett W.C., Knight D.P., Koob T.J., Jezior M., Luong T., Rozycki T., Brunet, N. e Hysell M.K. 1998.** Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs. *Journal of Experimental Zoology* 282: 399–420.
- Hamlett W.C. 1999.** Male reproductive system. In Hamlett W.C. (ed.). *Sharks, skates, and rays: the Biology of Elasmobranch Fishes*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. pp. 444–470.
- Hamlett W.C. e Koob T.J. 1999.** Female reproductive system. In Hamlett W.C. (ed.). *Sharks, skates, and rays: the Biology of Elasmobranch Fishes*. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. pp. 398–433.
- Hamlett W.C., Musick J.A., Hysell C.K. e Sever D.M. 2002.** Uterine sperm interaction, endometrial cycle and sperm storage in the terminal zone of the oviducal gland in the placental smooth hound *Mustelus canis*. *Journal of Experimental Zoologist* 292(2):129–144.

- Hamlett W.C., Knight D.P., Pereira F.T.V., Steel J., Sever D.M. 2005a.** Oviducal glands in Chondrichthyans. In: Hamlett WC (ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes*. Science Publishers Inc., Enfield, New Hampshire, pp. 301–336.
- Hamlett W.C., Kormarik C.G., Storrie M., Serevy B., Walker T.I. 2005b.** Chondrichthyan parity, lecithotrophy and matrotrophy. In: Hamlett WC (ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes*. Science Publishers Inc., Enfield, New Hampshire, pp. 395–434.
- Hanchet S.1988.** Reproductive biology of *Squalus acanthias* from the east coast, South Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 22:537–549.
- Heinicke M.P., Naylor G.J.P., Hedges, S.B. 2009.** Cartilaginous fishes (Chondrichthyes). In: Hedges S.B., Kumar, S. (eds.). *The Timetree of life*. pp. 320–327.
- Hemida F., Sergouas W. e Seridji, R. 2007.** Analyse des données morphométriques de quelques espèces du genre *Raja* Linnaeus, 1758, dans le bassin algérien. *Rapp. Comm. Int. Explor. Sci. Mer Médit*, 38, 497 p.
- Hoenig J.M. e Gruber S.H. 1990.** Life-History Patterns in the Elasmobranchs: Implications for Fisheries Management. In: Pratt H.L., Gruber S.H., Taniuchi, T., (eds). *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries*: NOAA Technical Report NMFS, 90: 1–16.
- Hoff T.B. e Musick J.A.1990.** Western North Atlantic shark-fishery management problems and informational requirements. In H.L. Pratt, Jr., S.H. Gruber e T. Taniuchi (eds). *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries*. U.S. Department of Commerce, NOAA Technical Report NMFS 90. pp. 455–472.
- Holden M.J. 1968.** The rational exploitation of the Scottish-Norwegian stocks of spurdogs (*Squalus acanthias* L.). *Fishery Investigations. Series II*, 25(8):28.
- Holden M.J. 1975.** The fecundity of *Raja clavata* in British waters. *Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*36: 110–118.
- Holden M. J. 1972.** The Growth Rates of *Raja brachyura*, *R. clavata* and *R. montagui* as determined from tagging data. *ICES Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* 34:161–168.
- Holden M. J. e Tucker R. N. 1974.** The food of *Raja clavata* Linnaeus 1758, *Raja montagui* Fowler 1910, *Raja naevus* Müller and Henle 1841 and *Raja brachyura* Lafont 1873 in British waters. *Journal du Conseil International pour l'Exploration de la Mer* 35: 189–193.
- Hutchings J.A. 2000.** Collapse and recovery of marine fishes. *Nature* 406: 882–885.
- ICES, 2010.** Report of the Workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs (WKMSSEL), 11-15 October 2010, Sliema, Malta. ICES CM 2010/ACOM: 35, 133 pp.
- ICES, 2012.** Report of the Workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs (WKMSSEL), 11-14 December 2012, Lisbon, Portugal. ICES CM 2010/ACOM: 59, 109 pp.
- Inoue J., Miya M., Lam K., Tay B.H., Danks J.A., Bell J., Walker T.I. e Venkatesh B. 2010.** Evolutionary Origin and Phylogeny of the Modern Holocephalans (Chondrichthyes: Chimaeriformes): a mitogenomic perspective. *Molecular Biology Evolution* 11: 2576-2586.
- Irvine S.B., Stevens J.D., Laurenson L.J.B. 2006.** Comparing external and internal dorsal-spine bands to interpret the age and growth of the giant lantern shark, *Etmopterus baxteri* (Squaliformes: Etmopteridae). *Environmental Biology of Fishes*, 77: 253–264.
- IUCN Species Survival Commission's Shark Specialist Group & TRAFFIC. 2002a.** CITES Animals Committee Document (AC 18 Doc 19.2).
<http://www.cites.org/eng/cttee/animals/18/agenda.shtml>

IUCN Species Survival Commission's Shark Specialist Group & TRAFFIC. 2002b. The Role of CITES in the Conservation and Management of Sharks. <http://www.cites.org/common/notifs/2002/ESFO42A.pdf>

IUCN Species Survival Commission's Shark Specialist Group. 2003. The threatened states of sharks and related species. <http://www.flmnh.ufl.edu/fish/organizations/SSG/SSGDefault.htm>

Jakobsdottir K.B. 2001. Biological aspects of two deep-water squalid sharks: *Cetnoscyllium fabricii* (Reinhardt, 1825) and *Etmopterus princeps* (Collett, 1904) in Icelandic waters. *Fisheries Research* 51: 247–265.

Jardas I. 1985. Check-list of the fishes (*sensu lato*) of the Adriatic Sea (Cyclostomata, Selachii, Osteichthyes) with respect to taxonomy and established number. *Biosystematics*, 11(1): 45–74.

Jensen C.F., Natanson L.J., Pratt H.L., Kohler N.E. e Campana S.E. 2002. The reproductive biology of the porbeagle shark (*Lamna nasus*) in the western North Atlantic Ocean. *Fisheries Bulletin* 100: 727–738.

Jones B.C. e Geen G.H. 1977. Reproduction and embryonic development of spiny dogfish (*Squalus acanthias*) in the Strait of Georgia, British Columbia. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 34: 1286–1292.

Jones E.G., Tselepides E., Bagley P.M., Collins M.A. e Priede I.G. 2003. Bathymetric distribution of some benthic and benthopelagic species attracted to baited cameras and traps in the deep eastern Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series* 251: 75–86.

Joung S.J., Chen C.T., Clark E., Uchinda S. e Huang W.Y.P. 1996. The whale shark, *Rhincodon typus*, is a livebearer: 300 embryos found in one 'megamamma' supreme. *Environmental Biology of Fishes* 46: 219–223.

Jukić-Peladić S., Vrgoč N., Krstulović-Šifner S., Piccinetti C., Manfrin-Piccinetti G. et al. 2000. Long-term changes in demersal resources of the Adriatic Sea. Comparison between trawl surveys carried out in 1948 and 1998. *Fisheries Research* 11: 1–10.

Kadri H., Marouani S., Saïdi B., Bradai M.N., Ghorbel M., Bouaïn A. e Morize E. 2012. Age, growth and reproduction of *Raja miraletus* (Linnaeus, 1758) (Chondrichthyes: Rajidae) of the Gulf of Gabès (Tunisia, Central Mediterranean Sea). *Marine Biology Research*, 8(4): 388–396.

Ketchen K.S. 1986. The spiny dogfish (*Squalus acanthias*) in the Northeast Pacific and a history of its utilization. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 88: 78 pp.

Knight D.P., Feng D., Stewart M., King E. 1993. Changes in macromolecular organization in collagen assemblies during secretion in the nidamental gland and formation of the egg capsule wall in the dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 341: 419–436.

Knight D.P., Feng D., Stewart M. 1996. Structure and function of the selachian egg case. *Biological Review* 71(1):81–111.

Koob T.J., Tsang P., Callard I.P. 1986. Plasma estradiol, testosterone and progesterone levels during the ovulatory cycle of the little skate, *Raja erinacea*. *Biology Reproduction* 35(2): 267–275.

Koob T.J., Cox D.L. 1990. Introduction and oxidation of catechols during the formation of the skate (*Raja erinacea*) egg capsule. *Journal of Marine Biology Association of U.K.*, 70: 395–411.

Koob T.J., Cox D.L. 1993. Stabilization and sclerotization of *Raja erinacea* egg capsule proteins. *Environmental Biology of Fishes*, 38: 151–157.

Koob T. e Hamlett W.C. 1998. Microscopic structure of the gravid uterus in *Raja erinacea*. *Journal of Experimental Zoologist* 282: 421–437.

Kousteni V. e Megalofonou P. 2011. Reproductive biology and embryonic development of *Squalus blainvillei* in the eastern Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 75 (2): 237–249.

- Kriwet J., Witzmann, F., Klug, S. e Heidtke, U.H.J. 2008.** First direct evidence of a vertebrate three-level trophic chain in the fossil record. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 275: 181–186.
- Ledoux J.C. 1970.** Affinités et origines du *Squalus blainvilliei* de Méditerranée. *Journal of Applied Ichthyology*: 65–69.
- Liu K.M., Chen C.T., Liao T.H. e Joung S.J. 1999.** Age, growth, and reproduction of the pelagic thresher shark, *Alopias pelagicus* in the Northwestern Pacific. *Copeia* 1999:68–74.
- Lo Bianco S. 1909.** Notizie biologiche riguardanti specialmente il periodo di maturità sessuale degli animali del Golfo di Napoli. *Mitteilungen aus dem Zoologischen* 19(4):513–761.
- Lotze H.K., Lenihan H.S., Bourque B.J., Bradbury R.H., Cooke R.G., Kay M.C., Kidwell S.M., Kirby M.X., Peterson C.H., Jackson J.B.C. 2006.** Depletion, degradation, and recovery potential of estuaries and coastal seas. *Science* 312: 1806–1809.
- Lucifora L.O., Menni R.C. e Escalante A.H. 2002.** Reproductive ecology and abundance of the sand tiger shark, *Carcharias taurus*, from the southwestern Atlantic. *ICES Journal of Marine Science* 59: 553–561.
- Mabragaña E., Lucifora L.O. e Massa A.M. 2002.** The reproductive ecology and abundance of *Sympterygia bonapartii* endemic to the south-west Atlantic. *Journal of Fish Biology* 60: 951–967.
- Mabragaña E. e Cousseau M.B. 2004.** Reproductive biology of two sympatric skates in the south-west Atlantic: *Psammobatis rudis* and *Psammobatis normani*. *Journal of Fish Biology* 65: 559–573.
- Machado P.B., Gordo L.S. e Figueiredo I. 2004.** Skate and ray species composition in mainland Portugal from the commercial landings. *Aquatic Living Resources*, 17(2):231–234.
- Macpherson E., Duarte C.M. 1991.** Bathymetric trends in demersal fish size: is there a general relationship? *Marine Ecology Progress Series*, 71: 103–112.
- Manire C.A., Rasmussen L.E.L., Hess D.L., Hueter R.E. 1995.** Serum steroid hormones and the reproductive cycle of the female bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*. *General and Comparative Endocrinology* 97, 366–376.
- Marano C.A., Manfrin-Piccinetti G., Pasolini P., Tinti F. e Ungaro N. 2003.** Annotated checklist of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Adriatic Sea. *Biologia Marina Mediterranea* 10(2): 856–862.
- Marongiu M.F., Bellodi A., Cau A., Mulas A., Porcu C., Follesa M.C. 2013a.** Reproductive biology of the blackmouth catshark *Galeus melastomus* Rafinesque, 1810, in Sardinian seas (central western Mediterranean). *Biologia Marina Mediterranea*, 20: 190-191.
- Marongiu M.F., Porcu C., Follesa M.C., Bellodi A., Cannas R., Mulas A., Cau A. 2013b.** On the development of the oviducal gland in the Rajid brown ray, *Raja miraletus* Linnaeus, 1758. In: 17th EEA Scientific Conference, Plymouth UK, 1-3 Novembre 2013. p. 77.
- Marongiu M.F., Porcu C., Cabiddu S., Mulas A., Follesa M.C. 2014.** Egg capsules description of the most common Rajid species living in Sardinian waters (Central-Western Mediterranean). In: 18th EEA Scientific Conference., Leeuwarden (The Netherlands), 7-9 Novembre 2014. p. 77.
- Maruska K.P., Cowie E.G. e Tricas T.C. 1996.** Periodic gonadal activity and protracted mating in elasmobranch fishes. *Journal of Experimental Zoology* 276: 219–232.
- Matallanas J. 1974.** Sobre la presencia de *Raja brachyura* Lafont (Rajiformes, Rajidae), en la Mar Catalana. *Boletín Sociedad Historia Natural Baleares* 19:51–56.
- McClenachan L., Cooper A.B., Carpenter K.E., Dulvy N.K. 2012.** Extinction risk and bottlenecks in the conservation of charismatic marine species. *Conservation Letters* 5: 73–80.
- McCully S.R., Scott F. e Ellis J.R. 2012.** Lengths at maturity and conversion factors for skates (Rajidae) around the British Isles, with an analysis of data in the literature. *ICES Journal of Marine Science* 69: 1812–1822.

- McEachran J.D., Seret B., e Miyake T. 1989.** Morphological variation within *Raja miraletus* and status of *R. ocellifera* (Chondrichthyes, Rajoidei). *Copeia*, 629–641.
- McEachran J.D, Dunn K.A. e Miyake T. 1996.** Interrelationships of batoid fishes (Chondrichthyes: Batoidei). In: Stiassny M.L.J., Parenti L.R. and Johnson G.D. (eds.) *Interrelationships of Fishes*. Academic Press, San Diego, London. pp. 63–84.
- Mellinger J. 1983.** Egg-case diversity among dogfish, *Scyliorhinus canicula* (L.): a study of egg laying rate and nidamental gland secretory activity. *Journal of Fish Biology* 22: 83–90.
- Metten H. 1939.** Studies on the reproduction of the dogfish. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* 230(569): 217–238.
- Mollet H.F., Cliff G., Pratt H.L. e Stevens J.D. 2000.** Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of lamnoids. *Fishery Bulletin* 98: 299–318.
- Morales-Nin B., Maynou F., Sardà F., Cartes J., Moranta J. et al., 2003.** Size influence in zonation patterns in fishes and crustaceans from deep-water communities of the Western Mediterranean. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 31: 413–430.
- Moreno J.A. e Moron J. 1992.** Reproductive Biology of the bigeye thresher shark, *Alopias superciliosus* (Lowe, 1839). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 43: 77–86.
- Moura T., Serra-Pereira B., Gordo L.S. e Figueiredo I. 2011.** Sperm storage in males and females of the deepwater shark Portuguese dogfish with notes on oviducal gland microscopic organization. *Journal of Zoology* 283:210–219.
- Mulas A., Bellodi A., Cannas R., Cau A., Cuccu D., Marongiu M.F., Porcu C. e Follesa M.C. 2015.** Diet and feeding behaviour of longnosed skate *Dipturus oxyrinchus*. *Journal of Fish Biology*, 86(1): 121–138.
- Musick J.A., Bransletter S. e Colvocoresses J.A. 1993.** Trends in shark abundance from 1974 to 1991 for the Chesapeake Bight region of the U.S. Mid-Atlantic Coast. In S. Bransletter (ed.). *Conservation Biology of Elasmobranchs*. NOAA Technical Report NMFS 115. pp. 1–18.
- Musick J.A. 1999.** Ecology and conservation of long-lived marine animals. In J.A. Musick (ed.). *Life in the slow lane: ecology and conservation of long-lived marine animals*. American Fisheries Society Special Publication 23, Bethesda (MD). pp.1–10.
- Musick J.A. 2004.** Management of sharks and their relatives (Elasmobranchii). Introduction in Management techniques for Elasmobranch fisheries (Musick, J. A. Editor., Bonfil, R.). FAO Fisheries Technical Paper. Rome: FAO. pp. 251.
- Musick J.A. e Ellis J.K. 2005.** Reproductive evolution of chondrichthyans. In: Hamlett W.C. (ed.) *Reproductive biology and phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Rays and Chimaeras*. Vol. 3. Endfield, USA. Science Publishers. pp. 45–79.
- Myklevoll S. 1989.** *Norway's porbeagle fishery*. Working Document presented at the ICES Study Group on Elasmobranch Fisheries. Dublin, Ireland, 26–28 April 1989.
- Mytilineou C., Politou C., Papaconstantinou C., Kavadas S., D'Onghia G. e Sion L. 2005.** Deep-water fish fauna in the Eastern Ionian Sea. *Belgian Journal of Zoology*, 135(2): 229–233.
- Nakaya K. 1975.** Taxonomy, comparative anatomy phylogeny of Japanese catsharks, Shyliorinidae. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University* 23(1): 1–94.
- NMFS (National Marine Fisheries Service). 1999.** *Final fishery management plan for the Atlantic tunas, swordfish and sharks*. NOAA, NMFS, Silver Spring, MD.

- Notarbartolo di Sciara G. e Bianchi I. 1998.** Guida degli squali e delle razze del Mediterraneo. Franco Muzzio Editore. P. 338.
- Oddone M.C., Paesch L. e Norbis W. 2005.** Size at first sexual maturity of two species of rajoid skates, genera *Atlantoraja* and *Dipturus* (Pisces, Elasmobranchii, Rajidae), from the south-western Atlantic Ocean. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(1): 70–72.
- Olaso I., Velasco F., Sánchez F., Serrano A., Rodríguez-Cabello C. e Cendrero O. 2005.** Trophic relationship of lesser-spotted catshark (*Scyliorhinus canicula*) and blackmouth catshark (*Galeus melastomus*) in the Cantabrian Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35: 481–494.
- Olsen A.M. 1959.** The status of the school shark fishery in south-eastern Australia waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 10: 150–176.
- Otake T. 1990.** Classification of reproductive modes in sharks with comments on female reproductive tissues and structures. In Pratt H.L. Jr, Gruber S.H., e Taniuchi T. (ed.). *Elasmobranchs as living resources: Advances in biology, ecology, systematics and status of the fisheries*. U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Rep. NMFS 90. pp. 111–130.
- Parker H.W. e Scott F.C. 1965.** Age, size and vertebral calcification in the basking shark, *Cetorhinus maximus* (Gunnerus). *Zoologische Mededelingen* 40: 305–319.
- Parsons G.R. 1981.** The reproductive biology of the Atlantic sharpnose shark, *Rhizoprionodon terraenovae* (Richardson). *Fisheries Bulletin* 81: 61–73.
- Parsons G.R. e Grier H.J. 1992.** Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis. *Journal of Experimental Zoology* 261: 173–184.
- Peres M.B. e Vooren C.M. 1991.** Sexual development, reproductive cycle, and fecundity of the school shark, *Galeorhinus galeus* off Southern Brazil. *Fisheries Bulletin* 89: 655–667.
- Polidoro B.A., Livingstone S.R., Carpenter K.E., Hutchinson B., Mast R.B., Pilcher N.J., Sadovy de Mitcheson Y., Valenti S.V. 2008.** Status of the world's marine species. In: Vié J.C., Hilton-Taylor C., Stuart S.N., editors. *Wildlife in a changing world: an analysis of the 2008 IUCN Red List of threatened species*. Gland, Switzerland: International Union for Conservation of Nature. p. 55–65.
- Polidoro B.A., Brooks T., Carpenter K.E., Edgar G.J., Henderson S., Sanciangco J., Robertson D.R. 2012.** Patterns of extinction risk and threat for marine vertebrates and habitat-forming species in the Tropical Eastern Pacific. *Marine Ecology-Progress Series* 448: 93–104.
- Porcu C., Follesa M.C., Marongiu M.F., Bellodi A., Cuccu D., e Cau A. 2013.** Maturation of the ovaries and oviducal glands of the longnosed skate dipturus oxyrinchus (chondrichthyes: rajiformes). In: Rapport du 40^e Congrès de la CIESM, 40th Ciesm Congress Proceedings, Marseille (France): P. 502
- Porcu C., Bellodi A., Cuccu D., Moccia D., Marongiu M.F. 2014a.** Conversion factors for skates (Rajidae) in Sardinian seas (Central-Western Mediterranean Sea). In: 18th EEA Scientific Conference, Leeuwarden (The Netherlands) , 7-9 novembre 2014. p. 78
- Porcu C., Marongiu M.F., Follesa M.C., Bellodi A., Mulas A., Pesci P. e Cau A. 2014b.** Reproductive aspects of the velvet belly *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae), from the central western Mediterranean Sea. Notes on gametogenesis and oviducal gland microstructure. *Mediterranean Marine Science* 15(2): 313–326.
- Porcu C., Bellodi A., Cannas R., Marongiu M.F., Mulas A., Follesa M.C. 2015.** Life-history traits of a commercial ray, *Raja brachyura* from the central western Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science* 16(1): 90–102.
- Prasad R.R. 1948.** Observations on the nidamental glands of *Hydrolagus colliei*, *Raja rhina* and *Platyrrhinoidis triseriatus*. *Copeia*, 1: 54–57.

- Pratt, H.L. 1979.** Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. *Fishery Bulletin* 77:445–470.
- Pratt H.L. 1988.** Elasmobranch gonad structure: a description and survey. *Copeia* 1988: 719–729.
- Pratt HL Jr. 1993.** The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks. *Environmental Biology of Fishes* 38:139–149.
- Pratt H.L. e Tanaka S. 1994.** Sperm storage in male elasmobranchs: a description and survey. *Journal of Morphology* 219:297–308.
- Punt A.E. e Walker. T.I. 1998.** Stock assessment and risk analysis for the school shark (*Galeorhinus galeus*) off southern Australia. *Marine and Freshwater Research* 49: 719–731.
- Quignard J.P. 1965.** Les raies du golfe du Lion: nouvelle méthode de diagnose et d'étude biogéographique. *Rapp. Comm. Int. Explor. Sci. Mer Médit*, 18: 211–212.
- Quignard J.P. 1971.** Recherches sur la biologie de *Squalus blainvillei* (Risso, 1826). *Trav. Lab. Biol. Halieutique Univ. Rennes*, 5: 125–141.
- Quiniou L. e Rabarison Andriamirado G. 1979.** Variations du régime alimentaire de raies de la baie de Douarnenez (*Raja montagui* Fowler, 1910; *Raja brachyura* Lafont, 1873; *Raja clavata* L., 1758). *Cybiurn* 7: 27–39.
- Ragonese S., Di Stefano L. e Bianchini M.L. 2000.** Catture e selettività di pesci cartilaginei nella pesca dei gamberi rossi nello Stretto di Sicilia. *Biologia Marina Mediterranea*, 7(1): 400–411.
- Ragonese S., Cigala Fulgosi F., Bianchini M.L., Norrito G. e Sinacori G. 2003.** Annotated check list of the skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the Strait of Sicily (Central Mediterranean). *Biologia Marina Mediterranea* 10: 874–881.
- Ragonese S., Nardone G., Ottonello D., Gancitano S., Giusto G.B. e Sinacori G. 2009.** Distribution and biology of the Blackmouth catshark *Galeus melastomus* in the Strait of Sicily (Central Mediterranean Sea). *Mediterranean Marine Science* 10(1): 55–72.
- Ragonese S., Vitale S., Dimech M., Mazzola, S. 2013.** Abundances of Demersal Sharks and Chimaera from 1994–2009 Scientific Surveys in the Central Mediterranean Sea. *PLoS ONE* 8(9): e74865.
- Reiner F. 1996. Catálogo dos peixes do arquipélago de Cabo Verde. Instituto Português de Investigação Marítima, Lisboa, 339 pp.
- Raje S.G. 2006.** Skate fishery and some biological aspects of five species of skates off Mumbai. *Indian Journal of Fisheries* 53 (4): 431–439.
- Relini G., Bertrand J. e Zamboni A. 1999.** Synthesis of the knowledge on bottom fishery resources in Central Mediterranean (Italy and Corsica). *Biologia Marina Mediterranea* 6(suppl. 1): 868 pp.
- Relini G. 2000.** La ricerca sulla pesca: le risorse demersali. *Biologia Marina Mediterranea*, 7(4): 13–45.
- Rey J., Gil De Sola L. e Massuti E. 2005.** Distribution and Biology of the Blackmouth Catshark *Galeus melastomus* in the Alboran Sea (Southwestern Mediterranean). *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* 35: 215–223.
- Ripley W.E. 1946.** The soup-fin shark and the fishery. *Fishery Bulletin* 64: 7–37.
- Rinelli P., Bottari T., Florio G., Romeo T., Giordano D. e Greco S. 2005. Observations on distribution and biology of *Galeus melastomus* (Chondrichthyes, Scyliorhinidae) in the southern Tyrrhenian Sea (central Mediterranean). *Cybiurn* 29(1): 41–46.
- Rogers S.I., Ellis J.R. 2000.** Changes in the demersal fish assemblages of British coastal waters during the 20th century. *ICES Journal of Marine Science* 57: 866–881.

- Rose D.A. 1996.** *Shark Fisheries and Trade in the Americas*, Volume 1: North America. TRAFFIC. Cambridge U.K. 143 pp.
- Ruocco N.L., Lucifora L.O., Díaz de Astarloa J.M. e Wöhler O. 2006.** Reproductive biology and abundance of the white-dotted skate, *Bathyraja albomaculata*, in the Southwest Atlantic. *ICES Journal of Marine Science* 63: 105–116.
- Rusaouën M. 1976.** The dogfish shell gland, a histochemical study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 23: 267–283.
- Santos R.S., Porteiro F.M., Barreiros J.P. 1997.** Marine fishes of the Azores: annotated checklist and bibliography. Arquipélago. *Life and Marine Sciences*, 1: 1–244.
- Santos J., Borges T. 2001.** Trophic relationships in deep-water fish communities off Algarve, Portugal. *Fisheries Research*, 51: 337–341.
- Schindler D.E., Essington, T.E., Kitchell, J.F., Boggs, C. e Hilborn, R. 2002.** Sharks and tunas: Fisheries impacts on predators with contrasting life histories. *Ecological Applications*, 12(3): 735–748.
- Serena F., Mancusi C., Ungaro N., Hareide N.R., Guallart J., Coelho R. e Crozier P. 2003.** “*Galeus melastomus*”. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2010.4. Downloaded on October 29, 2010.
- Serena, F. 2005.** *Field Identification Guide to the Sharks and Rays of the Mediterranean and Black Sea*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 97 pp.
- Serena F., Mancusi C., Ungaro N., Hareide N.R., Guallart J., Coelho R. e Crozier P. 2009.** *Galeus melastomus*. In: IUCN 2013. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <<http://www.iucnredlist.org/details/161388/0>>. (Accessed 24 September 2013).
- Serena F., Mancusi C. e Barone M. 2010.** Guida pratica di identificazione delle razze (Rajidae) del Mar Mediterraneo. Linee guida per la raccolta e l'analisi dei dati. In *Biologia Marina Mediterranea*, pp. 204.
- Serra-Pereira B., Figueiredo I., Bordalo-Machado P., Farias I., Moura T. e Serrano Gordo L. 2005a.** Description of Portuguese mixed-fisheries with positive landings of *Raja brachyura* Lafont, 1873 and *Raja montagui* Fowler, 1910. *Elasmobranch Fisheries Science ICES CM 2005/n° 18*: 1–10.
- Serra-Pereira B., Farias I., Moura T., Gordo L. S., Santos M. e Figueiredo I. 2010.** Morphometric ratios of six commercially landed species of skate from the Portuguese continental shelf, and their utility for identification. *ICES Journal of Marine Science* 67: 1596–1603.
- Serra-Pereira B., Afonso F., Farias I., Joyce P., Ellis (nee Storrie) M., Figueiredo I., Serrano Gordo L. 2011.** The development of the oviducal gland in the Rajid thornback ray, *Raja clavata*. *Helgoland Marine Research* 65: 399–411.
- Shirai S. 1996.** Phylogenetic interrelationships of Neoselachians (Chondrichthyes: Euselachii). In: Stiassny M.L.J., Parenti L.R. and Johnson G.D. (eds.) *Interrelationships of Fishes*. Academic Press, San Diego, London. pp. 9–34.
- Simpfendorfer C.A. 1992.** Reproductive strategy of the Australian sharpnose shark, *Rhizoprionodon taylori* (Elasmobranchii: Carcharhinidae) from Cleveland Bay, Northern Queensland. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 43: 67–75.
- Simpfendorfer C.A. e Unsworth P. 1998.** Reproductive biology of the whiskery shark, *Furgaleus macki*, off southwestern Australia. *Marine and Freshwater Research* 49: 687–693.
- Sion L., D'Onghia G. e Tursi A. 2003.** First Data on Distribution and Biology of *Squalus blainvillei* (Risso, 1826) from the Eastern Mediterranean Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 31: 213–219.

- Sion L., Bozzano A., D'Onghia G., Capezzuto F., Panza M. 2004.** Chondrichthyes species in deep waters of the Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 68: 153–162.
- Smale M.J., Ungaro N., Serena F., Dulvy N., Tinti F., Bertozzi M., Mancusi C. e Noarbartolo di Sciara G. 2009.** *Raja miraletus*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 3.1. <www.iucnredlist.org>
- Sminkey T.R. e Musick J.A.1995.** Age and growth of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*, before and after population depletion. *Copeia* 4: 871–883.
- Sminkey T.R. e Musick J.A.1996.** Demographic analysis of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*, in the western North Atlantic. *Fishery Bulletin* 94: 341–347.
- Smith S.E., Au D.W. e Show C.1998.** Intrinsic rebound potentials of 26 species of Pacific sharks. *Marine and Freshwater Research* 41: 663–678.
- Smith R.M., Walker T.I., Hamlett W.C. 2004.** Microscopic organization of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callhorhynchus milii*. *Marine and Freshwater Research* 55(2):155–164.
- Springer S.1960.** Natural history of the sandbar shark, *Eulamia milberti*. *Fisheries Bulletin* 61:1–38.
- Stehmann M. e Burkel D.L. 1984.** Rajidae. In: Whitehead P.J.P., Bauchot M.L., Houreau J.C., Nielsen J., Tortonese E. (eds), *Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean*. UNESCO, Paris: 163-196.
- Stehmann M. 1990.** Rajidae. In: Quero J.C., Hureau J.C., Karrer C., Post A. and Saldanha L. (eds.) *Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic*. Junta Nacional de Investigaçao Cientifica e Tecnológica, Lisbon, Portugal. Vol. 1. p. 29–50.
- Stevens J.D. e Wiley P.D.1986.** Biology of two commercially important Carcharhinid sharks from Northern Australia. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 37: 671–688.
- Stevens J.D., Bonfil R., Dulvy N. e Walker P. 2000.** The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 476–494.
- Storrie M.T., Walker T.I., Laurenson L.J. e Hamlett W.C. 2008.** Microscopic organization of the sperm storage tubules in the oviducal gland of the female gummy shark (*Mustelus antarcticus*), with observations on sperm distribution and storage. *Journal of Morphology* 269:1308–1324.
- Sulikowski J.A., Kneebone J., Elzey S., Jurek J., Danley P.D., Howell W.H. e Tsang P.C.W 2005.** The reproductive cycle of the thorny skate (*Amblyraja radiata*) in the western Gulf of Maine. *Biological Sciences Scholarship*. Paper 5.
- Sulikowski J.A., Kneebone J., Elzey S., Jurek J., Howell W.H. e Tsang, P.C.W. 2006.** Using the composite variables of reproductive morphology, histology and steroid hormones to determine age and size at sexual maturity for the thorny skate *Amblyraja radiata* in the western Gulf of Maine. *Journal of fish biology*, 69(5): 1449–1465.
- Sulikowski J.A., Elzey S., Kneebone J., Jurek J., Howell W.H. e Tsang, P.C.W. 2007.** The reproductive cycle of the smooth skate, *Malacoraja senta*, in the Gulf of Maine. *Marine and freshwater research*, 58(1): 98–103.
- Sumpter J.P. e Dodd J.M. 1979.** The annual reproductive cycle of the female small-spotted catshark, *Scyliorhinus canicula* L., and its endocrine control. *Journal of Fish Biology* 15:687–695.
- Tamini L.L., Chiamonte G.E., Perez J.E. e Cappozzo H.L. 2006.** Batoids in a coastal trawl fishery of Argentina. *Fisheries Research*, 77(3): 326-332.
- Threadgold L.T. 1957.** A histochemical study of the shell gland of *Scyliorhinus caniculus*. *Journal of Histochemical and Cytochemical*, 5: 159–166.

- Tortonese E. 1956.** Leptocardia, Ciclostomata, Selachii. Fauna d'Italia. Vol. 2, Edizioni Calderini, Bologna.
- Underwood C.J. 2006.** Diversification of the Neoselachii (Chondrichthyes) during the Jurassic and Cretaceous. *Paleobiology* 32(2): 215–235.
- Ungaro N. 2004.** Biological parameters of the brown ray, *Raja miraletus*, in the Southern Adriatic basin. *Cybium*, 28(2): 174–176.
- Ungaro N.; Serena F.; Dulvy N.K.D., Tinti F.; Bertozzi M., Mancusi C., Notarbartolo di Sciara G., Ellis J.E. 2007.** *Dipturus oxyrinchus*. In: IUCN 2009. IUCN Red List of Threatened Species. Version 3.1. <<http://www.iucnredlist.org>>.
- Vacchi M., Relini Orsi L. 1979.** Aspetti riproduttivi in *Etmopterus spinax* L. (Chondrichthyes, Squalidae). *Quaderni della Civica Stazione Idrobiologica di Milano*, 7: 64–74.
- Vannucci S. 2005.** Ecologia di alcune specie di Rajidae del Mar Ligure Meridionale con particolare riferimento all'alimentazione. B.Sc. Thesis, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Università degli Studi di Pisa, Pisa, Italy.
- Walker T.I. 1992.** Fishery simulation model for sharks applied to the Gummy shark, *Mustelus antarcticus* Günther, from southern Australian waters. *Australian Journal of Marine Freshwater Research* 43: 195–212.
- Walker P.A., e Heessen H.J.L. 1996.** Long-term changes in ray populations in the North Sea. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 53(6): 1085–1093.
- Walker P.A. e Hislop J. R.G. 1998.** Sensitive skates or resilient rays? Spatial and temporal shifts in ray species composition in the central and north-western North Sea between 1930 and the present day. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 55(3): 392–402.
- Walker T.I. 2004.** Management measurements. In Musick J.A. e Bonfil R. (eds.), *Technical Manual for the Management of Elasmobranchs*. Asia Pacific Economic Cooperation Secretariat, Singapore. pp. 285–321.
- Walker T.I. 2005.** Reproduction in fishery science. In Hamlett W.C. (eds) *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyans: Sharks, Rays and Chimaeras*. Science Publishers: Enfield, NH. pp. 88–127
- Walker T.I. 2005.** Management measures. In: Musick J.A., Bonfil R. (eds). *Management techniques for Elasmobranch Fisheries*. Rome, Italy: FAO Fisheries Technical Paper n° 474: 216–242.
- Wass R.C. 1973.** Size, growth, and reproduction of the sandbar shark, *Carcharhinus milberti*, in Hawaii. *Pacific Science* 27: 305–318.
- Wetherbee B.M. 1996.** Distribution and reproduction of the southern lantern shark from New Zealand. *Journal of Fish Biology* 49: 1186–1196.
- Wilson C.D. e Seki M.P. 1994.** Biology and population characteristics of *Squalus mitsukurii* from a seamount in the central North Pacific Ocean. *Fisheries Bulletin* 92: 851–864.
- White W.T., Platell M.E e Potter I.C. 2001.** Relationship between reproductive biology and age composition and growth in *Urolophus lobatus* (Batoidea: Urolophidae). *Marine Biology* 138: 135–147.
- Wood C.C., Ketchen K.S. e Beamish R.J. 1979.** Population dynamics of spiny dogfish (*Squalus acanthias*) in British Columbia waters. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 36: 647–656.
- Wourms J.P. 1977.** Reproduction and development in condrichthyan fishes. *American Zoologist* 17: 379–410.
- Wourms J.P. 1981.** Viviparity: the maternal-fetal relationship in fishes. *American Zoologist* 21(2): 473–515.
- Wourms J.P. e Lombardi J. 1992.** Reflections on the evolution of piscine viviparity. *American Zoologist* 32: 276–293.

Yano K., Tanaka S. 1988. Size at maturity, reproductive cycle, fecundity and depth segregation of the deep-sea squaloid sharks *Centroscymnus owstoni* and *C. coelolepis* in Suruga Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 167–174.

Yano K. 1993. Reproductive biology of the slender smoothhound, *Gollum attenuatus*, collected from New Zealand waters. *Environmental Biology of Fishes* 38: 59–71.

Yano K. 1995. Reproductive biology of the black dogfish, *Centroscyllium fabricii*, collected from waters off Western Greenland. *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.* 75: 285–310.

Yigin C., e Ismen A. 2010. Age, growth, reproduction and feed of longnosed skate, *Dipturus oxyrinchus* (Linnaeus, 1758) in Saros Bay, the north Aegean Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 26(6): 913–919.

Zar J.H. 1999. Biostatistical analysis, 4th edn. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall. 663 p.

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare sentitamente il Prof. Angelo Cau per le diverse opportunità che mi ha concesso e che mi hanno permesso di crescere professionalmente.

Un ringraziamento particolare va alla Prof.ssa Maria Cristina Follesa che mi ha aiutato e seguito in questo percorso e per avermi coinvolto in progetti importanti che mi sono stati utili nella realizzazione di questa tesi. La ringrazio inoltre per la fiducia che ha riposto in me e per avermi spronato a progredire costantemente nel mio lavoro.

Un ringraziamento molto speciale va alla Dott.ssa Cristina Porcu per avermi trasmesso tutte le sue conoscenze che sono state delle fondamenta solide per la realizzazione di questa tesi e perchè mi ha sempre supportato, aiutato e sopportato con estrema pazienza e professionalità. Grazie di cuore.

Ringrazio inoltre il Dott. Antonello Mulas per essere sempre stato disponibile nei miei confronti e per avermi trasmesso le sue conoscenze.

Un sentito grazie ai miei cari colleghi Blondine, Stefania, Andrea B., Giulia, Simone, Andrea A., Davide e Alessandro con i quali ho condiviso momenti di gioia e dolore e perchè in questi anni e soprattutto negli ultimi mesi, ci siamo sempre supportati e sostenuti a vicenda.

Il ringraziamento più grande e profondo va ad Alessandro e alla mia famiglia che sono stati sempre presenti e incoraggianti in tutti questi anni e perchè hanno sempre creduto in me e nelle mie capacità.

Voglio ringraziare inoltre le mie coinquiline Patrizia e Patrizia e le mie amiche Ele e Ele per avermi supportato moralmente, specialmente nell'ultimo periodo di stesura della tesi.

Grazie anche a tutti i membri dell'equipaggio del Gisella che ci forniscono sempre i campioni con i quali lavorare.

Grazie a tutti,

Martina