

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO
FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE, FISICHE E NATURALI

LAUREA TRIENNALE IN SCIENZE BIOLOGICHE
ELABORATO FINALE

Osservazioni sullo sviluppo embrionale, gestione e allevamento dello squalo gattuccio, *Scyliorhinus canicula*, presso l'acquario di Milano

RELATORE: Chiar.mo Prof. Alfredo Provini

CORRELATORI: Dott. Danilo Rezzolla

Dott.ssa Patrizia Merico

**STAGE SVOLTO PRESSO: ACQUARIO E CIVICA STAZIONE
IDROBIOLOGICA DI MILANO**

Tesi di Laurea di:

Sannolo Marco

732133

ANNO ACCADEMICO 2009/2010

Indice Sistematico

1. Riassunto	pag. 3
2. Introduzione	
2.1 Biologia dello squalo gattuccio	pag. 4
2.2 Condizioni chimico-fisiche delle vasche di un acquario	pag. 6
3. Materiali e Metodi	
3.1 Vasche di Allevamento – Sistema Blu	pag. 8
3.2 Vasche di Allevamento – Sistema Mediterraneo Grande	pag. 8
3.3 Alimentazione degli squali gattucci	pag. 8
3.4 Analisi dello sviluppo embrionale	pag. 9
3.5 Analisi chimico-fisiche delle vasche d’acquario	pag. 10
4. Risultati e Conclusioni	
4.1 Tabella 1: analisi chimico-fisiche del Sistema Blu	pag. 12
4.2 Tabella 2: analisi chimico-fisiche del Sistema Mediterraneo Grande	pag. 12
4.3 Conclusioni riguardo alle analisi chimico-fisiche dell’acqua	pag. 13
4.4 Tabella 3: resoconto degli squali gattucci adulti	pag. 14
4.5 Tabella 4: resoconto delle uova deposte	pag. 14
4.6 Tabella 5: accrescimento embrionale	pag. 15
4.7 Conclusioni riguardo alla crescita embrionale	pag. 16
5. Bibliografia	pag. 18

1. Riassunto

Presso l'Acquario di Milano sono ospitati dodici esemplari di squalo gattuccio (*Scyliorhinus canicula*). Alcuni hanno raggiunto la maturità sessuale quest'anno, perciò l'obiettivo del mio stage è stato duplice: osservare come gli squali adulti sono allevati e gestiti in acquario (condizioni chimico-fisiche delle vasche, analisi delle acque, frequenza e tipologia di alimentazione) e, contemporaneamente, studiarne l'accrescimento embrionale tramite il prelievo delle uova, la misurazione delle teche, un reportage fotografico e la misurazione dell'embrione. Ho quindi eseguito una serie di analisi chimiche dell'acqua delle vasche dove sono ospitati gli adulti e le uova, monitorando pH, densità, salinità, temperatura e le concentrazioni di ammoniaca, nitrito e nitrato. Le analisi chimiche dei composti azotati sono state eseguite con uno spettrofotometro, mentre ho utilizzato un rifrattometro per analizzare densità e salinità. La temperatura è stata monitorata sia con un termometro manuale, sia attraverso l'apparecchiatura digitale connessa a entrambi i sistemi oggetto di stage. Ho seguito l'alimentazione degli adulti, che avviene tre volte a settimana, e la tipologia di cibo somministrato. In questo modo è stato possibile avere un quadro preciso e completo riguardo alla gestione di questa specie in cattività.

Ho studiato la gestione di un grande acquario civico e ho seguito lo sviluppo embrionale di tutte le uova deposte tra maggio e settembre 2010. Con frequenza settimanale ho controllato la vasca dove sono allevati gli adulti, al fine di trovare e spostare le uova in un'apposita vasca di accrescimento. Qui ho misurato e fotografato le teche, raccogliendo, in quasi quattro mesi, oltre 800 fotografie. Per ogni embrione vitale ho poi analizzato le foto con il software Photoshop CS3[®], in modo da poterne misurare con precisione la dimensione, e seguirne così l'accrescimento.

Il progetto di ricerca è durato quasi quattro mesi e ha permesso di evidenziare delle linee guida per la gestione, il mantenimento e l'allevamento in cattività dello squalo *Scyliorhinus canicula*. E' stato inoltre possibile valutare sperimentalmente l'accrescimento embrionale di questa specie, evidenziando differenti tassi di crescita in diverse fasi dello sviluppo e un'elevata mortalità durante le prime fasi di vita, con un numero di decessi superiore a quello riscontrato in animali di età superiore. Ho potuto, perciò, formulare l'ipotesi che animali giovani, divenuti da poco maturi sessualmente, potrebbero deporre uova con una minore aspettativa di sopravvivenza.

2. Introduzione

2.1 Biologia dello squalo gattuccio

Durante lo stage ho valutato gli aspetti gestionali, di allevamento e di sviluppo embrionale dello squalo gattuccio, *Scyliorhinus canicula* (Linnaeus, 1758). E' una specie appartenente alla classe *Chondrichthyes*, ordine *Carcharhiniformes*, famiglia *Scyliorhinidae* (Compagno, 1984).

Il gattuccio è diffuso lungo le coste del bacino del Mediterraneo (assente nel Mar Nero) e nell'oceano Atlantico orientale: dal Senegal a sud, fino alle isole britanniche e la Norvegia a nord. Si tratta di una specie demersale, con distribuzione batimetrica compresa tra 10 e 400 m di profondità (Compagno, 1984); abita fondali sassosi, sabbiosi e corallini, soprattutto se ricchi di specie di gorgonie, sui rami delle quali depone le uova.



Foto 1. Esemplare adulto di gattuccio (foto di Javier Santiago)

Il gattuccio raggiunge una lunghezza massima di 100 cm (Compagno, 1984); il corpo è molto slanciato e affusolato, il capo è schiacciato, il muso è corto e arrotondato. La bocca è molto arcuata e coperta nel margine anteriore dalle valve nasali, con le narici più vicine all'esterno del muso che alla bocca; lo spiracolo è dietro l'occhio.

I denti sono presenti in entrambe le mascelle: sono formati da una cuspidi centrale, obliqua e acuminata, affiancata da due cuspidi laterali più piccole. Gli occhi sono ovali, la membrana nittitante è assente. Possiede cinque fessure branchiali: le ultime due si trovano sopra il margine anteriore delle pinne pettorali. Non sono presenti pinne spinose. Oltre alle due pettorali, il gattuccio possiede due pinne dorsali: la prima è molto arretrata, più grande della seconda (Compagno, 1984). Presenta due pinne pelviche triangolari, lunghe e strette: nel maschio danno origine agli

pterigopodi, o mixopterigi, supportati dall'endoscheletro e necessari per la fecondazione interna (Compagno, 1999a). Infine, presenta una pinna anale e la pinna caudale, eterocerca, con il lobo superiore molto più sviluppato rispetto a quello inferiore.

Il colore degli esemplari adulti è tra il giallastro e il bruno, con numerose macchie nere e marroni lungo tutto il corpo a eccezione del ventre, che è bianco. Negli esemplari giovani possono essere presenti delle fasce trasversali scure.

I gattucci si nutrono di molluschi bivalvi, gasteropodi, piccoli cefalopodi, vermi policheti e piccoli pesci ossei. In cattività non disdegnano aringhe, sardine, sgombri e platesse (Michael, 2001).

Si tratta di una specie ovipara, la maturità sessuale è raggiunta tra i 39 e i 44 cm di lunghezza (Compagno, 1984).

Come in tutti gli *Elasmobranchii*, la fecondazione è interna: inizialmente il maschio morde la femmina in un tipico atto pre-copulatorio, comune a diverse specie di squali, poi le si avvolge intorno e introduce uno dei suoi due pterigopodi nella cloaca della femmina, fecondandola. Le femmine depongono dalle 29 alle 190 uova all'anno (Mellinger, 1983), ma non tutte sono fecondate. Ogni uovo deposto è racchiuso all'interno di una teca cornea di circa 5 cm di lunghezza. Le teche sono composte da lamelle di collagene sovrapposte (fino a 20) frammiste a cheratina: questa



Foto 2. Embrione a 101 giorni di vita

composizione le rende resistenti e flessibili. La schiusa delle uova avviene dopo 5-11 mesi dalla data di deposizione (Michael, 2001): il tasso di crescita è influenzato essenzialmente dalla temperatura alla quale gli embrioni si sviluppano. Quando il tuorlo è completamente assorbito, l'embrione spinge con il capo contro un'estremità della teca: dopo aver creato una fessura, ne fuoriesce. I neonati sono autonomi e indipendenti già alla nascita, non è presente alcuna forma di cura parentale in seguito alla schiusa.

Il gattuccio è una specie ampiamente pescata e commercializzata in tutta Europa. In Italia è apprezzato soprattutto lungo le coste adriatiche e in Sardegna. La cattura avviene tramite reti a strascico e palamiti.

2.2 Condizioni chimico-fisiche delle vasche di un acquario

Oltre a considerare la biologia dello squalo gattuccio, durante lo stage ho valutato gli aspetti gestionali di un grande acquario civico, con un interesse particolare per il mantenimento di corrette condizioni chimico-fisiche delle vasche in cui sono allevati gli animali oggetto di studio.

Il fotoperiodo, l'intensità dell'illuminazione artificiale, la temperatura, la salinità e la densità dell'acqua devono rispecchiare le condizioni in cui vivono gli esemplari in natura: in questo modo è possibile fornire loro ottimali condizioni di vita ed evitare che valori scorretti di questi parametri possano causare stress agli animali. Inoltre, fornire agli animali ottimali condizioni di vita è un requisito indispensabile affinché si possano riprodurre in cattività.

A differenza del fotoperiodo, la temperatura, la salinità e la densità dell'acqua sono parametri che possono subire fluttuazioni indesiderate: per questo motivo, durante l'intera durata dello stage, sono state costantemente monitorate. Poiché la temperatura e il fotoperiodo rappresentano i principali fattori ambientali che incidono sul sistema neuroendocrino, responsabile del comportamento sessuale dei gattucci (Dobson and Dodd, 1977), durante il periodo di stage questi parametri sono stati variati per brevi periodi, al fine di valutare il loro eventuale impatto sul tasso di deposizione delle uova da parte delle femmine.

I più importanti parametri chimici considerati sono stati il pH e le concentrazioni dei composti azotati (ammoniaca/ammonio, nitrato e nitrito) disciolti in acqua. Il pH delle acque marine superficiali è debolmente basico per la presenza di bicarbonati: è stabile intorno al valore di 8,2.

Tra i composti azotati, il più tossico è l'ammoniaca (NH_3): è un potente veleno per tutti i pesci. A valori di pH inferiori a 7 è presente come ione ammonio (NH_4^+), sostanza atossica. Nei pesci ammoniotelici i prodotti finali del catabolismo degli amminoacidi e degli acidi nucleici, i gruppi ammina ($-\text{NH}_2$), sono convertiti ad ammoniaca ed eliminati attraverso le branchie. Nei pesci cartilaginei, invece, il metabolita finale è l'urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), eliminata in gran parte attraverso le branchie. In acqua, i batteri ammonizzanti idrolizzano l'urea ad ammoniaca e biossido di carbonio. La tossicità dell'ammoniaca aumenta con il crescere di pH e temperatura, poiché l'equilibrio ammoniaca/ammonio diventa sempre più spostato verso la forma tossica. Sia le analisi condotte con kit rapidi, sia quelle effettuate con lo spettrofotometro misurano la concentrazione totale dei composti di ammoniaca: non distinguono, perciò, tra ammoniaca e ammonio. Se in una vasca si

dovesse misurare una concentrazione di ammoniaca totale diversa da zero, conoscendo anche il valore di pH e di temperatura, si dovrebbe ricavare da apposite tabelle l'effettiva concentrazione di ammoniaca tossica.

Se si superano concentrazioni di 0,1 mg/l di NH_3 , gli avvelenamenti da ammoniaca si manifestano con danni alla mucosa e ai nervi; compaiono, inoltre, emorragie alle branchie, all'epidermide e agli organi interni (Untergasser, 1999).

Il nitrato e il nitrito sono prodotti di ossidazione dell'ammoniaca. Si formano in conseguenza di un'elevata concentrazione di ammonio. I processi di produzione di nitrito (per opera di batteri del genere *nitrosomonas*) e nitrato (per azione di batteri del genere *nitrobacter*), prendono il nome di nitrificazione. Poiché il primo processo è più lento del secondo, generalmente non si hanno accumuli di nitrito, che è immediatamente convertito a nitrato; è quindi molto importante che nella vasca non si verificino accumuli di ammonio o nitrato, che sposterebbero l'equilibrio delle reazioni in favore della produzione di nitrito.

Il nitrito, infatti, è molto tossico: concentrazioni superiori a 0,2 mg/l possono portare alla morte dei pesci. Essi diventano apatici e muoiono improvvisamente. A volte la comparsa del nitrito è correlata alla carenza di ossigeno (Untergasser, 1999). Il nitrato, invece, è molto meno tossico ed è tollerato a dosi maggiori: può raggiungere i 100 mg/l (Untergasser, 1999).

3. Materiali e Metodi

3.1 Vasche di allevamento – Sistema Blu

La vasca in cui sono allevati gli esemplari adulti e sub-adulti di gattuccio fa parte del “Sistema Blu”, un complesso di sette vasche situato nella zona denominata “quarantena”, non accessibile al pubblico. Il sistema ha una capacità totale di 10.000 l, suddivisi in una grande vasca cilindrica da 7.000 l, e altre sei vasche da 500 l ciascuna. Il Sistema Blu ospita, oltre ai gattucci, anche squali gattopardo (*Scyliorhinus stellaris*), trigoni viola (*Dasyatis violacea*), branzini (*Dicentrarchus labrax*), pagelli (*Pagellus bogaraveo*), una cernia (*Epinephelus sp.*), e un grongo (*Conger conger*). Gli esemplari di squalo gattuccio sono ospitati nella “vasca 5”, non condivisa con altre specie. Il sistema di filtraggio dell’acqua è analogo al “Sistema Mediterraneo Grande”, descritto di seguito.

3.2 Vasche di allevamento – Sistema Mediterraneo Grande

Questo sistema comprende sei vasche gemelle, ciascuna con una capacità di 280 l. In una delle vasche sono state raccolte e allevate tutte le uova deposte dagli squali gattucci adulti. Presso questa vasca sono state scattate tutte le foto degli embrioni in crescita. Nelle altre vasche sono ospitati diversi esemplari di tordo (*Symphodus sp.*), un polpo (*Octopus vulgaris*), gli esemplari più giovani di squalo gattopardo e alcune leccie stella (*Trachinotus ovatus*).

La circolazione dell’acqua è assicurata da una pompa Astral da 1,5 KW/h, che aspira da una “sump” (vasca di raccolta, in cui è convogliata l’acqua che esce da tutte le vasche del sistema). L’acqua è spinta dalla pompa in un filtro a sabbia (Astral Millennium 800mm), poi in un filtro a tasche (Eaton 15,5l) e infine passa sotto una lampada U.V., che la sterilizza. L’acqua raggiunge quindi le vasche, dopo aver subito un adeguato filtraggio meccanico, biologico, chimico e batteriologico.

3.3 Alimentazione degli squali gattucci

Gli esemplari di squalo gattuccio sono alimentati tre volte a settimana (lunedì, mercoledì e venerdì) con un misto di cozze sgusciate, filetto di platessa, gamberi e pesce azzurro. Il cibo è tagliato in piccoli pezzi, per consentire un’assimilazione più efficiente da parte dei gattucci. Ogni esemplare è alimentato singolarmente: questa procedura permette di distribuire in modo equilibrato il cibo a ogni gattuccio. La quantità di cibo procapite è stimata in circa il 4% del peso corporeo a ogni pasto, per un totale del 12% del peso corporeo ogni settimana.

3.4 Analisi dello sviluppo embrionale

Tutte le uova trovate nella vasca degli squali gattuccio adulti sono state trasferite, previa acclimatazione, nella vasca di allevamento delle uova. Ho misurato le teche con un calibro Metrica 120 mm (sensibilità: ± 1 mm). Per ogni teca ho annotato la lunghezza (viticci esclusi), la larghezza massima, alla base e all'apice, e lo spessore. Ho poi sistemato le uova in verticale nella vasca, con l'ausilio di un filo di nylon, connesso da un lato ai viticci delle teche, dall'altro a un supporto posto poco sopra la superficie della vasca. A ciascuna teca è stata aggiunta una targhetta identificativa riportante il numero dell'embrione e la data di deposizione.



Foto 3. Alcune delle uova allevate durante lo stage

Ogni lunedì, ho fotografato le teche con una fotocamera Canon Power Shot SX110-IS. Ho così raccolto una grande quantità di materiale fotografico (oltre 800 foto in quasi quattro mesi), grazie alle quali è stato possibile seguire lo sviluppo degli embrioni vitali. Nelle uova appena deposte l'embrione non è visibile, ed è perciò impossibile stabilire se l'uovo è fecondato oppure no: occorre aspettare circa due settimane, affinché il processo di organogenesi renda visibile a occhio nudo la presenza dell'embrione. Verso la terza settimana di vita, l'embrione è lungo circa 2-3 mm e chiaramente distinto dal tuorlo. Dalla quarta settimana in poi, gli embrioni assumono una colorazione più intensa, che crea un maggior contrasto nelle foto: questo fattore, unito alle maggiori dimensioni raggiunte, permette, utilizzando un software grafico, di misurare con precisione la lunghezza di ciascun embrione. Per ogni teca raccolta e allevata, ho scattato ogni settimana varie foto, delle quali ho poi selezionato le cinque migliori. Per determinare la lunghezza dell'embrione

all'interno della teca ho utilizzato una proporzione matematica, sfruttando un dato registrato in precedenza: le dimensioni della teca. Misurando con lo strumento "righello" del software Photoshop CS3[®] la dimensione dell'embrione e della teca nella foto ho potuto, infatti, applicare la seguente proporzione:

$$\text{Dimensione Reale Embrione} = \frac{\text{dimensione embrione nella foto} \times \text{dimensione reale della teca}}{\text{dimensione teca nella foto}}$$

Con questo semplice calcolo è stato possibile, conoscendo soltanto la dimensione di ciascuna teca, determinare la dimensione dell'embrione. Ogni misura è stata arrotondata al millimetro, poiché la sensibilità del calibro utilizzato per misurare le teche impone un intervallo di misura di ± 1 mm.

Avendo selezionato settimanalmente cinque foto per ogni embrione vitale, ho eseguito le misurazioni per ciascuna foto e ho poi calcolato la media: con questo procedimento ho ridotto l'errore statistico che sarebbe derivato dall'analisi di un'unica foto.

Ho quindi annotato la dimensione raggiunta ogni sette giorni da ciascun embrione, al fine di poter redigere un resoconto conclusivo riguardo lo sviluppo embrionale di questa specie.

3.5 Analisi chimico-fisiche delle vasche d'acquario

Per allevare nelle migliori condizioni possibili una specie acquatica, è di primaria importanza fornirle ottimali condizioni chimico-fisiche dell'acqua in cui vive.

Perciò, ogni due settimane, ho eseguito una serie di analisi chimiche e ho controllato i parametri fisici delle vasche degli adulti e delle uova. Salinità e densità sono state verificate con lo stesso strumento, il rifrattometro Milwaukee MR100ATC: si tratta di un apparecchio compatto, tascabile, molto diffuso. Alcune gocce d'acqua vengono messe su un prisma di lettura e pressate da una placchetta di plastica; si guarda poi in controluce attraverso l'oculare dello strumento, leggendo i valori di densità e di salinità, riportati su una scala graduata. La scala va da 0 a 100 ‰, per i valori di salinità, e da 1.000 a 1.070 (Kg/m³) per i valori di densità. Entrambe le scale hanno una risoluzione di ± 1 . Per controllare il valore di pH ho utilizzato il pHmetro Milwaukee PH52, ugualmente pratico e diffuso. L'apparecchio è digitale e possiede a un'estremità un elettrodo di vetro a immersione, che provvede alla misurazione del pH. La sensibilità e la risoluzione dello

strumento sono $\pm 0,1$ pH, perciò tutti i valori registrati sono stati arrotondati alla prima cifra decimale.

La temperatura dei sistemi è controllata in modo automatico da un termostato, collegato all'impianto di riscaldamento/raffreddamento: mantiene sempre costante la temperatura di tutte le vasche di ogni sistema. Ho comunque verificato frequentemente il valore di temperatura di entrambi i sistemi con uno strumento manuale a mercurio (sensibilità e risoluzione $\pm 1^\circ\text{C}$), registrandone il valore ogni due settimane.

Per tenere sotto controllo le concentrazioni dei composti azotati, mi sono servito dello spettrofotometro Hack Lange DR2800. I protocolli di misurazione sfruttano differenti proprietà chimiche dei composti azotati presenti nei campioni, per renderli visibili (cioè nello spettro 400-700 nm): in questo modo è poi possibile determinare le concentrazioni dei composti azotati in ogni campione, misurandone l'assorbanza.

^[1]I composti di ammoniaca si combinano con il cloro formando monoclorammina, che reagisce con il salicilato (reagente aggiunto al campione) formando 5-amminosalicilato, il quale è ossidato in presenza di un catalizzatore al nitroprussiato di sodio. Si forma un composto di colore blu, che si mescola al colore giallo proveniente dal reagente presente in eccesso, determinando una soluzione finale di colore verde. Lo strumento misura l'assorbanza a 655nm e fornisce le concentrazioni dei composti di ammoniaca.

^[2]Per quanto riguarda il nitrato, il cadmio, ossidandosi, lo riduce a nitrito. In un mezzo acido, il nitrito reagisce con l'acido sulfanilico, formando come intermedio un diazo-sale. Quest'ultimo reagisce con l'acido gentisico per formare una soluzione dal colore ambrato. Lo strumento misura l'assorbanza a 500nm e fornisce la concentrazione di nitrato.

^[3]Infine, il nitrito presente nel campione reagisce con l'acido sulfanilico, formando un diazo-sale intermedio. Quest'ultimo si lega con l'acido 1,8-diidrossinaftalene formando un complesso di colore rosa direttamente proporzionale alla quantità di nitrito presente. I risultati del test sono misurati a 507nm.

[1,2,3]: I protocolli citati sono stati estrapolati direttamente dal manuale dello spettrofotometro Hack Lange DR2800.

4. Risultati e Conclusioni

4.1 Tabella 1: analisi chimico-fisiche del Sistema Blu

La tabella comprende analisi chimiche e fisiche dell'acqua del Sistema Blu, in cui sono allevati gli esemplari adulti di squalo gattuccio. Le analisi sono state eseguite e riportate ogni due settimane. La stessa procedura è stata seguita per le analisi effettuate sul Sistema Mediterraneo Grande. La temperatura è stata monitorata con maggiore frequenza: nelle tabelle sono stati riportati solo i valori misurati ogni quattordici giorni.

Tabella 1 - analisi chimico-fisiche del Sistema Blu							
Data Analisi	Parametro Misurato						
	NH ₃ /NH ₄ ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	pH	Temperatura °C	Densità Kg/m ³	Salinità ‰
18-05-10	0,00	64,4	0,049	8,0	18	1029	39
01-06-10	0,00	62,6	0,070	8,0	17	1028	38
15-06-10	0,00	72,3	0,080	8,0	17	1028	38
29-06-10	0,00	83,5	0,077	7,9	17	1028	38
13-07-10	0,00	27,3	0,042	7,9	17	1027	37
27-07-10	0,00	46,9	0,036	8,0	17	1028	38

4.2 Tabella 2: analisi chimico-fisiche del Sistema Mediterraneo Grande

La tabella riporta le analisi chimico-fisiche eseguite sul sistema Mediterraneo Grande. In una delle sei vasche del sistema sono state allevate tutte le uova deposte durante il periodo di stage.

Tabella 2: analisi chimico-fisiche del Sistema Mediterraneo Grande							
Data Analisi	Parametro Misurato						
	NH ₃ /NH ₄ ⁺ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	pH	Temperatura °C	Densità Kg/m ³	Salinità ‰
18-05-10	0,00	30,9	0,009	8,2	19	1028	38
01-06-10	0,00	28,1	0,031	8,3	19	1028	38
15-06-10	0,00	28,9	0,015	8,3	19	1028	37
29-06-10	0,00	26,1	0,021	8,2	19	1027	36
13-07-10	0,00	15,1	0,010	8,3	19	1027	37
27-07-10	0,00	19,2	0,061	8,2	20	1027	37

Nota: In entrambe le tabelle i margini di incertezza dei dati, dovuti alle sensibilità degli strumenti usati, sono: ammoniaca/ammonio $\pm 0,01$ mg/l, nitrato $\pm 0,1$ mg/l, nitrito $\pm 0,001$ mg/l, pH $\pm 0,1$, temperatura $\pm 1^\circ\text{C}$, densità ± 1 Kg/m³, salinità $\pm 1\%$.

4.3 Conclusioni riguardo alle analisi chimico-fisiche dell'acqua

Dai risultati delle analisi dell'acqua del Sistema Blu, i parametri monitorati risultano costanti e su valori ottimali, lungo tutto il periodo di stage. Le variazioni più significative riguardano le concentrazioni di nitrato: il valore particolarmente basso registrato in data 13 luglio 2010 è dovuto a un cambio dell'acqua del sistema, avvenuto due giorni prima. La concentrazione di nitrato, benché entro i limiti di possibile tossicità, è generalmente abbastanza elevata: ciò è dovuto alla presenza di molti animali nel Sistema Blu, la maggior parte dei quali adulti di squalo gattopardo, oltre agli adulti di squalo gattuccio. Anche il nitrito è elevato, ma non abbastanza da raggiungere concentrazioni potenzialmente pericolose. L'ammoniaca/ammonio, invece, è sempre assente.

Anche i parametri del Sistema Mediterraneo Grande sono pressoché costanti durante tutto il periodo in cui sono stati monitorati. E' da notare come le concentrazioni di nitrato e nitrito siano sensibilmente più basse rispetto al Sistema Blu: nel Sistema Mediterraneo Grande, infatti, durante il periodo di stage, due delle sei vasche erano vuote, in una erano presenti le uova di gattuccio in accrescimento e nelle ultime tre erano presenti non più di venti pesci (pagina 8), tutti di piccole dimensioni.

Dal resoconto delle analisi chimico-fisiche risulta perciò che in entrambi i sistemi sono presenti buone condizioni ambientali, e l'inquinamento da composti azotati è minimo, anche nel Sistema Blu, nonostante vi siano allevati molti animali.

4.4 Tabella 3: resoconto degli squali gattucci adulti

Durante il periodo di stage ho raccolto, fotografato e catalogato 18 uova, di cui una è giunta fino alla schiusa. Tutte le uova sono state deposte dalle femmine presenti nella zona “quarantena” dell’acquario. La tabella riporta i dati completi dei gattucci adulti oggetto di stage.

Tabella 3 – Resoconto degli squali gattucci adulti		
n. Esemplare	Sesso	TL^[4] (cm)
1	Maschio	39
2	Femmina	42
3	Maschio	37
4	Femmina	45
5	Femmina	46
6	Femmina	36
7	Maschio	46
8	Femmina	43
9	Maschio	47
10	Femmina	41
11	Maschio	40
12	Femmina	44

[4] TL= Total Length: lunghezza dell’esemplare dalla punta del muso all’apice del lobo superiore della pinna caudale

4.5 Tabella 4: resoconto delle uova deposte

Le 18 uova deposte dagli adulti nel periodo di stage sono state spostate in un’apposita vasca di accrescimento, è stato dato loro un numero identificativo e sono state fotografate. Nella tabella sono riportate le osservazioni fatte.

Tabella 4 – Resoconto delle uova deposte			
n. Embrione	Data Deposizione	Data di Nascita o TL (mm) alla data di morte	TL nascita (mm)
1	20-03-10	02-08-10	85
2	10-04-10	Morto, 43	-
3	10-04-10	Morto, 8	-
4	17-04-10	Morto, 8	-
5	21-04-10	Mai Sviluppato	-
6	10-05-10	Mai Sviluppato	-
7	31-05-10	Mai Sviluppato	-
8	31-05-10	Mai Sviluppato	-
9	18-06-10	Mai Sviluppato	-
10	18-06-10	Mai Sviluppato	-
11	18-06-10	Morto, 4	-
12	18-06-10	Morto, 40	-

13	04-07-10	Mai Sviluppato	-
14	04-07-10	Mai Sviluppato	-
15	12-07-10	Mai Sviluppato	-
16	12-07-10	Morto, 9	-
17	26-07-10	In Crescita, 9	?
18	26-07-10	In Crescita, 9	?

I dati riguardanti l'accrescimento embrionale sono stati aggiornati l'ultima volta in data 14-09-10, perciò l'indicazione che gli embrioni denominati n.17 e n.18 sono in crescita e la relativa lunghezza si riferisce a tale data.

4.6 Tabella 5: accrescimento embrionale

Le foto delle teche sono state usate per ricavare la lunghezza effettiva dell'embrione in crescita, tramite il software PHOTOSHOP CS3®. Tre embrioni sono cresciuti abbastanza per seguirne lo sviluppo; i dati sono stati aggiornati ogni settimana, e inseriti nella tabella 5.

Tabella 5 – Resoconto accrescimento embrionale			
Giorni di Vita	TL (mm)		
	Embrione n.1	Embrione n.2	Embrione n.12
0	Non misurabile	Non misurabile	Non misurabile
3	Non misurabile	Non misurabile	Non misurabile
10	Non misurabile	Non misurabile	Non misurabile
17	2-3	2-3	2-3
24	4	4	4
31	7	8	7
38	10	11	10
45	13	13	12
52	17	17	16
59	22	23	22
66	27	27	26
73	31	32	31
80	36	38	36
87	42	43	40
94	50	Morto	Morto
101	59	-	-
108	64	-	-
115	67	-	-
122	68	-	-
129	69	-	-
136	Nato, 85	-	-

4.7 Conclusioni riguardo alla crescita embrionale

Confrontando i dati bibliografici riguardanti la maturità sessuale con gli individui adulti di squalo gattuccio allevati in acquario (tabella 3), risulta difficile stabilire con esattezza quali esemplari siano maturi sessualmente: lo sono sicuramente i maschi n.7, n.9 e le femmine n.4. e n.5. Riguardo gli altri esemplari c'è un margine di incertezza: poiché le fonti bibliografiche stimano il raggiungimento della maturità sessuale tra i 39 e i 44 cm di lunghezza, e considerando possibili differenze nella velocità di sviluppo dei vari gattucci, non è stato possibile, tramite un controllo visivo degli apparati genitali, stabilire con certezza quali esemplari siano attivi sessualmente e quali no. Poiché le uova raccolte non sono state deposte da una sola femmina, ce n'è almeno un'altra attiva sessualmente. Non è possibile inoltre stabilire né la maternità né la paternità di nessuna delle uova, poiché gli atti riproduttivi e la deposizione in questa specie avvengono generalmente nelle ore notturne e durante lo stage non ho assistito a nessun atto riproduttivo.

Durante il periodo compreso tra maggio 2010 e metà settembre 2010, le femmine di gattuccio hanno deposto 18 uova. Di queste, soltanto in una (tabella 4) l'embrione si è sviluppato completamente ed è avvenuta la schiusa. Delle altre 17 uova, due contengono embrioni in crescita e in 15 non si è sviluppato l'embrione, oppure è morto nel corso dello sviluppo. In 9 di queste uova l'embrione non si è sviluppato abbastanza per essere visibile e misurabile: in questi casi, o l'uovo non era fecondato, oppure l'embrione è morto nelle ore immediatamente successive alla deposizione. Perciò, nella metà dei casi non è stato possibile verificare l'effettiva presenza dell'embrione, quindi non è possibile stabilire se l'uovo fosse fecondato o meno.

Infine, in 6 uova, l'embrione ha iniziato a svilupparsi, ma è deceduto prima di raggiungere il completo sviluppo. Di queste uova, in quattro casi l'embrione è morto prima di raggiungere il centimetro di lunghezza e solo due embrioni (tabella 5) sono riusciti ad arrivare a circa metà dello sviluppo, prima di morire.

Il tasso di mortalità degli embrioni è molto elevato: non si sono sviluppati o sono morti durante la crescita 15 embrioni su 18 uova deposte. Il gattuccio, come gli altri *Elasmobranchii*, investe molte risorse nelle uova (nel caso specifico il tuorlo e la teca cornea) e il numero di uova deposte in un anno è molto basso, se paragonato al numero di uova prodotte dai pesci ossei: ci si aspetterebbe, perciò, un tasso di mortalità molto più basso, rispetto a quello riscontrato. La causa, o le cause di

morte degli embrioni, soprattutto di quelli in fase avanzata di sviluppo (n.2 e n.12), non sono facilmente identificabili.

Tuttavia, confido di aver fornito agli embrioni ottimali condizioni ambientali in cui svilupparsi: i parametri chimico-fisici della vasca di allevamento sono rimasti costanti, su valori ottimali, per tutta la durata dello stage, e gli embrioni non hanno subito manipolazioni.

Sono propenso a pensare che un tasso di mortalità così elevato si potrebbe spiegare considerando gli adulti: nessuno di essi era maturo sessualmente prima di quest'anno. Per ogni femmina e ogni maschio attivi sessualmente, si tratta delle prime uova deposte. Questo mi porta a ipotizzare che le uova prodotte da squali gattuccio appena diventati maturi sessualmente abbiano un tasso di mortalità particolarmente alto, che poi si riduce col passare dei mesi e degli anni. Se così fosse, ci si aspetterebbe che nei prossimi anni gli squali gattuccio dell'acquario di Milano producano uova con un tasso di sopravvivenza nettamente maggiore.

Non è stato possibile ottenere dati abbondanti riguardo al tasso di accrescimento degli embrioni, poiché solo tre di essi hanno superato il centimetro di lunghezza, e uno soltanto è arrivato alla schiusa. In quest'ultimo, la crescita è stata costante, di 3-4 mm ogni sette giorni, dalla quarta alla dodicesima settimana di vita. Il tasso di crescita è aumentato dalla dodicesima alla sedicesima settimana, attestandosi a 6-8 mm ogni sette giorni. Nelle ultime quattro settimane prima della schiusa, quando l'embrione aveva ormai assorbito quasi tutto il tuorlo e raggiunto le dimensioni fisiologiche, il tasso di crescita è sceso a 1-2 mm ogni sette giorni.

Infine, la misurazione effettuata il giorno successivo alla schiusa, avvenuta dopo poco meno di 20 settimane, mostra come l'embrione si sia allungato improvvisamente. Si tratta di un fenomeno comune a molti animali che nascono da uova con un involucro rigido: il neonato si stiracchia, allungandosi e raggiungendo la lunghezza effettiva, che non poteva raggiungere all'interno della teca.

5. Bibliografia

- Compagno, L.J.V.** 1984. FAO species catalogue. Vol. 4. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2 - Carcharhiniformes. FAO Fish. Synop. 125(4/2):251-655.
- Compagno, L.J.V.** 1999. Systematics and body form. In W.C. Hamlett (ed.), *Sharks, Skates and Rays: The Biology of Elasmobranch Fish*. John Hopkins University Press, Baltimore and London. Pp. 1-42.
- Dobson, S. and Dodd, J.M.** 1977. The role of temperature and photoperiod in the response of the testis of the dogfish, *Scyliorhinus canicula*, (L.) to partial hypophysectomy (ventral lobectomy). *General and Comparative Endocrinology* 32: 114-115.
- 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.
- Michael, S.W.** 2001. *Aquarium Sharks & Rays: An Essential Guide to Their Selection, Keeping, and Natural History* Hardcover, ISBN#1890087572.
- Untergasser, D.** 1999. *Malattie dei pesci d'acquario: diagnosi e trattamento*. Primaris, ISBN#8885029493. Pag. 128.