## ALMA MATER STUDIORUM UNIVERSITA' DI BOLOGNA

# FACOLTA' DI SCIENZE MATEMATICHE FISICHE E NATURALI

Corso di laurea magistrale in BIOLOGIA MARINA

# Andamenti temporali, display comportamentali, attività respiratoria e profili endocrini in *Odobenus rosmarus* presso l'Oceanogràfic di Valencia

Relatore: Presentata da:

Prof.ssa Elena Fabbri Dario Nardi

Correlatori:

Prof. Pier Attilio Accorsi

Dott.ssa Raffaella Tizzi

(I sessione)

Anno accademico 2012/2013

# *INDICE*

1. INTRODUZIONE	7
1.1 I PINNIPEDI	7
1.2 EVOLUZIONE e DERIVAZIONE TASSONOMICA	9
1.3"Odobenus rosmarus divergens"	10
1.3.1 TASSONOMIA e CENNI GENERALI	10
1.3.2 DISTRIBUZIONE e HABITAT	11
1.3.4 MORFOLOGIA	13
1.3.5 RIPRODUZIONE	21
1.3.6 ASPETTI ETOLOGICI	21
1.4 ORIGINI e STORIA DELL'ETOLOGIA	24
1.4.1 BASI DELLO STUDIO ETOLOGICO e	
FORMULAZIONE DI UN ETOGRAMMA	28
1.5 ENDOCRINOLOGIA	31
1.5.1 LE GHIANOLE SURRENALI	31
1.5.2 GLUCORTICOIDI E RESISTENZA ALLO STRESS	34
1.5.3 ORMONI SESSUALI	37
1.5.3.1 TESTOSTERONE	37
1.5.3.2 PROGESTERONE	39
2. OBIETTIVI	43
3. MATERIALI E METODI	45
3.1 LUOGO DI STUDIO	45
3.2 SOGGETTI STUDIO	47
3.3 INDAGINE ETOLOGICA, REALIZZAZIONE DEL	
CATALOGO COMPORTAMENTALE	
E DELL'ARCHIVIO VIDEO	49
3.4 ORGANIZZAZIONE TEMPORALE	50
3 5 OSSERVAZIONE DELL'ATTIVITÀ RESPIRATORIA	51

3.6 PRELIEVO DEI CAMPIONI SALIVARI	51
3.7 ANALISI DI LABORATORIO	53
4. RISULTATI	57
4.1 STUDIO COMPORTAMENTALE	57
4.2 QUANTIFICAZIONE ETOLOGICA	66
4.3 NUOTO	76
4.3.1 POSIZIONE DI NUOTO	76
4.3.2 VELOCITA NUOTO	81
4.4 STAZIONAMENTO	85
4.5 VALUTAZIONE DEI COMPORTAMENTI SOCIALI	88
4.5.1 COMPORTAMENTI AFFILIATIVI	92
4.5.2 COMPORTAMENTI AGGRESSIVI	94
4.5.3 COMPORTAMENTI SESSUALI	96
4.6 ANALISI CONTATTIATTIVI E PASSIVI	98
4.7 ANALISI TUNKRUB	101
4.8 ANALISI GENERALE DEL TEMPO SPESO	
4.9 ANALISI DEI PARAMETRI RESPIRATORI	108
5. STUDIO DEI VALORI ORMONALI	111
5.1 QUANTIFICAZIONE DEI LIVELLI ORMONALI	111
5.2 CONFRONTO TRA MODULI COMPORTAMENTALI	
E LIVELLI ORMONALI	115
5.2.1 CORRELAZIONI TRA CORTISOLO E MODULI	
COMPORTAMENTALI DI YURI	115
5.2.2 CORRELAZIONI TRA CORTISOLO E MODULI	
COMPORTAMENTALI DI TANIA	118
5.2.3 CONFRONTO TRA TESTOSTERONE E MODULI	
COMPORTAMENTALI DI YURI	121
5.2.4 CONFRONTO TRA PROGESTERONE E MODULI	
COMPORTAMENTALI DI TANIA	124

5.2.5 CONCENTRAZIONI EMATICHE	127
6. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	129
7. BIBLIOGRAFIA	141

#### 1. INTRODUZIONE

#### 1.1 I PINNIPEDI

I Pinnipedi fanno parte di una superfamiglia di Mammiferi Carnivori suddivisa nelle famiglie Otariidae, Phocidae, Odobenidae: la prima comprende le otarie o leoni marini, divisi in 14-16 specie. L a famiglia Phocidae comprende 19 specie le cui popolazioni in totale rappresentano il 90% dei pinnipedi esistenti. I *pinnipedi* rappresentano il ramo evolutivo che, seppur non arrivi al grado di specializzazione dei cetacei, ha portato a uno spiccato adattamento all'ambiente marino. I loro rapporti filogenetici con i Carnivori, come pure la condizione monofiletica o difiletica del gruppo, sono stati oggetto di lunghi studi. Alcuni ritengono che le foche derivino dai Mustelidi, e le otarie dagli Ursidi; altri studiosi invece, basandosi su dati di tipo cariologico, sostengono l'unitarietà del gruppo. Sono comunque divisi nelle due linee maggiori dei Focidi e degli Otaridi, i primi meglio adattati al nuoto, i secondi più abili nella locomozione a terra grazie alla diversa posizione degli arti anteriori e posteriori. La famiglia degli Odobeni di forma una linea evolutiva a se stante e comprende attualmente il solo "Odobenus rosmarus" comunemente chiamato tricheco. Quindi, i dati paleontologici, indicano per i Pinnipedi una duplice origine: i Focidi, comparsi nel Miocene medio, circa 15 milioni di anni fa versante atlantico del Nord America, probabilmente derivano dagli stessi antenati degli odierni Mustelidi. Gli Otarioidei, invece, si sono originati nel Miocene inferiore, circa 22 milioni di anni fa,da Carnivori terrestri affini agli Ursidi nel versante pacifico del Nord America. Il nome di tale famiglia deriva quindi dal loro adattamento al nuoto che ha indotto una trasformazione degli arti munendoli di una larga plica interdigitale che,

associata a un pollice notevolmente allungato, li trasforma inefficienti pinne. I pinnipedi hanno un corpo affusolato che appare più assottigliato nella parte del tronco, non è accentuato il restringimento a livello del collo e le sporgenze esterne sono quasi assenti per favorire una morfologia idrodinamica. L'orecchio esterno è assente per quanto riguarda foche e trichechi mentre soltanto nelle otarie è costituito da un modesto padiglione allungato. In queste due famiglie inoltre il pene è situato in una guaina interna che non forma protuberanze esterne. I capezzoli dei Pinnipedi (fatta eccezione della foca barbata e delle foche monache, che ne possiedono quattro come le otarie) sono rientrati e rasenti alla superficie del corpo e le mammelle formano uno strato di tessuto che si estende sul ventre e sui fianchi e anche in caso di allattamento non costituiscono protuberanze visibili.

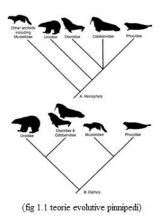
Per quanto riguarda l'apparato osseo, esso presenta strutture relativamente corte e contenute mostrando l'ascella e l'inforcatura rispettivamente a livello del polso e dell'anca. Le ossa delle pinne posteriori anteriori invece si presentano molto più allungate.

La meccanica natatoria è differente nelle otarie e nelle foche trovando una posizione intermedia nella tipologia di nuoto dei trichechi; Le otarie avanzano grazie ad un accentuato e vistoso movimento simultaneo delle natatoie anteriori, le foche invece sfruttano per l'attività di locomozione quasi esclusivamente gli arti inferiori agendo tramite colpi alternati delle natatoie e agevolando il nuoto tramite oscillazioni laterali del tronco e della regione caudale e le pinne anteriori sono tenute aderenti al corpo alloggiati in appositi incavi e possono fungere da "pagaie" nel nuoto lento accentuandone la precisione negli spostamenti in ambienti stretti.

Il tricheco invece usa come organo di propulsione principalmente le pinne posteriori e, data la stazza, l'atto natatorio è impacciato e sgraziato ma comunque efficace.

#### 1.2 EVOLUZIONE E DERIVAZIONE TASSONOMICA

Esistono due teorie evolutive principali riguardo all'evoluzione dei pinnipedi (fig 1.1): la prima, basata su studi biomolecolari e morfologici afferma che derivino da due linee evolutive ben distinte una che accomunerebbe le famiglie Odobenidae e Otaridaee l'altra da cui deriverebbe famiglia Phocidae (McLaren, 1960; la Tedford, 1967; Muizon, 1982). La seconda teoria considera questa superfamiglia derivante da un unico antenato e dunque monofiletica.(Wyss,1987;Berta e Wyss, 1994). Tuttavia la teoria più accreditata rimane quella della linea monofiletica che, basando le sue tesi sempre su specifici studi e analisi genetiche ha stabilito che l'antenato è un caniforme strettamente imparentato con gli attuali orsi e che Obenidi e Otaridi si separarono dai Focidi all'incirca tra i 20 e 26 milioni di anni fa, mentre Obenidi e Otaridi si separarono tra di loro tra i 15 e i 20 mil ioni di anni fa.



Sebbene in passato gli Odobenidi costituissero una famiglia molto numerosa ed espansa, che si suddivideva nelle sottofamiglie dei Dusignatini, Imagotarini e Obenidi, attualmente la famiglia *Odobenidae* è costituita solo dal genere *Odobenus* di cui fa parte il solo *Odobenus* rosmarus o tricheco comune.

#### 1.3 "Odobenus rosmarus divergens"

#### 1.3.1 TASSONOMIA e CENNI GENERALI:

Attualmente sono identificate due sottospecie : *Odobenus rosmarus divergens*, ovvero il tricheco del Pacifico (Illiger,1815) e *Odobenus rosmarus rosmarus*, il tricheco dell'Atlantico (Linnaeus, 1785). Ciò che li contraddistingue geneticamente e di poco conto indicando quindi un flusso genico molto scarso ma una separazione delle due linee evolutive relativamente recente stimata tra i 500.000 e i 780.000 anni fa. L'ipotesi più accreditata riguardo a questa separazione filetica è quella che suppone, in base a prove fossili, che il tricheco sia discendente da un antenato comune stabilitosi nella zona tropicale o subtropicale e che rimase successivamente isolato e costretto quindi ad adattarsi ai rigidi climi Antartici. Si ritiene che da quest'area geografica abbia poi ricolonizzato l'area del Pacifico settentrionale durante le glaciazioni del Pleistocene.

Il tricheco è quindi l'unico rappresentante della famiglia degli Odobenidae e Odobenus. I trichechi sono distribuiti in maniera discontinua nel mar glaciale Artico e nella zona sub artica dei mari del nord. *Odobenus rosmarus* trova il suo habitat prediletto nelle acque basse oceaniche, passando una notevole quantità del suo tempo sulle distese di mare ghiacciato e alla ricerca dei molluschi bivalvi bentonici nelle acque antistanti. I trichechi hanno svolto un ruolo fondamentale nello sviluppo economico e sociale di innumerevoli culture e popoli indigeni della regione artica che hanno cacciato ed utilizzato il tricheco per la sua carne, il suo grasso, la pelle, le ossa e le zanne. Nel diciannovesimo secolo e all'inizio del ventesimo, il tricheco è stato oggetto di un pesante sfruttamento commerciale per il suo grasso e per l'avorio delle sue zanne provocando una rapida diminuzione del numero della loro popolazione.

Attualmente il numero di individui a livello mondiale è in ripresa, anche se costantemente minacciato.

A livello tassonomico la parola tricheco deriva dal greco " $\tau \rho \iota \xi$ " "pelo"e " $\epsilon \chi \omega$ " "ho" che è un chiaro riferimento alla manto peloso di cui è dotata questa specie per proteggersi dalle rigide temperature degli habitat da cui proviene.

#### 1.3.2 DISTRIBUZIONE e HABITAT:

La tendenza principale questa specie nella scelta dell'habitat è quella di distribuirsi fondamentalmente in zone dove la superficie marina è ricoperta per lo meno dall'80% da *pack* (strato di ghiaccio marino derivante dallo sgretolamento della banchisa) di spessore superiore ai 20 cm adatto a lasciare piccole aree di ghiaccio per l'attività respiratoria.

La scelta di *Odobenus rosmarus* riguardo agli ambienti da colonizzare dipende dalla piattaforma continentale che si espande sotto la massa d'acqua oceanica limitrofa alle coste; è dunque facilmente intuibile che effetto possano avere le variazioni stagionali del fronte ghiacciato sull'ecologia, le abitudini e la distribuzione di questa specie. Le regioni di maggior assembramento di questa specie nei differenti periodi dell'anno comprende gran parte della regione artica e del territorio boreale dove la temperatura media varia da -15 °C a + 15 °C, con oscillazioni che arrivano fino a temperature di -35 °C delineando un range climatico caratterizzante della specie che ne stabilisce i confini geografici (Fay&Ray,1968).

Odobenus rosmarus divergens è individuabile nella zona nord dell'oceano pacifico nelle regioni che fanno parte di Alaska e Russia in particolare a sud della baia di Bristol nel mare di Bering sulle coste della regione del

Kamcatka, nel mare di Beaufort e nella zona est del mare siberiano (Fig. 1.2).



(fig. 1.2 distribuzione geografica)

I rappresentanti di questa specie compiono una migrazione attraverso lo stretto di Bering dipendente dalla variazione dell'estensione dei ghiacci; l'intero percorso viene effettuato per la maggior parte del tempo in acqua, e in buona parte tramite il trasporto passivo effettuato sulle lastre di pack, su cui gli animali trovano riposo, che vengono spinte verso nord dai forti venti e dalle correnti.

Invece la specie *Odobenusrosmarus rosmarus*, è situata nella parte nord dell'oceano Atlantico dove sono state osservate otto popolazioni distinte tre delle quali ad est della Groenlandia e cinque localizzate a ovest, quest'ultima popolazione conta sino a 100.000 esemplari ed a est conta poche migliaia di individui distribuiti in tre subpopolazioni.

L'unione mondiale per la conservazione della natura afferma che la mortalità è in costante aumento e che questa specie, a causa del surriscaldamento globale, la costante diminuzione delle zone costiere utilizzabili da questi animali, la conseguente diminuzione dei ghiacci polari, il sovrasfruttamento ittico e la caccia (nonostante sia vietata), è in costante declino (Kovacs, 2011). Inoltre la creazione di modelli predittivi

basati sulle variazioni nell'estensione dei ghiacci artici registrate negli gli anni 80, affermano che nei periodi estivi la sezione di mare ghiacciato diminuirà la sua estensione e che i ghiacci invernali tarderanno sempre più a ricrearsi con duratura e notevole ripercussione sulle popolazioni di questa specie in quanto gli stili di vita sono strettamente legati a quest'ambiente. I rapidi cambiamenti climatici possono essere affrontati in differenti modi: estinzione totale, dispersione o adattamento dipendente dalla conformazione anatomica comportamentale e fisiologica (Hof., 2011; Ashjian & Smith, 2006; MackCracken, 2012).

Infine i fattori che regolano le dinamiche di popolazione degli Odobenidi non sono ancora del tutto chiare, la causa principale è la poca conoscenza dei cicli vitali e dei fattori importanti come tassi di riproduzione e l'aspettativa di vita (Jay., 2011).

#### 1.3.4 MORFOLOGIA:

Tra tutti i pinnipedi, gli unici a superare i trichechi in quanto a dimensioni sono i soli maschi di elefante marino. Essi presentano una forma generalmente tozza, il diametro toracico arriva addirittura a eguagliare quasi la lunghezza corporea totale (deBeaux, 1949), presentano un muso molto accorciato e la testa relativamente piccola, il padiglione auricolare è mancante.

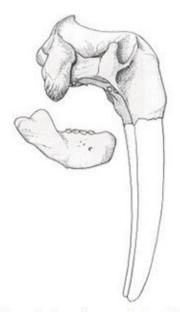
Il maschio può raggiungere un peso maggiore rispetto alle femmine del 15-20% e gli adulti generalmente hanno una lunghezza corporea media di 3,2 m e i vecchi esemplari di maschio possono arrivare a misurare fino a 4,5 m, e pesare fino a 1600 kg. Le femmine invece arrivano a raggiungere i 2,7 m e pesare fino a 850 kg. In entrambi i sessi si ha un picco dello sviluppo tra i 4/5 anni di vita, successivamente i maschi raggiungono il picco maggiore

intorno ai 7/9 anni mentre le femmine intorno ai 10 anni; tuttavia alla nascita maschi e femmine hanno dimensioni e peso molto simili, stimati intorno al 35/40% del peso da adulti, potendo arrivare fino a 75 kg alla nascita. I maschi inoltre già nei primi mesi di vita raggiungono un tasso d'incremento ponderale maggiore delle femmine aumentando la loro lunghezza di 10/15 cm al mese e potendo raddoppiare il loro peso in cinque mesi.

Tra le principali caratteristiche che distinguono i pinnipedi dagli altri appartenenti all'ordine dei carnivora sono l'ampiezza del forame infra orbitale, la conformazione delle ossa appendicolari e la conformazione tipica del cranio. L'osso che costituisce la mascella contribuisce significativamente alla formazione dell'orbita oculare. Rispetto ai carnivori terrestri la conformazione dell'omero è più piccola e robusta e dotata di inserzioni muscolari quali la testa omerale. Il dito I delle pinne anteriori è allungato mentre le pinne posteriori sono caratterizzate dalla presenza del I e V dito molto più lunghi delle altre dita presenti sullo stesso arto. Ma la caratteristica più evidente del genere *Odobenus* è il tipico sviluppo accentuato dei canini superiori che arrivano a formare delle vere e proprie zanne che nelle femmine tendono a essere meno sviluppate mentre nei maschi sono più lunghe e spesse possono raggiungere 1 m di lunghezza e pesare fino a 5,4 kg. Vengono utilizzate per combattere e durante le dimostrazioni di forza e aggressività, infatti, i gruppi sociali sono dominati per lo più dai maschi di stazza più robusta e dotati quindi di zanne più grosse. Le zanne sono anche utilizzate per creare e allargare cavità nel ghiaccio necessarie per la respirazione e sono molto utili all'animale nell'atto di fuoriuscita dall'acqua servendo da veri e propri ramponi utilizzati per trascinarsi sul ghiaccio. Studi recenti hanno dimostrato che le zanne non sono utilizzate per scavare e dissotterrare le prede dal fondo marino come si pensava un tempo, è invece il margine anteriore del muso

che è utilizzato per scavare. Le zanne sono costituite da dentina rivestita da un sottile strato di cemento distinto da quelle

degli altri mammiferi proprio dalla struttura della dentina centrale. L'arco buccale si presenta relativamente piccolo e delimitato lateralmente dalle zanne, la conformazione del palato è di natura concava da permettere così alla lingua di creare una pressione negativa all'interno della cavità orale e riuscire ad estrarre le parti molli delle prede. I moltissimi meccano-recettori presenti sulla lingua si sono sviluppati per l'identificazione e il posizionamento dell'alimento all'interno della bocca (Kastelein, 1997). Sebbene la dentatura dei trichechi differisca parecchio, essi possiedono solamente pochi denti, la formula dentaria completa consta di 38 denti ma nel 50% degli animali si ha una dentatura variabile e il numero massimo di denti viene raggiunto raramente. Comunemente la dentatura tipica del tricheco comprende solo 18 denti: i due canini superiori (fig. 1.3) sono sempre presenti i molari possono essere uno o due mentre i premolari possono essere da uno a quattro per emiarcata.



(Fig.1.3 particolare di mascella/mandibola)

Negli esemplari selvatici i premolari e i molari presentano una punta arrotondata a causa del continuo movimento di substrato marino all'interno della bocca durante l'alimentazione (Fay, 1985) mentre gli esemplari tenuti in ambiente artificiale e alimentati a mano hanno denti appuntiti; in cattività risulta molto difficile preservare l'integrità delle zanne che possono facilmente andare incontro a fratture o lesioni provocate dal continuo attrito con materiali artificiali. Queste strutture hanno una crescita bilanciata e continua conseguente all'usura (Kastelein, 2009; Fay, 2009).

Durante l'atto di masticazione non vi è triturazione dell'alimento, infatti, i muscoli masticatori non sono molto sviluppati preferendo ingoiare le prede intere. Invece i muscoli facciali e delle guance sono estremamente sviluppati in modo da permettere al tricheco di produrre potenti getti di acqua per eliminare il substrato che nasconde i bivalvi di cui si nutrono (Kastelein & Gerrits, 1990); l'evoluzione di metodi di alimentazione così efficienti deriva dalla necessità di consumare quantità enormi di invertebrati per garantirsi la sopravvivenza, un tricheco adulto arriva a consumare almeno 25 chili di bivalvi al giorno.

I trichechi sono dotati inoltre di 450 vibrisse a crescita continua. Quest'organo di senso è localizzato sul labbro superiore e risulta alla vista giallastro e traslucente, con sezione ovale, superficie liscia e lunghezza variabile che può superare i 15 cm in cattività mentre in ambiente naturale, data l'usura, si mantiene entro lunghezza di 15 cm. Per ogni vibrissa è presente una capsula di tessuto connettivo che ne racchiude la radice e sulla quale vi sono inserzioni di piccoli fasci di muscolatura striata. La capsula è dotata di bulbo circondato da organi di senso per la percezione degli stimoli esterni donando a questi organi una grande sensibilità; la muscolatura presente per ogni singolo bulbo permette la mobilità sia delle singole vibrisse sia della loro totalità. La funzionalità delle vibrisse è quella di esaminare e manipolare piccoli oggetti, riuscendo a distinguerne fino agli 0,4 cm cubici, questo tipo di capacità risulta essenziale nel caso di alimentazione in notturna e a basse profondità risultando fondamentale per

la predazione. Ciò che dona questo elevato grado di sensibilità è la peculiare innervazione che presenta l'organo in questione. Tra le altre specializzazioni per l'atto alimentare è possibile annoverare le lunghe apnee che durano anche fino a 24 minuti anche se la media generale rimane intorno ai cinque minuti. La durata dell'immersione varia a seconda del tipo di alimento, della profondità alla quale si trova e della concentrazione dello stesso sul fondale (Wiig., 1993). L'80% del tempo passato in immersione viene trascorso sul fondale in modo da permettere di ingerire fino a 40/60 prede per immersione.

all'enorme sviluppo dei canini superiori, il cranio presenta caratteristiche distintive rispetto ad altri pinnipedi :la forma risulta rettangolare per il maggior sviluppo dell'apparato mascellare, inoltre, i maschi sono dotati di un osso frontale più ampio (Gerrits., 1990) e la conformazione generale risulta massiccia e pesante. La zona dello zigomo presenta una striscia cartilaginea utile ad attutire colpi delle zanne sullo strato di ghiaccio e a ridurre in questo modo le vibrazioni che raggiungono il cranio. La cavità orbitale non è chiusa all'interno del cranio, in modo da dotare i trichechi di grande mobilità oculare, conseguenza anche del grande sviluppo del muscolo retrattore dell'orbita. I trichechi sono dotati di robuste palpebre avvolte da grasso e vasi sanguigni che assicurano all'area oculare una costante protezione dagli agenti atmosferici e dalle basse temperature. Riguardo alla capacità uditiva è stato provato che i trichechi riscontrano difficoltà nel percepire la provenienza dei suoni. Infatti nel range di frequenza compreso tra i 125 Hz e gli 8 kHz la loro sensibilità uditiva risulta molto minore rispetto a quello umana, mentre la capacità uditiva subacquea raggiunge il limite di 16 kHz. La metodologia della ricerca del cibo e il loro comportamento sulla terraferma e sul ghiaccio fanno intuire che questi animali siano anche dotati di un'alta sensibilità olfattiva che gli permette di ottenere importanti informazioni riguardo all'ambiente circostante. (Kastelein., 2009).

L'apparato respiratorio presenta alle sue estremità esterne superiori due ampie narici mobili che sono completamente sigillate durante l'immersione, la trachea percorre il torace arrivando fino ai due terzi della lunghezza polmonare per poi separarsi nei due bronchi principali; è inoltre dotato di anelli cartilaginei che si estendono lungo tutta la sua lunghezza. La trachea nei maschi adulti presenta un'elasticità elevatissima poiché manifesta la possibilità di formare delle vere e proprie sacche aeree capaci di estendersi in direzione caudo-laterale sulla spalla e sul collo. Queste sacche aeree sono utilizzate come cassa di risonanza per la produzione di suoni sia in mare aperto sia sulla terraferma, inoltre sono utilizzate per favorire il galleggiamento passivo in mare aperto permettendo all'animale di riposarsi pur rimanendo immerso nel mezzo acquatico.

Gli adattamenti della respirazione e degli apparati adibiti a essa sono volti a un perfetto adattamento all'acqua, infatti, i trichechi al momento dell'immersione effettuano un'azione di sigillamento delle narici che sono sotto controllo muscolare. Una volta in profondità esse rimarranno sigillate in conseguenza della pressione dell'acqua. Inoltre il palato molle e la lingua assumono una posizione tale da poter escludere la cavità boccale dalla laringe e all'esofago in modo da facilitare l'apertura della bocca in profondità, per esempio in caso di predazione.

Un ulteriore adattamento all'immersione è quello grazie al quale riescono ad aumentare la concentrazione di ossigeno nel sangue, praticando a questo scopo l'iperventilazione e avendo cura di non appesantire in maniera eccessiva i polmoni onde evitare problemi di galleggiamento. Inoltre il sangue contiene una quantità di emoglobina molto elevata. Oltre all'emoglobina vi è un'altra essenziale proteina capace di trattenere e rendere più facile l'immagazzinamento dell'ossigeno: la mioglobina.

La mioglobina è una proteina molto simile all'emoglobina, entrambe sono proteine coniugate e sono accomunate anche dalla presenza del gruppo prostetico "eme" inserito nella porzione idrofobica o lipofila delle proteine. La struttura presenta una conformazione globulare ed è costituita da una singola catena di circa 150 amminoacidi. La mioglobina è composta principalmente da segmenti di α-eliche delle proteine fibrose.

Il sistema circolatorio vanta un'elevata vascolarizzazione superficiale organizzata in plessi. Questa è la conseguenza di un adattamento alle ostili temperature degli ambienti artici che li hanno portati a sviluppare strategie di ritenzione e dispersione del calore sempre più specifiche. Inoltre il sistema circolatorio ha diverse particolarità: è dotato di un bulbo aortico molto sviluppato che presenta un diametro delle arterie femorali minore rispetto al diametro delle arterie succlavie, questo per garantire il flusso di sangue necessario alle specifiche masse muscolari che presentano una maggiore quantità di flusso sanguigno nella zona del collo e delle spalle rispetto all'area pelvica (Kastelein, 2009).

La pelle presenta numerosi tubercoli fibrosi atti a proteggere dai colpi inferti con le zanne durante le dispute tra i maschi. Questi tubercoli pare che completino il loro sviluppo nei maschi una volta raggiunta la maturità sessuale per questo, sono definiti come un carattere sessuale secondario, conseguenza di una stimolazione ormonale. La pelle presenta uno spessore irregolare che nei maschi (a livello delle vibrisse 4-5 cm) risulta maggiore rispetto alle femmine. I tubercoli possono raggiungere uno spessore di circa 1 cm e un diametro di 5-6 cm.

Una caratteristica tipica di trichechi è l'ingente quantità di grasso sottocutaneo che mostra variazioni secondo caratteristiche individuali e stagionalità, (Kastelein, 2009). L'età induce un cambiamento di colorazione della pelle, infatti, i piccoli appena nati sono di color grigio marrone e inoltre possiedono uno strato di pelo dello stesso colore, in seguito nelle

prime tre settimane di vita la pelle assume una colorazione più scura. Durante la crescita si ha una diminuzione della pigmentazione cutanea fino ad arrivare all'età avanzata in cui la pelle assume una colorazione tendente al bianco/beige, in fase di nuoto o nel momento dell'immersione il pallore di questi animali risulta ben evidente in quanto vi è una ischemia cutanea transitoria (Fay, 1985). In età adulta i trichechi raggiungono una colorazione marrone-giallo. La presenza di pelo molto ridotta e assume una distribuzione variabile nei differenti soggetti. In linea generale risulta assente sulle pinne e sui palmi (Kastelein, 2009).

L'apparato riproduttore maschile è dotato di testicoli ovali che presentano una lunghezza notevolmente maggiore rispetto al diametro e sono situati alla base del pene nel cosiddetto *blubber*. Il pene è posizionato in un'apposita tasca dotata di apertura che forma un rafe mediano visibile che congiunge l'apertura anale all'orifizio della sacca del pene.

Nell'apparato genitale femminile il vestibolo urogenitale ha la lunghezza di 15-20 cm e un diametro di 6 cm, e nelle vicinanze della sua determinazione vi è l'uretra. L'apparato prosegue con la vagina avente un diametro del tutto pari al vestibolo ed una lunghezza di 20-25 cm. Due cervici indicano la distinzione tra le porzioni più pregnanti della vagina bifida e le corna uterine che si sviluppano per 25 cm di lunghezza incurvandosi ventralmente verso le ovaie. Le ovaie sono contenute in una borsa avente una apertura posizionata all'altezza della terminazione uterina e avvolta all'estremità dell'ovidutto.

Infine l'apertura prepuziale si trova localizzata a ridosso del margine dell'apertura vestibolare contenente un clitoride con base ossea. Le femmine presentano un periodo di calore due volte all'anno nei periodo di febbraio e alla fine dell'estate.

#### 1.3.5 RIPRODUZIONE:

La maturità sessuale delle femmine è raggiunta all'incirca all'età di 10 anni, la prima ovulazione invece può presentarsi ad un'età che oscilla tra i 4 e i 12 anni. Le femmine di tricheco sono definite poliestrali. I maschi di *Odobenus* invece raggiungono un'età fertile a 5-7 anni e questo è dovuto ad uno sviluppo non del tutto completo dei tubuli seminiferi, e a una elevata competizione con gli esemplari più adulti.

Dopo alcuni giorni dalla fecondazione si forma la blastocisti, e la dimensione dell'embrione risulterà pari al 3-4% della lunghezza del neonato. La gestazione ha una durata media di 15-16 mesi, però la blastula, durante i primi 34 mesi attraversa una fase di sospensione dello sviluppo prima di impiantarsi in maniera definitiva nella placenta, questa strategia è denominata ad "impianto ritardato" ed è stata sviluppata in seguito a condizioni ecologiche avverse. La specie *Odobenus rosmarus* è solita dare alla luce un esemplare nel il periodo che va da aprile a giugno; i neonati nascono dunque durante la migrazione primaverile, il loro peso alla nascita si aggira tra i 45-75 kg e è stata osservata, già subito dopo la nascita la capacità di nuotare. Nelle fasi successive al concepimento, le madri si prenderanno cura della loro prole per più di un anno allattandola fino allo svezzamento, e poiché l'ovulazione è sospesa durante tutto il periodo di allattamento, i piccoli rimangono con la madre fino all'età di 3/5 anni.

#### 1.3.6 ASPETTI ETOLOGICI:

La specie *Odobenus rosmarus* è considerata dagli studiosi tra le tipologie con tendenze gregarie più spiccate, infatti trascorre gran parte del loro tempo in aggregazioni di decine animali che possono arrivare fino ad alcune centinaia o addirittura migliaia di unità, la zona di aggregazione è il pack ghiacciato, spiaggia di ciottoli e sassi e coste rocciose. In queste determinate zone si svolgono tutte le attività della vita sociale dei trichechi tra cui il corteggiamento e l'accoppiamento e tutte le fasi che lo precedono inclusa la lotta per la conquista di una determinata area e il conseguente accoppiamento da parte del maschio di tutte le femmine presenti nell'area che possono arrivare a un numero compreso tra i 50 e i 70 esemplari. Come gran la parte delle specie animali, la scelta del luogo è fortemente influenzata dalla presenza di alimento. La maggior parte del tempo trascorso al di fuori dell'acqua è dedicato al riposo il quale si svolge in agglomerati che possono arrivare a raggiungere decine di centinaia di unità e che possono dissolversi o radunarsi estremamente rapidamente. Inoltre gli esemplari di maschio adulto, dotati delle caratteristiche zanne, ingaggiano violenti combattimenti che possono coinvolgere fino a un numero di 20 o 30 esemplari, questi hanno luogo per la conquista del posto più centrale dell'agglomerato in modo da assicurarsi la posizione più confortevole e riscaldata possibile. Infatti la tendenza alla ricerca del contatto con altri animali o l'assunzione della posizione fetale negli esemplari di cucciolo di tricheco fanno parte degli adattamenti e comportamenti atti ad assicurare la giusta termoregolazione e quindi la sopravvivenza.

L'apprendimento di tali comportamenti è soggetto a numerosi studi, infatti vi è una linea teorica secondo la quale tali comportamenti siano attuati come conseguenza diretta dell'imitazione degli adulti da parte dei giovani esemplari, mentre un'altra teoria afferma che tali comportamenti derivino da un'acquisizione innata e quindi automatica. Questo tipo di indole gregaria è ben riscontrabile anche nelle fasi che sus seguono il parto, infatti nei giorni subito dopo questo momento, gli esemplari di *Odobenus rosmarus*, tendono a raggrupparsi in agglomerati costituiti solamente da genitrici e cuccioli, i nursery.

I branchi sono costituiti da piccole famiglie di trichechi che si suddividono in gruppi costituiti da un unico esemplare maschio e da tre fino a 10 femmine protette da quest'ultimo.

I rapporti gerarchici all'interno del gruppo sono stabiliti da competizioni agonistiche intraprese tra gli esemplari maschi che utilizzano gran parte delle loro interazioni sociali a questo scopo. Lo scontro fisico tra due esemplari è suddiviso in fasi ben determinate; la prima fase è costituita da tutta una serie di comportamenti visibilmente aggressivi atti a spaventare ed intimidire l'avversario come, l'esposizione delle zanne, termina nel momento in cui nessuno dei due contendenti si ritira. Nella seconda fase, dove ha luogo il combattimento, la stazza corporea e la grandezza delle zanne costituiscono elementi principali per la vittoria infatti ai vertici gerarchici di questi assembramenti sono presenti gli esemplari più grossi e vistosi nonché i più aggressivi del gruppo. Di conseguenza i soggetti che presentano dimensioni corporee minori e zanne più contenute sono spesso soggetti a lesioni e tagli come conseguenza dello scontro con esemplari più grossi (Miller., 1975).

Sono note da tempo le caratteristiche migratorie di questa specie infatti essa ha la necessità di seguire l'andamento dei ghiacci durante il periodo estivo. Quando il ghiaccio si scioglie e si ritira l'istinto migratorio spinge il tricheco a spostarsi sempre più a Nord per poter ritrovare le condizioni più favorevoli alla sua sopravvivenza; nella stagione invernale quando la tendenza dei ghiacci è quella di espandersi verso sud il tricheco effettuerà lo stesso spostamento seguendoli. Durante queste migrazioni la specie è capace di coprire distanze che arrivano fino ai 3000 km, innestando un meccanismo di dispersione della specie nei periodi invernali e di concentramento nei periodi estivi.

Sono stati eseguiti numerosi studi anche per quanto riguarda le capacità acustiche dei trichechi. La maggior parte delle vocalizzazioni emesse fa

parte di un rituale di corteggiamento stereotipato, difatti tra le abitudini sessuali di questa specie,vi è quella secondo la quale, nei mesi invernali, le femmine formino degli assembramenti sulle coste costituendo dei veri e propri branchi davanti ai quali si esibiscono i maschi sfoggiando una lunga serie di vocalizzazioni e movimenti acquatici atti al corteggiamento delle femmine. Il processo di vocalizzazioni continua fino a quando alcuni esemplari di femmine si immergono. In contesti sociali come questo sono stati registrati differenti tipi di segnali aventi una frequenza media di 120 dB. (Verboon & Kastelein, 1995; Stiriling, 1987; Fay, 1982).

Anche la sopravvivenza dei piccoli di tricheco può essere messa in relazione alla capacità della madre di emettere vocalizzazioni e alla capacità del figlio di farsi a sua volta identificare, questo nel caso in cui si presenti la necessità di ricongiungersi in seguito alle separazioni necessarie alla madre per andare alla ricerca del cibo per il cucciolo (Charrier *et al.*, 2010).

#### 1.4 ORIGINI e STORIA DELL'ETOLOGIA:

Il primo ad usare il termine etologia fu il filosofo inglese John S. Mill nel XIX secolo; egli utilizzo questo termine nel contesto di studi sul comportamento umano ma in realtà il nome era già utilizzato dal naturalista francese Étienne Geoffroy Saint-Hilaire (1772-1844).

L'etologia è nata per fornire un approccio biologico allo studio del comportamento. Konrad Lorenz e Nikolaas Tinbergen sono comunemente definiti come i pionieri di questa materia e dunque anche i suoi fondatori, i loro studi hanno ottenuto nel 1983 il premio Nobel per la fisiologia e la medicina insieme a Karl von Frisch, lo scopritore del linguaggio della danza delle api.

Nel XIX secolo le collezioni zoologiche suscitarono l'interesse di moltissimi naturalisti e questo permise di raccogliere un elevatissimo numero di dati sul campo e di fornire evidenze empiriche di fenomeni biologici inconsueti.

In Germania lo studioso Oscar Heinroth ebbe un ruolo fondamentale nel fondare e sviluppare questa disciplina. Egli adottò metodologie rigorose e scientifiche apprezzate allo studio comportamentale degli animali intanto negli Stati Uniti iniziavano le proprie attività di ricerca, alcuni tra i più famosi psicologi comparati fra cui John Watson e Karl Lashley che concentravano i loro campi di ricerca sul comportamento degli uccelli nel loro habitat naturale e Wallace Craig che darà il suo contributo alla materia sviluppando attente e approfondite analisi nel comportamento di differenti specie di colombi (Dewsbury, 1984). Lorenz e Tinbergen iniziarono ad affacciarsi al comportamento animale come un qualsiasi altro aspetto dell'organismo di un soggetto studiato partendo dal presupposto che i moduli comportamentali mettono spesso in evidenza una schematicità che è diretta funzione delle necessità dell'individuo studiato: questo tipo di approccio costituì un passo fondamentale nel processo di integrazione di questa materia nel mondo della scienza. Benché ogni individuo sia un'entità sé stante e differente dagli altri in innumerevoli e determinate caratteristiche, quelli facente parte di una stessa famiglia e imparentate fra loro sono più simili rispetto ad altri individui non imparentati e poiché le somiglianze e le caratteristiche sono geneticamente ereditata, ogni vantaggio riproduttivo o inerente alla sopravvivenza è scaturito da un determinato comportamento in un determinato contesto che promuoverà nell'evoluzione della specie la diffusione di questa caratteristica e quindi di questo modulo nella popolazione fino a quando ogni individuo facente parte di queste famiglie lo adotterà a sua volta in quello specifico contesto naturale.

La necessità di riuscire a capire la funzionalità di un dato modulo comportamentale eseguito in ambiente naturale è stata la caratteristica principale della disciplina quando questa tipologia di approccio fu unita ad un'analisi comparativa intraspecifica. L'assunto semplicistico per il quale tutti gli animali risolvono lo stesso problema nel medesimo modo si rivelò ben presto falso.

Negli anni 50 Tinbergen esplicito quattro fondamentali questioni che si pongono ai biologi del comportamento (Manning e Dawkins, 1998):

- A) influenza sul tipo di comportamento: i meccanismi di dipendenza dei fattori esterni ed interni che regolano l'espressione dei processi che sono alla sua base;
- B) sviluppo del comportamento: inserimento dei fattori genetici e delle tipologie di influenze ambientali che può subire un determinato modulo comportamentale durante il corso della vita di un individuo e le modalità di azione dei processi di sviluppo;
- C) Funzione del comportamento: le modalità con cui un determinato comportamento aiuta a mantenere l'animale vivo e propagare i suoi geni alla generazione successiva;
- D) evoluzione del comportamento: la storia ancestrale e le modalità con cui un comportamento si è evoluto.

Queste quattro linee di ricerca si rivelano ben differenziate tra di loro: i punti A e B affrontano i meccanismi e sollevano la questione del "come" mentre i punti C e D riguardano gli aspetti adattativi e sollevano la questione del "perché": fondamentale soffermarsi sul fatto che la posizione degli etologi riguardo a questi temi è che non dovrebbero essere affrontati in maniera separata ma analizzati e considerati come facente parte di un unico studio (Manning e Dawkins 1998).

Attualmente lo studio del comportamento animale si rivela fondamentale per l'acquisizione e la comprensione di tutte le caratteristiche di una specie; sono stati infatti scoperti legami tra fisiologia del metabolismo e il comportamento così come interazioni tra stati comportamentali e il sistema immunitario inoltre le moderne tecniche molecolari hanno assunto un valore di rilevanza crescenti anche in questa disciplina. Nell'epoca moderna l'etologia può contare su un supporto di promettenti filoni di ricerca e moderne tecniche scientifiche grazie alle quali è stato ricostituito un approccio integrato alla biologia del comportamento. Le linee guida di questo metodo etologico moderno sono:

- 1) <u>comprensione del comportamento da più punti di vista</u>:
- a) ontogenetico: processi che influiscono sullo sviluppo del comportamento dell'individuo (Timbergen, 1963);
- b) causale: contesti e processi che provocano quel determinato comportamento (Timbergen, 1963);
- c) filogenetico: l'evoluzione del comportamento nella specie presa in esame (Timbergen, 1963);
- d) funzionale: comprensione del significato adattativo del comportamento e studio delle conseguenze immediate di tale comportamento sull' animale, sull'ambiente e sugli altri organismi che lo circondano.
- 2) <u>descrizione del comportamento:</u>lo studio dei processi tramite i quali gli individui rispondono agli stimoli provenienti dall'ambiente esterno (fisico e sociale) e agli stimoli proveniente da fattori interni e tramite i quali vi è una risposta comportamentale caratterizzata da forme semplici o da elaborati moduli comportamentali costituiti dalla somma di una articolata sequenza dei movimenti indipendenti.

Il ruolo principale dell'etologo odierno è volto dunque a descrivere il comportamento animale sulla base di un modello scientifico adibito a definire tutti i meccanismi di interazione interspecifica e intraspecifiche tramite l'integrazione multidisciplinare comprendente materie come

l'anatomia comparata, la genetica, la fisiologia, senza tracciare confini netti insuperabili tra queste discipline.

L'importanza nel ruolo dell'etologo sta dunque nel comprendere e identificare le connessioni socio biologiche tra i vari individui e l'ambiente in cui vivono per poter completare un quadro generale che costituisce parte integrante e aspetto fondamentale nello studio di una specie animale e dei rapporti che questa intraprende con gli individui della stessa specie di altre specie e con l'ambiente circostante.

### 1.4.1BASI DELLO STUDIO ETOLOGICO E FORMULAZIONE DI UN ETOGRAMMA:

La necessità di un'indagine quantitativa del comportamento era stata già considerata da Ch.-G. Leroy (1723-1789) e successivamente da H.S. Jennings (1868-1947) che nell'906, parlando di sistemi di azione, propose un inventario di comportamenti necessario a qualsiasi ricerca sul mondo animale (Eibs-Eibesfeldt 1995). Questa necessità trovò un'applicazione pratica e fondamentale nello studio del comportamento animale: con la costruzione di un etogramma. Questa pratica si basa sulla registrazione sistematica delle movenze e azioni di un animale di una data specie che vanno a costituire un catalogo comportamentale, il più completo ed esauriente possibile, che descrive i comportamenti allo stato naturale di questa specie con lo scopo di fornire una serie di dati quantitativi comprensibile comparabili con quelli di studi precedenti e successivi. E' dunque possibile per ogni specie definire un repertorio di ogni manifestazione comportamentale nel suo ambito naturale. I particolari del comportamento possono essere osservati nella loro completezza e interezza unicamente rimanendo a stretto contatto con l'animale e carpendone le

abitudini più comuni che caratterizzano la sua specie; uno dei problemi è la differenziazione tra osservazioni in stato naturale e quella in stato di cattività in quanto in quest'ultimo, parte degli individui, può manifestare diversamente un determinato modulo comportamentale oppure manifestare stereotipizzazioni del comportamento o addirittura è possibile che si venga ad eliminare un intero modulo comportamentale. Ogni ricerca ha inizio con la descrizione e la catalogazione dei fenomeni che ci si propone di studiare, tramite una lunga serie di note osservative dell'etologo e del ricercatore, registrazioni audiovisive, foto, disegni, e anche tramite l'utilizzo di una serie di strumenti adottati da altri ambiti scientifici come grafici spettrogrammi e sonar. Ogni osservazione viene poi catalogata in categorie generali indipendenti le une dalle altre che descrivono in linea generale la tipologia del comportamento rilevato. Generalmente, si prendono in esame i macro insiemi etologici comportamentali specifici della specie: i comportamenti di tipo sociale vengono suddivisi a loro volta in aree comportamentali come sessuale, aggressiva, riproduttiva, rapporto, e cura della prole ecc. Altri macro insiemi sono rappresentati da comportamenti inerenti il gioco, tutti i comportamenti legati al movimento, al nuoto, al posizionamento nello spazio circostante, comportamenti di superficie aerei ossia quelli svolti in area superficiale e comportamenti relativi alla caccia e alla cattura di prede. Nell'eseguire l'osservazione deve inoltre essere chiara e stabilita la modalità d'osservazione dei soggetti esplicitando se sarà focalizzata su alcuni individui o su un gruppo di individui e annotando inoltre il tempo e la durata dell'osservazione, l'età dei soggetti osservati, il contesto climatico e stagionale.

Un ulteriore problema da affrontare durante l'annotazione dei comportamenti dell'animale è stato definito da Altman (1974) secondo cui è l'esatta durata dello svolgimento del comportamento a determinarne la definizione: alcuni comportamenti possono essere molto brevi, e altri

potranno costituire un vero proprio modulo comportamentale di lunga durata e misurabile, infatti a seconda della lunghezza temporale del modulo è possibile stabilire due categorie: *stati* ed *eventi*. Gli stati sono definiti come comportamenti che hanno una durata misurabile (Lehener,1996) mentre gli eventi vengono definiti come esplicitazioni momentanee così rapidi da essere definiti come gesti di breve durata misurati in termini di frequenza(contatti, gesti, azioni brevi).

Durante lo studio etologico è dunque necessario anche stabilire e misurare valori chiave come il ripetersi del comportamento in un determinato intervallo di tempo: (*frequenza*) la distanza che intercorre tra uno stimolo e la risposta comportamentale (*latenza*) oppure il vigore manifestato durante l'esecuzione di un comportamento detta (*intensità*).

Nello studio etologico è fondamentale stabilire su quale soggetto focalizzare l'attenzione e quando. I *metodi di campionamento* definiti da Altmann sono:

- a) ad libitum: questo metodo non comporta limiti sistematici sul chi focalizzare l'attenzione e sul quando focalizzare; infatti l'osservatore può notare tutto ciò che gli sembra di rilevante interesse per la tipologia di studio che sta affrontando.
- b) One-zero sampling: si ripete la registrazione di un intervallo di tempo breve nel quale si annoterà se un determinato comportamento è stato effettuato o no senza specificarne la frequenza e la durata dello stesso.
- c) Scan sampling: uno scopo di misurare l'omogeneità etologica documentando i moduli comportamentali in istantanee predeterminate e separate da un lasso di tempo fisso avvantaggiando la rilevazione degli stati piuttosto che degli eventi.
- d)Continuos sampling: si effettua tramite la registrazione di un settore specifico di comportamenti annotando sistematicamente la frequenza e le

durate del comportamento: questo metodo è utilizzato per lo studio di uno o massimo due esemplari.

- e) Focal animal: questo metodo è applicabile solamente nel caso in cui sia possibile monitorare contemporaneamente e costantemente tutti i membri di un determinato gruppo assegnato in quanto è necessario che l'osservazione venga dedicata al campionamento di tutte le azioni effettuate per tutta la durata della registrazione.
- f)Sequence: l'attenzione dell'osservatore si focalizza sui moduli comportamentali e invece che sugli individui stessi, mantenendo l'ordine temporale dei comportamenti osservati in sequenza registrando tutti i moduli comportamentali rilevati fino al termine dell'atto.
- g) Point sampling: si registra un'attività comportamentale come fosse una fotografia istantanea di un momento preciso annotando quindi il tratto comportamentale specifico di interesse.
- h)all occurrences: sia per registrare il comportamento determinato ogni volta che viene effettuato dall'animale, questa metodologia è possibile effettuarla solo nei casi in cui le condizioni di osservazione siano estremamente favorevoli e quando i comportamenti da osservare siano specifici e ben chiari.

#### 1.5 ENDOCRINOLOGIA:

#### 1.5.1 LE GHIANDOLE SURRENALI:

Le ghiandole surrenali svolgono in tutti i vertebrati funzioni secretorie vitali per l'organismo che coinvolgono ambiti funzionali essenziali sia a livello metabolico sia riproduttivo.

Queste ghiandole presentano una struttura ellissoidale con forma variabile secondo la specie, la loro posizione è la regione retroparietale medialmente o dorsalmente al polo anteriore del rene ipsilaterale.

Queste particolari strutture endocrine sono costituite da due componenti differenti sia per quanto riguarda la genesi embrionale sia a livello istologico; queste differenze si manifestano anche sulla tipologia di secreto prodotto: la parte midollare surrenale, di origine nervosa è costituita da tessuto aminogenico, essa è adibita alla produzione di catecolamine come noradrenalina, adrenalina e dopamina (Ghiretti, 1977). Questa componente è la parte più interna e occupa circa un quarto della massa ghiandolare; essa è costituita da cordoni cellulari, tra i quali si estende una ricca rete di sinusoidi, e da uno stroma reticolare che si addensa sia intorno alla vena surrenale sia alle vene che confluiscono al centro della parte midollare e raccolgono la circolazione della ghiandola stessa.

Le cellule che costituiscono questa frazione ghiandolare presentano un nucleo sferico e nel citoplasma sono contenuti i granuli di catecolamine prodotte. Sulla base di determinate caratteristiche strutturali istologiche dei granuli si identificano due tipi di cellule midollari a seconda del secreto prodotto: cellule produttrici di noradrenalina e cellule produttrici di adrenalina.

La parte corticale, invece, è di origine mesodermica ed è costituita da tessuto steroidogenico, la sua funzione secretoria principale è adibita alla di steroidei derivanti dal colesterolo produzione ormoni come l'aldosterone, il corticosterone e il cortisolo e gli ormoni sessuali. La parte corticale presenta a sua volta tre strati. In quello più esterno, detto "glomeruloso", le cellule formano spirali che si uniscono alle colonne cellulari del secondo strato detto "zona fascicolata" al di sotto della quale presente la parte più interna costituita dal terzo ed ultimo strato definito "zona reticolare".

La zona glomerulosa costituisce il 15% della massa surrenale ed è formata da cellule di piccole dimensioni contenenti bassi livelli lipidici la cui distribuzione non è del tutto definita; il compito escretorio principale di questa frazione ghiandolare è adibito alla secrezione di aldosterone; nei mammiferi marini questa zona risulta relativamente più estesa che in altri vertebrati, questa particolare conformazione è probabilmente conseguenza ad un maggior bisogno di aldosterone il quale è indispensabile una corretta regolazione dell'equilibrio elettrolitico quindi per fondamentale in organismi adattati ad un ambiente osmoticamente avverso (Aublin, 2001).

La zona fascicolata, occupando il 50% del surrene, è la più estesa ed è caratterizzata da cellule definite "chiare", questa terminologia è a loro attribuita per via dell'alta concentrazione di lipidi presente al loro interno. La distribuzione cellulare di questa zona assume una conformazione tipica a fasce, che si estende dalla parte glomerulosa fino alla reticolata.

Anche per quanto riguarda la zona reticolata, la quantità di lipidi rimane a livelli relativamente bassi rispetto a quella fascicolata. Questa zona è la meno estesa delle tre occupando solo il 7% della ghiandola surrenale, essa assume una morfologia che si estende lungo la parte midollare interna avvolgendola. Nei pinnipedi queste strutture endocrine assumono dimensioni molto maggiori rispetto ai mammiferi terrestri assumendo una conformazione pseudolobata dovuta alla particolare conformazione della capsula fibrosa che, affondando nella corticale, forma setti fibrosi di dimensione elevata (Rommel e Lowenstine, 2001).

La zona fascicolata e quella reticolata sono sotto il controllo della corticotropina (ACTH); è stato studiato come una sua alta concentrazione determina un'ipertrofia di queste due zone, al contrario, nei casi in cui occorra una situazione di abbassamento nei livelli ematici si presenti una condizione di atrofia specifica di queste frazioni ghiandolari. La parte

reticolata non subisce questo tipo di influenza; questo a dimostrazione che la corticotropina non esercita un effetto rilevante su questa parte della ghiandola (Debenedetti, 2008).

#### 1.5.2 GLUCORTICOIDI E RESISTENZA ALLO STRESS

I fattori di stress capaci di alterare gli equilibri interni di un organismo animale possono essere di natura chimico-fisica, sociale, emotiva e psicologica.

L'intensità di risposta è determinata dal grado di percezione del sistema sensoriale dell'animale, esso infatti riceve ed interpreta lo stimolo derivante dall'ambiente esterno conseguentemente al grado di *feedback* negativo o positivo in determinate circostanze (Lovallo, 1997).

La risposta dell'organismo a questa tipologia di stimoli porta a una reazione integrata che attiva il sistema nervoso centrale, il sistema immunitario e il sistema endocrino. Ognuno di questi sistemi agisce e influenza l'attività degli altri creando quello che è definito il "Circuito psico-neuroendocrino-immunologico" nel quale entrano in azione gli organi del sistema immunitario e soprattutto l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. La coordinazione di questi meccanismi durante il manifestarsi di fattori stressogeni porta alla risposta omeostatica adattativa dell'animale.

Secondo quanto affermato da Broom e Johnson (1993) il benessere animale è lo stato di un individuo per quanto concerne i suoi tentativi di adattarsi all'ambiente. Partendo da questo presupposto, gli stessi autori danno una definizione di stress come "effetto ambientale di un organismo che sovraccarica i suoi sistemi di controllo e regolazione riducendo la sua efficienza corporea". Questa riduzione può essere compensata o può scaturire conseguenze dannose per l'individuo.

I principali ormoni che partecipano a tutti questi meccanismi omeostatici attivati durante la fase di stress sono i glucorticoidi. Tra i più importanti ormoni di questa categoria ci sono il cortisolo e il corticosterone, entrambi 11-idrossicorticosteroidi.

I mammiferi marini in stato di cattività e in costante contatto antropogenico, sono esposti a continui fattori di stress che possono creare disagio derivante da iterazioni uomo-animale non ancora del tutto chiarite, inducendo alterazioni dell'attività ipotalamica e provocando un aumento delle concentrazioni ematiche di cortisolo e corticosterone (Mason, 2007).

In tutti i vertebrati la secrezione di questi ormoni è effettuata principalmente per azione della zona fascicolata della parte corticale del surrene, regolata dall'azione della corticotropina (ACTH) tramite un sistema che agisce grazie ad un ciclo a *feedback* negativo nel quale sono coinvolti l'ipofisi anteriore e l'ipotalamo.

L'ipofisi anteriore rilascia l'ormone adrenocorticotropo che a sua volta stimola il rilascio del cortisolo; nei vertebrati superiori l'ACTH deriva dalla prooppiomelanocortina (POMC) che è secreta nelle cellule dell'ipofisi anteriore a livello del reticolo endoplasmatico. L'ACTH agendo sulla zona reticolare e sulla zona fascicolata della corticale funge da ormone tropico stimolando lo sviluppo e le attività secretorie di queste due parti. La presenza dell'ormone adrenocorticotropo è essenziale per il funzionamento dei suddetti strati, infatti, in sua assenza, subiscono una considerevole diminuzione compromettendo la secrezione dei glucorticoidi. Il CHR (Corticotropin-releasing hormone), secreto dall'ipotalamo, compie a sua volta, un'azione di controllo sulle cellule adibite alla secrezione di ACTH; infine i glucorticoidi completano il ciclo di controllo feddback negativo esercitando una funzione inibitoria sulla produzione di ACTH e CHR dall'ipofisi anteriore e dall'ipotalamo (Sherwood, 2006).

I glucorticoidi si avvalgono poi, come tutti gli ormoni steroidei, di recettori situati nel citoplasma delle cellule bersaglio; in seguito il complesso "ormone-recettore" va incontro a una dimerizzazione potendo così entrare nel nucleo e, legandosi a determinati tratti di DNA definiti GRE (gluorticoidresponsive element), è in grado di determinare l'azione di specifici geni adibiti all'espessione di proteine che produrranno l'effetto fisiologico di risposta allo stress.

L'azione dei glucorticoidi è fondamentale per il funzionamento di funzioni fisiologiche come l'attività cardiaca, circolatoria e nervosa, inoltre svolgono un ruolo importante riguardo al mantenimento dell'equilibrio idrico e del tono muscolare.

Le azioni principali svolte da questi ormoni steroidei sono generalmente suddivise in immunodepressive, antinfiammatorie, metaboliche, permissive delle catecolamine, hanno effetti sul metabolismo minerale e su altri sistemi endocrini.

A livello di sistema immunitario agiscono attivando l'espressione di proteine antinfiammatorie, inibendo l'attività trascrizionale dei fattori di trascrizione pro infiammatoria, alterando la produzione di citochinine e riducendo l'espressione dei recettori per quest'ultime. Queste azioni hanno molteplici effetti sulla risposta immunitaria tra i quali l'inibizione della migrazione dei leucociti e una riduzione nello sviluppo dei linfociti T aumentando così la suscettibilità ad infezioni secondarie (Munch *et al.* 1984; Breazile, 1988).

Riguardo al metabolismo dei carboidrati inducono una modificazione in seguito all'inibizione della loro captazione periferica a livello del tessuto adiposo e muscolare provocando un effetto di lipolisi con conseguente rilascio di acidi grassi liberi e glicerolo.

La modificazione dei differenti processi metabolici induce un aumento del glucosio ematico e successiva liberazione di insulina; che però non può legarsi ai suoi recettori cellulari in quanto tale legame è impedito dai glucorticoidi.

Infine, a livello epatico questi steroidi stimolano la sintesi delle transaminasi, delle proteine e di fattori adibiti al compimento del ciclo dell'ornitina rendendo disponibili all'organismo aminoacidi e consistenti quantità di enzimi utili alla glucogenesi epatica, stimolando un risparmio energetico tissutale (Debenedetti, 2008).

## 1.5.3 ORMONI SESSUALI

## 1.5.3.1 TESTOSTERONE:

I processi biologici che regolano la riproduzione sono gestiti da specifiche ghindole, le gonadi. Esse sono deputate alla produzione di ormoni sessuali; le gonadi maschili, oltre a svolgere una funzione di gametogenesi, sono responsabili della produzione del testosterone.

Il testosterone è il principale ormone steroideo androgeno, la sintesi e la secrezione di quest'ormone sono regolate dal circuito testicolare ipofisario. Nella maggior parte dei vertebrati, l'adenoipofisi svolge un'azione di controllo sull'attività delle gonadi tramite la secrezione di due gonadotropine, ovvero, l'ormone follicolo stimolante (FSH) e l'ormone luteinizzante (LH). Quest'ultime sono a loro volta controllate dai centri ipotalamici e dal sistema nervoso.

A livello dell'ipofisi anteriore il GnRH si lega a recettori di membrana specifici, localizzati sulle cellule gonadotrope stimolando la liberazione dei due sopraccitati ormoni (LH e FSH).

La secrezione di questi due ormoni avviene in maniera pulsatile ma risulta meno evidente per l'FSH a causa della sua più lunga emivita plasmatica; questa tipologia di secrezione si rivela di essenziale importanza per il funzionamento ottimale dell'asse ipofisi-testicolo poiché paradossalmente, l'esposizione continuativa ad alte dosi di GnRH sopprime la liberazione di gonadotropine (Randall *et al.*, 1999).

L' FSH si lega a specifici recettori di membrana localizzati a livello delle cellule del Sertortoli e, con meccanismo analogo a quello dell'LH, stimola la secrezione di gonadocrinina che interviene nella regolazione della spermatogenesi, nel meccanismo di controllo del *feedback* della secrezione di FSH.

L'ormone LH si lega invece ai recettori specifici presenti sulle cellule del Leydig attivando così l'adenosin-monofosfato ciclico che a sua volta induce una chinasi a catalizzare la fosforilazione delle proteine intracellulari in modo da convertire il colesterolo in pregnenolone. Questo ormone è il principale precursore del testosterone; le vie biosintetiche attraverso le quali avviene la trasformazione di quest'ultimo in testosterone variano da specie a specie, le principali necessitano di intermediari come il 5-androstenediolo, d-5-pregnenolone, deidroepiandrosterone e 17-a-idrossipregnenolone.

Poi nel citoplasma, ad opera dell'enzima 5-α-reduttasi, avviene la trasformazione del testosterone in diidrotestosterone (DHT) che lo renderà quindi in grado di legarsi ai recettori delle cellule bersaglio e svolgere la sua funzione fisiologica. Il DHT è l'androgeno più potente, in fase fetale svolge un ruolo principale nella differenziazione sessuale maschile e durante la vita adulta, ha effetti androginici sugli organi sessuali accessori (come le vescicole seminali). A differenza di altri androgeni non sembra esercitare una particolare azione stimolante sull'apparato muscolare, sull'epitelio germinale del testicolo e sulla potenza sessuale. (Aron; 2002)

Le principali funzioni alle quali adempie il testosterone sono rivolte alla differenziazione dei genitali maschili, interni ed esterni, allo sviluppo e

mantenimento delle caratteristiche sessuali primarie sin dalla embriogenesi, al mantenimento della potenza sessuale e alla regolazione, tramite un meccanismo di *feedback*, della secrezione gonadotropinica dove svolge un'importante ruolo nella fase di inizio e mantenimento del processo di spermatogenesi.

Il testosterone ha inoltre effetti anabolici che stimolano la sintesi proteica aumentando sia l'attività degli enzimi coinvolti nel metabolismo delle proteine sia il trasporto degli aminoacidi attraverso le membrane cellulari.

Tra gli effeti biologici più incisivi del testosterone vi è l'induzione a tipiche modificazioni psico-sessuali e comportamentali come la comparsa di aggressività, in particolare nel mondo animale dove una determinata attitudine o propensione all'utilizzo della forza può determinare una situazione di vantaggio evolutivo in quanta utilizzato nelle condizioni di maggior necessità come possono essere la ricerca o l'accaparramento di una risorsa alimentare, lo scontro fisico per la conquista di territorio o di un partner a cui trasmettere il proprio corredo genetico (Dickson, 2002).

## 1.5.3.2 PROGESTERONE

Il progesterone è un ormone steroideo secreto dal corpo luteo, dalla placenta e dalla corteccia surrenale, è un prodotto intermedio della sintesi dei corticosteroidi, degli androgeni e degli estrogeni.

Questo steroide circola nel plasma legato a proteine di trasporto dette CBG (*Corticosrteroid binding globulin*) che veicolano il cortisolo e l'albumina; la CBG è una glicoproteina dotata di affinità per il cortisolo, il progesterone, il desossicorticosterone e il  $17\alpha$ -idrossiprogesterone.

Il progesterone ha un'emivita plasmatica di 25-30 minuti e viene convertito in pregnandiolo, coniugato con l'acido glicuronico a livello epatico ed

escreto come glicuronide nelle urine. (Debenedetti 2008).

Il ruolo fondamentale di quest'ormone è il mantenimento della gravidanza inducendo il rilassamento della muscolatura liscia del miometrio permettendo così la distensione o l'espansione dell'utero, contrasta le gonadotropine ipofisarie impedendo il reclutamento follicolare, provoca l'accrescimento delle ghiandole mammarie e, quando la fecondazione non è avvenuta, stimola l'estro. La gestazione nei pinnipedi comprende 5 fasi principali; concepimento, impianto ritardato, riattivazione dell'embrione e impianto, sviluppo fetale e parto; sembra che molte specie di pinnipedi abbiano gravidanza obbligata dopo l'ovulazione una pseudo indipendentemente dalla presenza o meno della blastocisti (Boyd, 1991; Atkinson, 1997). Il ruolo dell'unità feto-placentare nella secrezione ormonale di questa famiglia è stato messo in discussione, infatti in precedenza si pensava stimolasse le funzioni delle gonadotropine placentari alla produzione di estrogeni e progesterone, mantenendo la gravidanza e, infine, avviando il parto; tuttavia il monitoraggio di concentrazioni sieriche ormonali di alcuni esemplari in cattività di *Phoca vitulina* ha rivelato che le concentrazioni di progesterone di femmine, non gravide già da tempo, non differivano in modo sostanziale da quelli rilevati in animali gravidi. Questo può derivare dal fatto che, almeno per *Phoca vitulina* la pseudogravidanza obbligata si estende oltre il periodo di impianto normale o che le condizioni di cattività provochino modificazioni ormonali non ancora del tutto chiarite dato che questo anomalo aumento dei livelli di progesterone è stato osservato anche in alcuni esemplari di *Odobenus rosmarus* dopo lunghi periodi di cattività, lo studio di variazioni intraspecifiche di questi meccanismi potrà fornire in futuro interessanti informazioni (Reijnders, 1990; Aktinson 1997).

Le funzioni del progesterone possono coinvolgere inoltre il metabolismo dei carboidrati, dei lipidi e delle proteine, può indurre una riduzione dei livelli di riassorbimento del sodio competendo con l'aldosterone a livello tubolare, svolgere un effetto termogenico, riducendo la risposta del glucosio all'insulina e, nei centri di respiro, aumentando la risposta alla CO2.

## 2.OBIETTIVI:

La ricerca si prefigge l'obiettivo di condurre un' analisi a livello etologico, endocrinologico e fisiologico (riguardante l'attività respiratoria) rivolta ad esemplari di *Odobenus rosmarus* al fine di favorire un approccio multidisciplinare all'argomento:

#### STUDIO ETOLOGICO:

- A) Creazione di un catalogo comportamentale della specie *Odobenus rosmarus* che descriva ogni comportamento e iterazione (<u>sociale, aggressiva o sessuale</u>) tra gli individui presenti nell'ambiente di studio preso in esame.
- B) Creazione di un catalogo video che rappresenti ogni singolo modulo comportamentale osservato in modo da poterlo individuare in modo univoco.
- C) Quantificazione generale dei moduli comportamentali osservati sia livello temporale sia a livello di frequenza oraria.

#### STUDIO ENDOCRINOLOGICO:

• Esaminare mediante una ricerca non invasiva le concentrazioni di tre ormoni stereoidei (*Testosterone, Progesterone e Cortisolo*) durante 12 settimane di studio a partire da materiale biologico alternativo al sangue quale la saliva.

#### STUDIO FISIOLOGICO:

Stimare l'attività respiratoria in termini di valori medi minimi e massimi di estensione temporale dell'apnea valutando anche i dati registrati nelle diverse fasce orarie di campionamento e nel corso delle dodici settimane di osservazione.

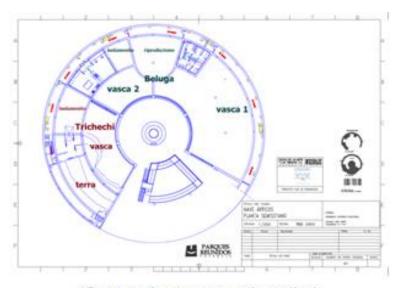
## 3.MATERIALI E METODI:

## 3.1 LUOGO DI STUDIO

La ricerca è stata effettuata presso l'Oceanografic de Valencia in Spagna, un complesso costituito da numerose strutture ognuna delle quali rappresenta un diverso ecosistema: Mediterraneo, mari temperati, zone umide, mari tropicali, isole e Mar Rosso, oceani, *Artico*, Antartico. L'oceanografico ad oggi è il parco marino più grande d'Europa e ospita più di 45.000 esemplari rappresentanti delle 500 specie presenti in 42 milioni di litri d'acqua e la superficie totale si estende per 110.000 m².

L'acqua utilizzata per le strutture e gli acquari deriva direttamente dal mare antistante Valencia, e viene trattata tramite sistemi specifici che utilizzano sofisticati filtri atti ad eliminare tutti i solidi in sospensione, i materiali organici ed eventuali elementi infettanti. Vengono adottati sistemi di filtraggio a più livelli: in primis vengono utilizzati filtri meccanici a sabbia, successivamente vi è il passaggio attraverso un filtro chimico fisico, e per completare la sterilizzazione ed eliminare tutti gli organismi patogeni avviene un filtraggio disinfettante mediante l'applicazione di ozono, cloro e luce ultravioletta.

La struttura dell'Oceanografico in cui si è svolto lo studio, l'Artico (fig.3.1) ospita due specie principali *Delphinapterus leucas* e *Odobenus rosmarus;* la struttura, costruita a forma di igloo, è alta 12 metri ed è divisa in due livelli: un livello superiore che offre la visuale della vasca dall'alto e un livello inferiore che offre una vista subacquea e da la possibilità di osservare le specie ed esaminarne il comportamento acquatico.



(fig. 3.1 Piantina generale Artico)

La vasca ha una struttura circolare contenente in totale 4.459.000 litri d'acqua dei quali 877.000 sono adibiti alla struttura dei trichechi (Fig. 3.2). Quest'ultima è suddivisa in due piscine di cui solo la principale è quella esposta al pubblico mentre in un'area accessibile solo al personale vi è la zona adibita alle cure, all'alimentazione e al mantenimento dei trichechi.



(Fig.3.2 Particolare della vasca trichechi)

La vasca esposta al pubblico ha una superficie totale di 220 m³ d'acqua ed è dotata di un'area profonda 5 m per un volume d'acqua di 528.000 litri. Per favorire l'osservazione degli esemplari la vasca è dotata di due ampie vetrate, una che si estende lungo tutto il lato lungo, e l'altra che ne ricopre tutto il lato destro. Internamente è costituita da materiale artificiale che riproduce due pareti di roccia. La salinità dell'acqua presente nella vasca è compresa tra i 37 e 38g/l (fig 1.9) e la temperatura media della vasca è mantenuta costante e oscilla tra i valori di 14, 7C° e 16,5 C° (fig 1.10).

## 3.2 SOGGETTI STUDIO:

Gli esemplari di *Odobenus rosmarus* studiati sono stati introdotti all'interno dell'oceanografico nel 2007 ancora in fase neonatale (intorno ai 5 mesi), la loro provenienza di origine è la Russia :

I due esemplari esposti al pubblico sono:

1) Esemplare Maschio "YURI":



(Fig.3.5 soggetto studio maschio "YURI")

# 2) Esemplare Femmina "TANIA":



(Fig.3.6 soggetto studio femmina "TANIA")

Gli altri tre esemplari femmina, Katherina, Ninotchka e Petruschka sono tenuti in una zona non accessibile al pubblico:



(fig. 3.7 Katherina)



(fig.3.8 Ninotchka)

(fig.3.9 Petruschka

# 3.3 INDAGINE ETOLOGICA, REALIZZAZIONE DEL CATALOGO COMPORTAMENTALE e DELL'ARCHIVIO VIDEO:

La metodologia utilizzata per la registrazione dei comportamenti dei soggetti studio detta "focal animal sampling", si concentra sull'osservazione focalizzata di un singolo soggetto in modo da acquisire il più vasto numero di moduli comportamentali possibili comprendendo nell'osservazione anche le interazioni tra gli individui presenti all'interno della stessa vasca. Ogni osservazione ha una durata di 30 minuti e all'inizio e alla fine di ogni sessione video è stato annotato vocalmente il giorno, la data e l'ora dell'osservazione in modo da agevolare la catalogazione a posteriori di tutti i video effettuati. Il punto di osservazione era nel livello basso della struttura, che grazie alla sua conformazione permette di osservare la vasca nella sua interezza. Le registrazioni video di tutte le osservazioni sono state per la quantificazione dei comportamenti esaminati, e per la creazione di un catalogo video strutturato in modo tale che ad ogni comportamento registrato corrisponda un filmato.

Successivamente tutti i video sono stati inseriti tramite l'utilizzo di un programma adibito allo studio etologico: *Observer 5.0* 

Questa fase di analisi è suddivisa a sua volta in due ulteriori stadi:

a) Revisione di ogni video e annotazione, tramite una serie di codici identificativi di ciascun comportamento, in modo da poter produrre dei file denominati "Observational data file" (ODF) che schematizzano la cronologia di tutti i moduli comportamentali osservati durante la sessione di registrazione.

b) Quantificazione statistica, tramite l'utilizzo dell'Observer, di frequenza e durata di ogni stato, evento, iterazioni (attive o passive) tra gli individui, posizione di nuoto, contatto con vasca/acrilico, posizione spaziale all'interno dell'area di studio. Il programma, a seconda del tipo di statistica richiesta, produce dei file in formato Excell necessari per la realizzazione di grafici e di tabelle riassuntive ed esplicative dell'attività di ricerca svolta.

## 3.4 ORGANIZZAZIONE TEMPORALE:

Lo studio etologico si è svolto da giugno ad agosto 2012 per un totale di 12 settimane. I giorni adibiti all'osservazione dei trichechi sono stati il martedì e il giovedì, per ogni sessione e per ogni individuo è stata eseguita una registrazione di 30 minuti ed una rilevazione temporale delle respirazioni della durata di 15 minuti l'una. La giornata è stata suddivisa in tre fasce orarie in modo da poter osservare l'animale prima dell'apertura del parco pubblico e prima della sessione di alimentazione ed addestramento mattutino ed in presenza di pubblico.

Gli orari di ogni singola fascia sono:

**FASCIA A**) dalle 6:00 alle 11:00

**FASCIA B**) dalle 11:00 alle 17:00

**FASCIA** C) dalle 17:00 alle 21:00

In sintesi lo studio è durato un totale di 36 ore di osservazione su Yuri e 36 ore su Tania.

## 3.5 OSSERVAZIONE DELL'ATTIVITÀ RESPIRATORIA:

Al termine di ogni registrazione video si passava alla fase un monitoraggio dell'attività respiratoria. Il punto di osservazione era la zona alta della struttura, dalla quale era possibile avere una visione completa della vasca dall'alto. Lo strumento utilizzato è stato un cronometro *Casio water-resistant 1/1000sec* e successivamente i tempi registrati venivano annotati su un schede cartacee per poi essere trascritti e catalogate in tabelle grazie all'utilizzo del programma Microsoft Excel. Le apnee sono state cronometrate partendo dalla prima respirazione misurabile e fermando il tempo di apnea al momento della risalita in superficie (misurando quindi il tempo trascorso tra le due risalite del soggetto). Anche in questo caso l'attenzione è stata focalizzata su un unico individuo alla volta.

## 3.6 PRELIEVO DEI CAMPIONI SALIVARI:

I prelievi di saliva sono stati effettuati per la quantificazione ormonale in sostituzione al campionamento ematico in quanto si è tentato di investigare sulla possibilità di effettuare una tipologia di prelievo il meno invasiva possibile soprattutto per non indurre eventuali variazioni dei livelli ormonali per quanto riguarda il grado di stress apportato.

L'esecuzione materiale del prelievo è stata praticata tramite l'utilizzo di cotone idrofilo applicato ad una pinza Klemmer sterilizzata di volta in volta e cambiata per ogni esemplare. È stata utilizzata questa tipologia di campionamento in modo da poter assorbire la maggior quantità di saliva possibile in un volta unica. Nel caso in cui fosse riscontrata una quantità di saliva insufficiente a poter compiere l'analisi era stimolata la salivazione tramite l'esposizione alla vista dell'animale di cibo; l'apertura della bocca

era ordinata dall'addestratore tramite ricompensa alimentare e, subito dopo aver effettuato il prelievo, si procedeva con la catalogazione del campione all'interno di una provetta sterile sulla quale veniva appuntata la data, la fascia oraria e il nome del soggetto in questione.

La fase successiva è stata la centrifugazione al fine di seperare i campioni salivari dal cotone idrofilo utilizzato per il prelievo. La provetta denominata "salivet" era costituita in maniera specifica per questo tipo di separazione: il cotone, con il campione di saliva da estrapolare, era contenuto all'interno di un supporto forato ad una estremità che veniva successivamente posizionato all'interno della provetta più grande dove si sarebbe depositata la saliva durante la fase successiva di centrifugazione; questa fase veniva praticata a 3000g per 5 minuti. Il campione è stato poi passato in provette di tipo eppendorf opportunamente marcate e catalogate in modo da poterle immagazzinare nei frigo dei laboratori analisi.



(Fig. 3.7 Fasi del prelievo di saliva necessaria per ricavare i livelli ormonali)

## 3.7 ANALISI DI LABORATORIO:

## Preparazione dei campioni:

I campioni di saliva dopo essere stati scongelati sono stati centrifugati a 1500 g per 10 minuti in modo da eliminare dalle eppendorf il coagulo di mucina così da poter prelevare il materiale liquido, quantificarlo e destinarlo al dosaggio steroideo.

La determinazione dei valori di progesterone, testosterone e cortisolo dai campioni di plasma e saliva è stata effettuata tramite la tecnica radioimmunologica denominata "RIA" esposta di seguito.

## **Estrazione progesterone:**

Per l'estrazione e per il dosaggio del progesterone è stata seguita la metodica descritta da Seren *et al.* (1974). Ai campioni di saliva o di plasma (100 ml) sono stati aggiunti 5 ml di etere di petrolio e sono stati posti in agitazione su "multivortex" per 30 minuti e successivamente sono stati centrifugati a 2000g per 4 minuti a 4°C. La parte eterea è stata poi separata mediante evaporazione sotto cappa di aspirazione, in corrente di aria, a 37°C. Il residuo secco, contenente gli ormoni steroidei tra cui il progesterone, è stato poi disciolto in 0,5 ml di tampone fosfato 0,05M, pH 7,5.

L'analisi è stata effettuata in duplicato utilizzando 100 ml della soluzione ottenuta dall'estrazione del progesterone dalla saliva e dal plasma, 100 ml di anticorpo anti-progesterone alla diluizione di 1:20000 e, come tracciante radioattivo, 100 ml di <sup>3</sup>H-progesterone (27 pg/tubo). Dopo incubazione a +4°C per 18 ore è stata eseguita la separazione tra l'ormone legato e quello libero aggiungendo ai campioni 1 ml di una soluzione all'1% di *charcoal* e 0,025% di destrano, incubando a +4°C per 15 minuti ed infine,

centrifugando a 4000g per 4 minuti a +4°C. Il supernatante, contenente l'ormone legato all'anticorpo, è stato versato in *vials* da scintillazione ed utilizzato per il conteggio della radioattività eseguita con un b □ *counter* a scintillazione liquida. La conversione della radioattività dei campioni (cpm/vial) in unità di peso/volume (pg/ml) è stata eseguita utilizzando un programma di calcolo appositamente allestito (PRIAMO) (Motta e Degli Esposti, 1981). I parametri di validazione dell'analisi sono risultati i seguenti: sensibilità 1,47 pg/tubo, variabilità nel saggio 9,28% e tra i saggi 13,95%. La specificità dell'anticorpo utilizzato è espressa dalle reazioni crociate riportate nella tabella che segue:

progesterone	100
11-α-OH-progesterone	83,3
11-β-OH-progesterone	15,7
17-α-OH-progesterone	1,7
20-α-OH-progesterone	<0,1
cortisolo	0,05
testosterone	<0,002
17β estradiolo	<0,0001
estrone	<0,0002

(Fig 3.8 Percentuale specificità dell'anticorpo utilizzato per il dosaggio del progesterone)

#### Estrazione del testosterone:

La concentrazione del testosterone è stata valutata secondo la metodica descritta da Gaiani et al. (1984). L'estrazione dell'ormone e il suo dosaggio da saliva e plasma è stata effettuata come descritto per il cortisolo, salvo alcune modifiche: è stato utilizzato un anticorpo antitestosterone alla diluizione di 1:70000 e 3H-testosterone (31 pg/tubo) come tracciante

radioattivo. I parametri di validazione dell'analisi sono risultati i seguenti: sensibilità 2,8 pg/tubo, variabilità nel saggio 5,7% e tra i saggi 10,1%.

La specificità dell'anticorpo utilizzato è espressa dalle reazioni crociate riportate nella seguente tabella:

Testosterone	100
5α diidrosterone	30,6
Androstenedione	0,6
Epitestosterone	<0,01
Deidropiandosterone	<0,001
Progesterone	<0,001
Pregnenolone	<0,001
Estrone	<0,001
Cortisolo	<0,001

(Fig 3.9 Percentuale specificità dell'anticorpo utilizzato per il dosaggio del testosterone)

## **Cortisolo:**

L'estrazione e il dosaggio del cortisolo è stata effettuata secondo la metodica descritta da Tamanini *et al.* (1983). A 100 μl di materiale biologico (saliva o plasma) sono stati aggiunti 0,5 ml di tampone fosfato (0.05M, pH 7.5) e 5 ml di etere dietilico. I campioni sono stati, in seguito, posti in agitazione su "multivortex" per 30 minuti e successivamente centrifugati a 2000g per 4 minuti a +4°C. La parte eterea è stata separata mediante evaporazione sotto cappa di aspirazione, in corrente di aria, a +37°C. Il residuo secco, contenente gli ormoni steroidei, è stato poi disciolto in 0.5 ml di tampone fosfato (0.05M, pH 7.5).

L'analisi è stata effettuata in duplicato: a 100 µl della soluzione ottenuta dall'estrazione degli ormoni steroidei sono stati aggiunti 100 µl di <sup>3</sup>Hcortisolo (30 pg/tubo) e 100 µl di anticorpo anticortisolo alla diluizione

di 1:40000. Dopo incubazione a +4°C per 18 ore, è stata eseguita la separazione tra l'ormone legato e quello libero aggiungendo ai campioni 1 ml di una soluzione all'1% di *charcoal* e 0,025% di destrano, incubando a +4°C per 15 minuti ed infine, centrifugando a 4000 g per 4 minuti a +4°C. Il surrnatante contenente l'ormone legato all'anticorpo è stato trasferito in *vials* da scintillazione ed utilizzato per il conteggio della radioattività eseguita tramite un b-*counter* a scintillazione liquida. La conversione della radioattività dei campioni (cpm/vial) in unità di peso/volume (pg/ml) è stata eseguita utilizzando un programma di calcolo appositamente allestito (PRIAMO) (Motta e Degli Esposti, 1981). I parametri di validazione dell'analisi sono risultati i seguenti: sensibilità 0,78 pg/tubo, variabilità nel saggio 6,8% e tra i saggi 9,3%. La specificità dell'anticorpo utilizzato è espressa dalle reazioni crociate riportate nella seguente tabella:

100
9,5
8,3
5,3
5
0,6
0,4
0,3
0,1
<0,0001
<0,0001
0,0001
< 0,0001

(Fig 3.10 Percentuale specificità dell'anticorpo utilizzato per il dosaggio del cortisolo)

## 4. RISULTATI

## 4.1 STUDIO COMPORTAMENTALE

## Catalogo comportamentale <u>Odobenus rosmarus</u>:

Nella realizzazione del catalogo di comportamenti e le condizioni posturali dei soggetti studiati sono stati suddivisi in 7 differenti classi etologiche sulla base delle principali finalità funzionali:

- 1. Locomotory and postural behaviour
- 2. Social behaviour
- 3. Aggressive/submissive behaviour
- 4. Sexual behaviour
- 5. Land behaviour
- 6. Bubble related behaviour
- 7. Play behaviour

Il confronto dei dati presenti in letteratura e il risultato delle osservazioni dei moduli comportamentali effettuate sulla specie in esame ha portato alla possibilità di stilare un set di 68 "behavioural unit" raccolti in tabella 4.1. Tutti i moduli, a parte quelli espressamente caratteristici dell'ambiente acquatico o terrestre sono da considerarsi eseguibili sia in acqua che fuori dal mezzo acquatico. Il catalogo è quindi suddiviso in cinque colonne principali: la prima ("code") indica il codice utilizzato per indicare un determinato modulo comportamentale in maniera specifica; la seconda ("type") suddivide i comportamenti in "stati" e "eventi" a seconda della natura e della durata del modulo (come precedentemente descritto nel capitolo "basi dello studio etologico e formulazione di un etogramma"); la terza ("Behavioural unit") indica il nome attribuito al comportamento descritto nei particolari e nella quarta colonna ("definition") si prende in esame ogni singolo aspetto descrittivo nell'intento di risultare il più

esaustivo e specifico possibile; la quinta colonna infine ("specific reference"), indica le fonti bibliografiche con le quali si è confrontato il tipo di display comportamentale e dalle quali è stata tratta la definizione; data la scarsità di dati inerenti al comportamento di *Odobenus rosmarus* in letteratura, si è resa necessaria l'integrazione con comportamenti descritti di altre specie di mammiferi marini con particolare riferimento a quanto è descritto da Esposti Apicino e Tizzi (2006); nel caso in cui non sia stato possibile rinvenire una nota descrittiva del comportamento dalle bibliografie e che sia stato rilevato durante l'esperienza di osservazione si è proceduto alla stesura di una definizione lasciando vuota la casella inerente al riferimento bibliografico.

(Tab 4.1 CATALOGO COMPORTAMENTALE)

	COD T		TYP BEHAVIOURA		SPECIFIC	
	E	E	L UNIT	DEFINITION	REFERENC	
	_	_	LONII		E	
1.	COM	OTOR	Y & POSTURAL	BEHAVIOUR		
				One subject moves in a belly down		
				position making forward progress in		
				a single general direction. Direction	Miles &	
1	SWM	State	Directional swim	chenges can occur, but usually are	Herzing	
				not erratic or rapid. Body is generally	(2003)	
				extended along the long axis and		
				swim speed is relatively stable.		
2	BUP	State	Polly up awim	Forward progress with the belly	Müller et al.	
_	BUP	State	Belly up swim	upward.	(1998)	
				Forward progress in a 90-degree		
3	SID	State	Side swim	rotation from the dorsal position,	Müller et al.	
3	SID	State	Side Swilli	orienting one pectoral fin upward	(1998)	
				and the other downward.		
				The subject moves following always	Ruchen &	
4	SPT	State	Prefered trip	the same trip	Mason (2007)	
				the same tip	WIASUII (2007)	

5	SRD	State	Swim random	the animal shows frequent changes in heading that sometimes appear as a transition behaviour between other behavioural states.	Constantine et al., (2004)		
6	RST	State	Rest	The subject stayed still at the surface for a long time (5s-55min) keeping part of his back at the surfacewhile part of the body is relaxed down at an angle of about 45°.			
7	VST	State	Vertical stand	Walruse hangs/suspends itself vertically with its head up or down in mid-water column.	Miles & Herzing (2003)		
8	LIE	State	Lie	Hanging (any position but vertical) in water column or lying flat on the seafloor.	Dudzinski (1996)		
9	HDT	State	Head thrust	An animal, while facing another, moves its body quickly in the vertical plane, producing either an up and down or a down and up motion. It can be produced in a rapid series.	Di Paola <i>etal</i> . (2007)		
10	SPY	Event	Spy hop	Spy hop  Brief vertical or near-vertical elevation of the body and head-up exposure of the foresection followed by a sinking return to the water.			
11	FKO	Event	Limbs out	imbs out  The animal hung vertically in the water, head downward, the forelimbs protruding above the water.			
12	SIN	State	Sink	Vertical descent through the water column from the surface [] without making forward progress.			
13	EXP	State	Exploratory behaviour	Scanning perpendicular/horizontal relative to bottom.	Herzing (1995)		
14	WSU	State	Wall suckling	The subject press its mouth on a surface, frequently on the bottom or wall, and move its cheeks and tongue. When it happens above the surface a considerable suckling			

		sound can be heard.			
15	CHE	Event	Chewing	The subject, while swimming or resting, moves its mouth pretending to have something on it. Some times than its can spit out some material found in the water or detached by the wall.	
16	TRU	Event	Tank rub	They often rub their bodies against an object, floor, the bottom, the side of the basin. When swimming on the side, belly in front of the wall, they keep a contact of their flippers with the wall.	Sylvestre (1985)
17	ROL	Event	Roll	The body is rotated through 360° on the longitudinal axis to either side.	Renjun <i>et al.</i> (1994)
18	STP	Event	Stop	Suddenly stops dead in water after swimming forward.	Ostman & Folkens (1996)
19	VAR	Event	Ventral arch	subject body aligns in a crescent shape usually head up and perpendicular to the sea floor. Head and flukes are bent towards each other, extending the back and compressing the belly region.	Miles & Herzing (2003)
20	DAR	Event	Dorsal arch	Dorsal arch  Head and flukes bent outwards  extending the belly region and compressing the back.	
21	SAR	Event	Side arch	The animal lifted its head while arching its tail stock and twisting it to one side.	Nelson & Lien (1994)
22	FLX	Event	Flexion	The hind flippers moved ventrally and as the flexion reached its maximum, the tail approached an angle of 45 degrees from the horizontal. Often the head also bent ventrally. At the maximum the entire body formed an arch, and the muscles are taut. Then the animal	Tavolga & Essapian (1957)

				relaxed and the tail was raised dorsally.	
				aimilar to flavian but mare abrunt	
2	ABS	Event	Abdominal	similar to flexion but more abrupt, some times accompaided by	
3			cramp	regurgitation	
24	JRK	Event	Jerk	Any slight, rapid jerking of the body.	Nelson & Lien (1994)
25	PJR	Event	Pectoral jerk	Rapid, jerky movements back and forth with, generally extended, flippers.	Ostman & Folkens (1996)
26	LJE	Event	Lowerlimb jerk	lowerlimb movement vertically or laterally	Dudzinski (1996)
27	HJE	Event	Head jerk	A sharp lateral or vertical jerk of the mouth. Often accompained by a sharp bang sound.	Connor (1995)
28	JCL	Event	Jaw clap	the subject opens and shuts its jaws rapidly [] once or consecutive times. A loud clapping sound is made.	Miles & Herzing (2003)
29	NOD	Event	Nodding	Rapid up and down head movements	Connor (1995)
30	DLO	Event	Head turn	An animal swings its head laterally to point the rostrum at the recipient.	Di Paola <i>etal</i> . (2007)
31	ОМТ	Event	Open and close mouth	Brief opening and closing of mouth.	Ostman & Folkens (1996)
32	BLX	Event	Bloating neck	A male whalrus, by inflating one or both his pharyncheal pouches, shows an increase in volume of one or both sides of the neck, this can happen while swimming or resting on wather.	Fay (1960)
2. 3	SOCIA	L BE	HAVIOUR		
33	APP	Event	Approach	A directional swim oriented towards the other animal, after swimming alone.	Miles & Herzing (2003)

34	LEA	Event	Leave	swimming.	Miles & Herzing (2003)
35	CNT	Event	Contact	Any form of body contact other tahn pounce, usually not forceful.	Slooten (1994
36	RUB	Event	Rubbing	One individual actively rubs a body part on another individual.	Connor <i>et al.</i> (2000)
37	MOU	State	Mouthing	took place with the mouth open, at time one animal took a flipper, fluke, head or snout of the partner between the teeth and gently closed the mouth upon it, thereby holding the part.	Tavolga & Essapian (1957)
38	NBL	Event	Nibbling	Nibbling at another's body, usually at the flukes.	von Streit (1995)
39	втв	State	Belly to belly swim	One animal swims parallel to another, belly to belly, with or without contact and simply mirroring the other animal's movement.	Miles & Herzing (2003)
40	SLP	State	Slapping	while resting on land or in vertical stand, the animal slap itself with its forelimbs. It can be also made on conspecifics.	
3. /	AGGR	ESSI	VE/SUBMISS	IVE BEHAVIOUR	
41	СНА	State	Chase	the subject is rapidly following an animal in flee position, with its head orienting towards the lower limb of the lead animal, and also can involve swimming belly down or belly up, i.e. inverted chasing.	Miles & Herzing (2003)
42	PUS	State	Push	Pushing body with its head, mouth, forelimbs and body.	Dudzinski et al. (2003)
43	BSL	Event	Body slam	A charging animal slams into another with any part of its body other than its mouth,lower and pectoral limbs.	Connor (1990)

44	BIT	Event	Bite	One animal draws the open jaws across another animal's body or extremities; often leaving parallel lines.	Pryor (1990)
45	RHT	Event	Head hit	the focal subject hit another animal with his head, the recipient can be hitted in anypart of its body	
46	RHT	Event	Tusk hit	similar to head hit but happens with the tusks. The animal bends his head back than moves it quickly downward striking another animal with the tip of his tusks	
47	FLI	State	Flinch	Flinch  An animal rapidly lowers its head and moves its whole body to face away from another (aggressor) animal.	
48	FLO	State	Flounce	Move in an exageratedly impatient or angry manner usually associated to vocalizations	
4. \$	SEXU	AL BE	HAVIOUR		
49	BPR	Event	Belly presentation	One dolphin turning its ventral surface towards another. Done by swimming on its side next to or upside-down under the other individual and within two body lengths.	Slooten (1994)
49	BPR ERE	Event Event	-	surface towards another. Done by swimming on its side next to or upside-down under the other individual and within two body	Slooten (1994) Slooten (1994)
			presentation	surface towards another. Done by swimming on its side next to or upside-down under the other individual and within two body lengths.	
50	ERE	Event	presentation  Erection  Genital rub on	surface towards another. Done by swimming on its side next to or upside-down under the other individual and within two body lengths.  Male showing penis out genital slit.  Genital rubs (on conspecifics).  When the male clasped the female with his flippers and making pelvic thrusts attempted to intromit his erect penis into the vagina.	Slooten (1994) Herzing & Johnson
50	ERE GRD	Event	presentation  Erection  Genital rub on conspecifics	surface towards another. Done by swimming on its side next to or upside-down under the other individual and within two body lengths.  Male showing penis out genital slit.  Genital rubs (on conspecifics).  When the male clasped the female with his flippers and making pelvic thrusts attempted to intromit his	Slooten (1994) Herzing & Johnson (1997) Saayman et al.

55	мхо	Event	Oral masturbation		
<b>5.</b> I	LAND	BEH	AVIOUR		
56	DDV	Event	Dorsal dive	The animal plunge by entering on water dropping on his back, often a grunt accompain this moviment	
57	LDV	Event	Lateral dive	The subject plunges entering on water on his side	
58	GDV	Event	Gliding dive	the subject reaches the water sliding on the ground	
59	RDV	Event	Rolling dive	the animal reaches the water rolling on its back	
58	GLI	Event	Gliding	the animal immediately after emerging advantage of the leveraging to get out of the water and glide for some meters	
60	WAL	State	Walk	the animal moves on the earth due to the movement of the forelimbs, the hindlimbs can contribute to the movement but do not take considerable part on it, the belly is not lifted off the ground	
61	HUP	State	Head up	the subject stands on earth the back is arched resulting on a posture where the belly is on the ground, the chest is lifted and the forelimbs are on the ground	
62	LID	State	Lie down	the subject stay on earth lying with the belly and chest on the ground	
63	LUP	State	Lie up	the animal stand on the ground on its back, resulting on a belly up position	
64	STN	State	Standing	the subject takes a vertical stand position next to the shore where lean its hindlimbs on the wall	
6. I	BUBB	LE RI	ELATED BEH	IAVIOUR	

65	BUB	Event	Bubble	Dolphins [] expel air from their blowholes, generating large, amorphus bubbles that rise quickly to the surface.	Marten <i>et al.</i> (1996)
66	BUR	Event	Bubble ring	Dolphins can blow smooth, stable rings of air that linger in the water for several seconds.[] Dolphins puff out bubbles from their blowholes that become halos of air that expand in radius while decreasing in thickness as they rise to the surface. Sometimes can be emitted two rings in succession, which fuse together into a single, large ring.	
7. I	PLAY	BEHA	AVIOUR		
67	PLO	State	Object playing	Transporting an object by using the outside of the beak, the flippers or the melon, passing and slightly touching an object, balancing/dribbling/catching/throwin g and catching/pushing or pulling an object whit the beak, pressing it under water /rolling it on the ground by using the beak or the body and holding it in the beak while swimming.	Denkinger & von Fersen (1995)
68	WAS	State	Water spraying	The subjetc opens its mouth and takes in a considerable amount of water then he presses the water through its teeth and lips, the water forms a fountain-like spray.	

Oltre alla creazione del catalogo comportamentale è stato creato un catalogo video come supporto al riconoscimento dei moduli osservati. Il catalogo è composto da una serie di filmati di circa 30 secondi l'uno dimostrativi delle espressioni etologiche esibite.

Non è stato però possibile riportare un filmato per ogni modulo in quanto i soggetti non hanno manifestato tutti i comportamenti presenti all'interno

del catalogo descrittivo durante il periodo di osservazione; in alcuni casi inoltre, le difficoltà pratiche dovute alla raccolta del materiale video, come lo stato di pulizia dell'acrilico, la torbidità dell'acque e la lontananza dal soggetto, non hanno permesso la creazione di un filmato qualitativamente accettabile.

Di seguito è riportato un esempio di sequenza video che riproduce la manifestazione del modulo comportamentale "tusk hit" ovvero un colpo di zanne inflitto dall'esemplare maschio nei confronti dell'esemplare femmina durante un approccio:



(Fig. 4.1 esempio filmato catalogo video, espressione modulo comportamentale "tusk hit")

# 4.2 QUANTIFICAZIONE ETOLOGICA

Per soddisfare l'obiettivo di quantificazione etologica dello studio svolto, si è resa necessaria un'analisi statistica di ogni modulo comportamentale osservato durante le registrazioni eseguite nel periodo di studio. I dati etologici estrapolati sono stati studiati a livello di frequenza e durata oraria prendendo in esame sia i valori riguardanti i dati a livello di andamento settimanale che analizzando il trend etologico tenuto dai due esemplari durante l'arco della giornata eseguendo l'analisi per fasce orarie.

Nel caso in cui il modulo comportale in esame sia appartenente alla tipologia degli eventi è stata calcolata la frequenza oraria mentre nei casi in cui appartenesse alla tipologia degli stati si è effettuato il calcolo aggiuntivo della durata oraria.

A livello generale è possibile affermare che l'esemplare femmina esplicita il maggior numero di moduli comportamentali previsti, infatti, si registrano tra i dati ben 50 dei 65 comportamenti presenti in catalogo, ossia il 76,92% dei comportamenti.

Yuri arriva quasi ad eguagliare la varietà etologica presentata dall'esemplare femmina esplicitando 45 dei 65 moduli previsti e raggiungendo quindi il 75% dei moduli.

Nei capitoli successivi verranno analizzate le principali unità comportamentali nello specifico andando a focalizzare in ognuna di esse la quantità e la qualità del tempo speso dai due soggetti, le principali caratteristiche di comportamenti sociali, tipologie e le velocità di nuoto e infine le iterazioni che questi hanno con l'ambiente circostante.

(Tab.4.2 analisi delle medie giornaliere di frequenza oraria e durata oraria)

		YURI		TANIA	
		Media giornalio	era	Media giornaliera	
BEHAVIO URAL UNIT	ТҮРЕ	fre quenza oraria	durata oraria (min)	fre quenza oraria	durata oraria (min)
Directional swim	State	80,70	20,73	68,13	15,34
Belly up swim	State	50,52	8,85	71,91	19,05
Side swim	State	24,19	3,45	7,82	1,10
Swim preferred-trip	State	0,25	0,11	0,39	2,64
Swim random	State	0,00	0,00	0,03	0,02
Rest	State	0,06	0,04	0,00	0,00
Vertical stand	State	4,43	4,89	2,91	1,10
Lie	State	1,56	1,79	0,18	0,29
Head thrust	State	0,00	0,00	0,00	0,00
Spy hop	Event	0,00	-	0,03	-
Fluke out	Event	0,00	-	0,00	-
Sink	State	2,14	0,58	5,32	0,79
Exploratory behaviour	State	5,90	2,13	15,28	5,62
Spheric position	Event	0,00	0,00	0,06	0,01
chewing	Event	0,29	0,06	3,06	1,92

wall suckling	Event	1,02	-	5,32	-
Tank rub	Event	131,09	-	131,60	-
Roll	Event	1,34	-	1,13	-
Stop	Event	0,00	-	0,03	-
Ventral arch	Event	1,21	-	0,06	-
Dorsal arch	Event	0,80	-	1,75	-
Side arch	Event	1,50	-	0,15	-
Flexion	Event	0,00	-	0,00	-
abdominalcramp	Event	0,00	-	0,00	-
Jerk	Event	0,00	-	0,00	-
Pectoral jerk	Event	0,00	-	0,00	-
lowerlimbjerk	Event	0,00	-	0,00	-
Head jerk	Event	0,00	-	0,03	-
Nodding	Event	0,00	-	0,00	-
headturn	Event	0,00	-	0,00	-
Open and close mouth	Event	0,00	-	0,18	-
bloating neck	Event	14,95	2,08	0,00	0,00
Approach	Event	4,69	-	0,06	-
Leave	Event	0,19	-	2,08	-
Contact +	State	7,71	-	4,40	-
Contact -	Event	1,43	-	2,79	-
Rubbing +	State	0,00	-	0,06	-
Rubbing -	State	0,00	-	0,03	-
Mouthing	Event	0,00	0,00	0,00	0,00
Nibbling	Event	0,38	-	0,00	-
Belly to belly swim	State	2,29	1,23	0,86	0,74
slapping	State	0,86	0,65	0,48	0,28
jawclap	Event	3,41	-	0,00	-
chase	Event	0,41	0,30	0,15	0,06
push	Event	2,49	1,64	1,90	0,96
bodyslam	Event	0,00	-	0,00	-
bite	Event	0,00	-	0,86	-
headhit	Event	0,00	-	0,36	-
tuskhit	Event	15,87	-	0,39	-
flinch	Event	0,00	-	0,00	-
flounce	Event	0,00	0,00	0,00	0,00
bellypresent	Event	0,00	-	0,00	-

erection	Event	3,70	-	0,00	-
genitalrub	Event	0,00	-	0,03	-
matattempt	Event	3,60	-	1,72	-
mate	Event	0,45	0,70	0,21	0,14
masturbation	Event	2,33	-	0,00	-
oralmasturb	Event	1,27	-	0,00	-
dorsaldive	Event	2,29	-	16,20	-
lateraldive	Event	0,48	-	0,56	-
glidingdive	Event	0,00	-	0,00	-
rollingdive	Event	0,19	-	0,95	-
gliding	Event	0,00	-	0,21	-
walk	Event	0,25	0,13	0,48	0,25
headup	Event	0,61	1,02	1,19	1,78
liedown	Event	0,48	6,51	1,19	7,32
lieup	State	0,32	4,75	0,56	1,48
standing	State	2,33	0,82	2,47	0,87
bubble	State	7,52	-	1,99	-
bubblering	Event	0,00	-	0,00	-
playobject	Event	0,00	0,00	0,00	0,00
waterspit	Event	0,03	-	0,12	-

I dati dati raccolti, sono stati trattati in modo da calcolare le frequenze e le durate orarie di ogni modulo comportamentale osservato sul campo.

Le frequenze orarie permettono di quantificare quante volte il soggetto ripete un determinato comportamento nell'arco di un'ora; mentre le durate orarie indicano quanti minuti il soggetto trascorre ad eseguire quel comportamento in un'ora.

Successivamente, i dati ottenuti sono stati suddivisi per fasce orarie giornaliere e per settimane; questo ha permesso di poter effettuare una analisi riguardo alla distribuzione dei comportamenti durante l'arco della giornata e di valutare l'andamento temporale del comportamento analizzato suddiviso per settimane.

Di seguito sono riportate tutte le tabelle relative alle frequenze e durate orarie suddivise per settimane e per fasce per ogni soggetto studio:

(Tab 4.3 Frequenze orarie settimanali Yuri)

	YURI											
Unità	Frequenza/h SETTIMANE											
comportamentale	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
dirswim	103,871	51,01543	54,84765	50,09025	65,52347	48,85048	107,5154	124,0145	84,73332	78,97827	59,68791	32,06697
swb-up	77,74194	33,46872	28,3827	33,30325	43,59206	28,00346	70,16265	69,00542	47,80825	55,6185	39,40182	12,36317
sideswim	29,03226	5,523964	17,6433	6,227437	10,55957	14,00173	52,49579	64,12297	34,98165	20,76424	9,752926	4,636188
preferred-trip	0	0,324939	0	0	0,270758	0	0	0,325497	0,77737	0,37079	0,390117	0
rest	0	0	0	0	0	0	0	0	0,388685	0	0,390117	0
vertstand	0,645161	3,57433	3,8355	7,310469	1,895307	7,156439	2,019069	0,325497	1,55474	3,33711	4,681404	11,20412
lie	0,322581	0,324939	0,38355	1,353791	0	4,667243	0	0,976492	0	2,96632	2,730819	3,090792
sink	2,258065	2,599513	2,3013	2,707581	0,541516	0,933449	5,047672	1,627486	3,886849	0,37079	1,170351	0,772698
expbeh	4,193548	3,249391	2,3013	8,393502	0,812274	2,800346	6,561974	2,929476	12,8266	10,75291	6,63199	4,636188
wall suckling	0,322581	0	0	0,812274	0	0	1,009534	0	0	0	0,390117	0,772698
chewing	3,225806	0	0	0,541516	0	0	0	0,325497	1,166055	2,96632	0,780234	2,318094
tankrub	184,1935	83,1844	90,13424	83,3935	98,82671	74,98704		195,9494	134,485	145,3497	92,84785	41,72569
roll	0,322581	3,57433	3,0684	0,270758	2,436823	0	-,	0	0,77737	0	2,340702	1,159047
ventarch	0	0	0,38355	1,083032	1,353791	0,622299	6,057207	2,278481	0,77737	1,11237	0,390117	0,386349
dorsarch	0	0,974817	1,5342	1,353791	0,270758	1,555748	0,504767	0	0,77737	0,37079	0,390117	0
sidesarch	1,290323	0,974817	1,5342	0,812274	0,270758			0,325497	0,77737	0,74158		
bloating neck	5,806452	5,199025	4,98615	5,415162	11,37184	12,44598	27,7622	33,85172	19,82293	24,84293	7,412224	3,86349
approach	0	3,899269	8,054549	3,249097	7,851986	2,178047	7,571509	0,650995	2,720795	1,85395	4,681404	
leave	0	0	0,38355	0,270758	0	0,622299	1,009534	0	0	0	0	
cont+	4,516129	13,97238	20,32815	10,83032	5,144404	1,555748	1,009534	1,952984	8,939754	4,44948		
cont-	0	1,299756	2,3013	3,519856	0,812274	1,244598	0	0	1,55474	0,74158	,	
nibbling	0	2 000200	0,7671	1,895307	0,541516	1 244500	1 51 4202	0	0 77727	0 27070	0	-,
bellytobelly	0	3,899269	4,98615	1,353791	5,685921	1,244598		0	0,77737	0,37079	3,511053	0,386349
slapping jawclap	0	1,299756	0,38355 0	0,541516	0,541516 6,768953	0,622299 1,244598	0,504767	0	0,388685	7,4158	2,730819 1,170351	2,704443 4,636188
chase	0	12,67262 0	0	0,812274	0,700933		0,304767	0	0	7,4136		1,159047
push	0	3,57433	8,821649	4,33213	2,436823	0,31115	0	0	1,943425	1,11237	1,560468	
tuskhit	0	11,69781	41,80695	15,97473	28,97112	3,422645		0	8,162384	1,85395	7,022107	15,06761
erection	2,258065	5,523964	1,15065	3,519856	1,353791	1,555748	0	0,325497	4,275534	4,07869	7,022107	9,658725
matattempt	0	0	7,287449	2,436823	9,476534	0	0	0,323 137	5,830274	0	3,90117	8,499678
mate	0	0	0	0,270758	0,541516	0	0	0	0,388685	0	0,390117	3,477141
masturbation	1,612903	7,473599	0,38355	0,812274	0	0,933449	0	0	1,943425	2,96632	5,851756	3,86349
oralmasturb	0,483871	4,711617	0,191775	0,812274	0,406137	0,155575	0	0,162749	0	0,926975	2,535761	0,772698
dorsaldive	4,193548	2,924452	1,91775	2,978339	2,166065	0,933449	3,028603	1,627486	1,166055	0	1,950585	0,386349
lateraldive	0	0,324939	1,5342	0,541516	0,270758	0	0	0	0	0,37079	1,560468	0,772698
rollingdive	0,322581	0,974817	0	0	0	0	0	0	0,77737	0	0	0
walk	0,645161	0,324939	0,38355	0	0	0	0	0	0,77737	0	0,780234	0
headup	0,967742	0,974817	1,15065	0	0,541516	0	0	0	1,166055	0	1,560468	0,386349
liedown	1,290323	0,324939	0,38355	0,541516	0	0,622299	0	0	0,77737	0	0,780234	0,386349
lieup	0	0	1,5342	0	0		-,	0	0,77737	0,37079	0,390117	0,386349
standing	4,193548	5,199025	2,68485	1,624549	1,624549	1,244598	1,514302	0,976492	1,943425	0,37079	2,340702	0
bubble	8,064516	13,3225	6,903899	6,498195	9,205776	2,800346	2,523836	6,184448	6,607644	9,26975	1,950585	4,636188
waterspit	0	0,324939	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(Tab 4.4 Frequenze orarie settimanali Tania)

	TANIA											
Unità					1	frequenza/h	SETTIMANE					
comportamentale	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
dirswim	42,04715	82,28386	44,01055	42,93381	47,2317	40,97965	127,2593	111,7517	79,19265	94,71141	73,07486	30,71862
swb-up	54,66129	93,99224	50,65963	40,51878	49,43584	41,2901	125,7443	110,4213	90,21431	99,22148	75,00805	28,8681
sideswim	2,675727	5,854188	3,799472	4,830054	8,501706	5,898586	19,6949	17,2949	4,082095	10,95302	10,8259	5,921661
preferred-trip	0	0	0	1,073345	1,57439	0,931356	0	0	0	0,322148	0	0
swrandom	0	0	0	0,268336	0	0	0	0	0	0	0	0
vertstand	0	0	0,633245	2,951699	2,833902	1,862711	1,89374	1,662971	8,5724	0,322148	7,34615	5,181454
lie	0,764494	0	0	0,268336	0	0	0	0	0	0	0,386639	0,740208
spyhop	0	0	0,316623	0	0	0	0	0	0	0	0	0
sink	6,880442	3,252327	12,03166	4,561717	4,72317	2,173163	7,953709	6,984479	4,898515	4,510067	1,933197	5,921661
expbeh	14,14313	20,81489	32,61214	14,49016	10,39097	10,24491	17,42241	15,29933	21,63511	3,865772	13,91902	7,402077
sphericposition	0	0,325233	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,370104
wall suckling	0	0	1,583113	6,708408	0,944634	2,483615	1,514992	1,330377	12,24629	0,322148	3,093116	4,441246
chewing	13,37864	2,601861	4,432718	2,146691	2,833902	3,725423	7,196213	6,31929	6,123143	5,154362	8,892708	0,370104
tankrub	116,9675	161,9659	99,73615	74,06082	76,20047	80,40704	239,7475	210,5322	144,5062	178,4698	146,1497	57,7362
roll	0	0	0	0,805009	2,833902	1,862711	0	0	0,816419	0,322148	3,866395	1,480415
stop	0	0,325233	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ventarch	0	0	0,633245	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dorsarch	0	0	0	0	0	0	0,378748	0,332594	5,714934	6,765101	2,706476	5,921661
sidesarch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,322148	0,773279	0,740208
headjerk	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
openmouth	0	0,975698	0	0	0	0	0	0	0	0,644295	0	0
approach	0	0	0,633245	0	0	0	0	0	0	0	0	0
leave	0	0	0	2,146691	6,927316	0,310452	0	0	0,816419	0	5,412952	1,480415
cont+	3,057974	1,626163	11,39842	3,488372	8,816584	1,862711	0	0	3,673886	0,644295	3,866395	5,181454
cont-	0,764494	0,975698	5,699208	2,146691	5,667804	1,241808	0,757496	0,665188	2,857467	0,322148	5,412952	4,81135
rub+	0	0	0	0	0,314878	0	0,378748	0,332594	0	0	0	0
rub-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
bellytobelly	0,382247	0,325233	0,316623	1,073345	3,778536	0	0	0	0	0	3,093116	0,370104
slapping	0	0	0,633245	0,268336	2,519024	0	0	0	0	0	1,159918	0,370104
chase	0	0	1,266491	0,268336	0	0	0	0	0	0	0	0
push	0	0,325233	6,015831	1,341682	7,557072	0,310452	0	0	0	0	3,866395	1,480415
bite	0	0	6,649077	0,268336	2,204146	0	0	0	0	0	0	0
headhit	0	0,325233	0,949868	0,268336	1,57439	0	0	0	0	0	0	0
tuskhit	0	0	1,899736	0,805009	0,944634	0	0	0	0,40821	0	0	0
genitalrub	0	0	0,316623	0	0	0	0	0	0	0	0	0
matattempt	0	0	0,316623	0,268336	6,927316	0	0	0	0	0	8,119429	4,81135
mate	0	0	0	0	1,259512	0	0	0	0	0	0,386639	0,740208
dorsaldive	12,61414	42,60548	16,46438	17,17352	8,816584	2,173163	21,96739	19,29047	14,28733	15,78523	6,186231	6,291765
lateraldive	0,764494	0	1,583113	1,610018	0,629756	0	0	0	0	0,322148	0	0
rollingdive	0,382247	1,626163	3,166227	0,805009	1,889268	0	0	0	0	1,288591	0	0,370104
gliding	0,764494	0	0	0,268336	0	0	0	0	0	0	0,386639	0,740208
walk	0	0	0,633245	0,268336	0	0	0	0	0	1,932886	0	0
headup	0,382247	0	1,899736	1,878354	0,629756	0	0	0	0		0,386639	1,110312
liedown	2,293481	0	1,266491	2,146691	0,314878	0,931356	0	0	0	2,255034	0,386639	0,370104
lieup	0,382247	0,650465	0	0	0,314878	0,310452	0	0	0		0	1,480415
standing	0,764494	3,577559	9,498681	1,610018	1,259512	0,931356	1,89374	1,662971	2,449257	1,932886	0,773279	0,740208
bubble	2,293481	3,252327	2,849604	2,415027	1,57439	0,620904	2,272488	1,995565	2,857467	0,322148	0	2,960831
waterspit	0	0		0,268336	0	0		0,332594	0,40821	0	0	0
	<u> </u>		-,	2,23000	Ŭ	, ,	2,2.07.10	2,222004	-,	Ŭ	· ·	Ŭ

(Tab 4.5 Durate orarie settimanali Yuri)

	YURI											
Unità						Durata/h S	SETTIMANE					
comportamentale	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
dirswim	21,25269	23,49851		15,81227	31,87704		20,80482	21,3906		19,34288	,	
swb-up	14,33333	9,466558	4,660132	6,019856	9,601046			8,717902	11,07752	,	7,119636	,
sideswim	5,306452	1,716761	2,972512	0,938628	1,850883	1,94987	6,873247	5,728752	8,402073		1,293888	0,418545
preferred-trip	0	0,064988	0	0	0,117724	0	0	0,206148		0,605624	0,110533	0
rest	0	0	0	0	0	0	0	0,227848	0	0	0,156047	0
vertstand	0,145161	5,079881	2,921372	5,532491	3,276651	14,0121	0,445878	0,819168	0 634053	,	5,741222	11,80296
lie 	0,274194	0,28703	0,33241	4,296029	0	1,908384	0 20206	0,423146	-,		3,237971	3,676755
sink	0,172043	1,510967	1,438312	0,4287	1,118378	0,082973	0,30286	0,667269	0,064781		0,078023	0,431423
expbeh	1,44086	1,294341	2,243767	3,240072	0,189666	0,964564	1,514302	5,571429	0,375729	2,403955	1,339402	2,202189
wall suckling	0,032258	0	0		0	0	0,100953	0	0	0	0,091027	0,128783
chewing	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
tankrub	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
roll	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ventarch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dorsarch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
sidesarch	0	0		0	0	0	0	0		0		
bloating neck	1,349462	1,429732	0,760707	1,087545	2,125572	1,716508		2,696203	5,020514	3,287671	0,845254	0,444301
approach	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
leave	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
cont+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
cont-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
nibbling	0	0	1,930535	0,99278	0	0,430424	0,454291	0.466546	0	0,030899	0.003774	1 44227
bellytobelly		2,751151						0,466546	0		0,903771	1,44237
slapping	0	0,611969	0,53697 0	0,121841	0,28123	0,114088 0	0	0,379747 0	0	0	3,361508 0	2,247263
jawclap	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0 202222
chase push	0	2.696994	5,42084		3,008502	0,025929	0	1,996383	0	0,537645	3,426528 1,417425	0,283323 2,292337
tuskhit	0	2,090994	3,42064	1,101063	3,008302	0,023929	0	1,990363	0	0,337043	1,417423	2,232337
erection	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
matattempt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mate	0	0	0	0,054152	0,333551	0	0	0,640145	0	0	0.292588	6,980039
masturbation	0	0	0	0,034132	0,555551	0	0	0,040143	0	0	0,232300	0,300033
oralmasturb	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dorsaldive	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
lateraldive	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
rollingdive	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
walk	0,129032	0,064988	0,095887	0	0	0	0	0,417722	0,531203	0	0,195059	0
headup	2,709677	1,835906	1,904965			0		-7			2,080624	
liedown	0,795699	0,28703		18,04603	0,202, 17		0		10,20946		0,221066	
lieup	0,733033	0,20,703	13,40507	0	0	0			0		11,74902	
standing	1,032258	1,45681	0,94609		- v	0,321521	0.311273	0,824593	0,123084	0.043259		0
bubble	0	0	0,3 1003	0	0,507555	0,321321	0,3112/3	0,02 1333	0,123001	0,013233	_,	0
waterspit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0

(Tab 4.6 Durate orarie settimanali Tania)

19,45636   24,27862   16,3219   9,655635   16,1375   10,4881   21,64545   27,13415   22,09094   25,94362   18,64891   7		TANIA											
	Unità						durata/h S	SETTIMANE					
swb-up sideswin psideswim preferred-try         19,45636         24,27862         16,3219         9,655635         16,1375         10,4881         21,64545         27,13415         22,09094         25,94362         18,64891         7 perferred-try           preferred-try         0         0         0         5,245975         1,53338         13,24595         0,763809         2,059998         0,421817         0,997919         1,50145         0           vertstand lie         0         0         0         0,161946         0	comportamentale	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
sideswim preferred-trip preferred-trip         0,586112         0,937754         0,55409         0,876565         1,553398         1,324595         0,763809         2,050988         0,421817         0,987919         1,50145         0           wrandom swrandom vertstand         0         0         0,258575         1,261181         1,469431         0,486375         0,56181         0,260532         2,517292         0,032215         2,835356         3           lie         2,580166         0         0,341818         0         0         0         0         0         0         0         0         1,50145         0           sink spyhop         0	dirswim	14,28329	20,44629	10,93404	11,6771	11,88664	6,886858	19,34771	21,85698	18,66878	17,44966	15,4398	7,716665
Preferred-trip   Swrandom   System   System	swb-up	19,45636	24,27862	16,3219	9,655635	16,1375	10,4881	21,64545	27,13415	22,09094	25,94362	18,64891	7,617971
swrandom vertstad         0         0         0,169946         0 <th>sideswim</th> <th>0,586112</th> <th>0,937754</th> <th>0,55409</th> <th>0,876565</th> <th>1,553398</th> <th>1,324595</th> <th>0,763809</th> <th>2,050998</th> <th>0,421817</th> <th>0,987919</th> <th>1,50145</th> <th>0,709366</th>	sideswim	0,586112	0,937754	0,55409	0,876565	1,553398	1,324595	0,763809	2,050998	0,421817	0,987919	1,50145	0,709366
Vertstand	preferred-trip	0	0	0	5,245975	15,83836	3,984132	0	0	0	1,927517	0	0
Isage	swrandom	0	0	0	0,169946	0	0	0	0	0	0	0	0
syphop sink         0 <th< th=""><th>vertstand</th><th>0</th><th>0</th><th>0,258575</th><th>1,261181</th><th>1,469431</th><th>0,486375</th><th>0,56181</th><th>0,260532</th><th>2,517292</th><th>0,032215</th><th>2,835356</th><th>3,435797</th></th<>	vertstand	0	0	0,258575	1,261181	1,469431	0,486375	0,56181	0,260532	2,517292	0,032215	2,835356	3,435797
sink         0,942875         0,411961         2,005277         0,505367         0,781947         0,201794         0,258811         0,637472         0,476244         0,451007         0,347976           expbeh sphericposition         0 </th <th>lie</th> <th>2,580166</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0,134168</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0,115992</th> <th>0,758713</th>	lie	2,580166	0	0	0,134168	0	0	0	0	0	0	0,115992	0,758713
Expbeh   Sphericosition   Sphericosition   Sphericosition   O   O   O   O   O   O   O   O   O	spyhop	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
sphericposition wall suckling chewing tankrub         0         0,037944         0	sink	0,942875	0,411961	2,005277	0,505367	0,781947	0,201794	0,258811	0,637472	0,476244	0,451007	0,347976	1,88753
Vall suckling	expbeh	4,211085	7,534556	14,97098	5,966011	2,770926	3,363229	3,231983	7,178492	6,844313	0,880537	3,164	2,775779
Chewing tankrub   O	sphericposition	0	0,037944	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,111031
tankrub         0 </th <th>wall suckling</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0,601583</th> <th>3,282648</th> <th>0,204671</th> <th>2,763022</th> <th>1,622304</th> <th>0,58204</th> <th>8,293457</th> <th>0,042953</th> <th>0,612179</th> <th>4,62013</th>	wall suckling	0	0	0,601583	3,282648	0,204671	2,763022	1,622304	0,58204	8,293457	0,042953	0,612179	4,62013
tankrub         0 </th <th>_</th> <th>0</th> <th>0</th> <th></th> <th>0</th> <th>0</th> <th></th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th> <th>0</th>	_	0	0		0	0		0	0	0	0	0	0
roll         0	_	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
stop         0													0
ventarch         0<													0
Description   Content   Content				0								_	0
sidesarch headjerk         0													0
Neadjerk													0
openmouth approach         0				_	,	·	·	·			_	_	0
approach													0
Leave													0
cont- cont- rub+ rub- pellytobelly         0	. * *												0
cont- rub+ rub- bellytobelly slapping         0													0
rub+         0													0
rub-bellytobelly bellytobelly slapping         0													0
bellytobelly slapping         3,013379         0,623363         0,100264         0,916816         1,280504         0         0         0         0         1,449898           slapping chase         0         0         0,348285         0,214669         1,978483         0         0,063125         0         0         0         0         0,328644         0           push         0         0,054205         3,419525         0,447227         3,264235         0,051742         0			_			_		_		_			0
slapping chase         0         0         0,348285         0,214669         1,978483         0         0,063125         0         0         0         0,328644         0           push         0         0,054205         3,419525         0,447227         3,264235         0,051742         0 <th< th=""><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th>0,19122</th></th<>													0,19122
chase         0         0         0,390501         0,219141         0					-								0,074021
push         0         0,054205         3,419525         0,447227         3,264235         0,051742         0				-,		,				_		-	0,074021
bite         0													1,795004
headhit         0 </th <th>-</th> <th></th> <th>,</th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th>_</th> <th>0</th>	-		,									_	0
tuskhit         0 </th <th></th> <th>0</th>													0
genitalrub         0													0
matattempt mate         0													0
mate         0         0         0         0,556284         0         0         0         0,741059         0           dorsaldive lateraldive rollingdive gliding         0	~												0
dorsaldive lateraldive         0	-										-		0,394777
lateraldive rollingdive gliding         0 <t< th=""><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th></th><th>,</th><th>0,334777</th></t<>												,	0,334777
rollingdive gliding         0         0         0         0         0         0         0         0         0         0			_										0
gliding 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0													0
	~												0
U U U, 20430  U, 123224  U U 2,033/33  U U U,440208  U													0
					,			-			-		0,265241
				,									
		•		_			-	,					25,4138
		•	,			,	-	,			-		1,246016
	_												0,172715
													0
waterspit         0	waterspit	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(Tab 4.7 frequenze e durate orarie per fasce Yuri)

	FAGG	VTA 4		URI	FASCIA C		
Unità	FASC	durata	FASC	durata		durata	
comportamentale	frequenza oraria	oraria (min)	frequenza oraria	oraria (min)	frequenza oraria	oraria (min)	
Directional swim	108,08203	22,394853	88,500513	20,778038	42,355171	15,523483	
Belly up swim	72,086852	11,733012	57,705367	9,1422104	20,087911	4,6371213	
Side swim	37,828709	4,1222356	24,92038	3,8880846	9,8544469	1,8777672	
Swim preferred-trip	0,482509	0,2155207	0,1895086	0,0915958	0,0947543	0,0117198	
Swim random	0	0	0	0	0	C	
Rest	0	0,0675513	0,0947543	0,0379017	0	0	
Vertical stand	1,6405308	0,5838359	6,064275	5,5399679	5,4957492	6,9341957	
Lie	0	0	2,6531203	2,4114969	1,9898402	2,4025523	
Sink	1,6405308	0,3345396	1,4213145	0,1752954	3,1268918	0,9779495	
Exploratory behaviour	4,6320869	2,1712907	7,5803437	2,2409391	4,5482062	1,5938884	
Spheric position	0	0	0	0	0	(	
chewing	0	0	0,3790172	0,0805412	0,4737715	0,0833406	
wall suckling							
_	0,9650181	0	1,7055773	0	0,3790172	C	
Tank rub	187,79252	0	146,96391	0	55,431264	0	
Roll Stop	0,3860072	0	0,1895086	0	3,2216461		
Ventral arch	0 7730145	0		0	2,0845945		
Dorsal arch	0,7720145	0	1,0422973	0	0,8527887	(	
bloating neck	0,102303	2,168074	0	2,2314637	0	1,4753885	
Approach	21,037394	0	17,908562	0	5,5905035	C	
Leave	0,3860072	0	1,9898402	0	10,707236	C	
Contact +	0	0	0,2842629	0	0,2842629	C	
Contact -	4,2460796	0	4,9272234	0	13,265602	C	
Mouthing	0	0	0	0	0	C	
Nibbling	0	0	0	0	0	C	
Belly to belly swim	0	0,1688782	0	0,3616456	1,1370516	2,57314	
slapping	0,1930036	0,1125854	0,947543	1,4402653	5,4957492	0,3164337	
jawclap	0	0	1,7055773	0	0,7580344	C	
chase	3,5705669	0,0611178	1,8950859	0,0047377	4,7377148	0,6901641	
push	0,1930036	0,6642541	0,0947543	0,4137604	0,947543	3,1369911	
bite	0	0	0	0	0	C	
headhit	0	0	0	0	0	C	
tuskhit	0	0	0	0	0	C	
flinch	0,482509	0	5,2114863	0	31,647935	0	
flounce	0	0	0	0	0		
erection	1.0615199	0	0 4,453452	0	0 E 116722		
genitalrub matattempt	1,0615199	0	4,453452 0	0	5,116732 0	0	
mate	0	0,1897869	0,0947543	0	8,9069039	1,5522181	
masturbation	0	0	0	0	1,2318059	C	
oralmasturb	0,2895054	0	3,505909	0	2,9373832	C	
dorsaldive	0,0965018	0	1,8950859	0	1,8003316	C	
lateraldive	3,2810615	0	1,8950859	0	1,7055773	C	
rollingdive	0	0	0	0	0	C	
gliding	0,3860072	0	0	0	0,1895086	C	
walk	0	0,3039807	0	0,0189509	0	0,0507857	
headup	0,3860072	0,8556494	0,0947543	1,1038876	0,2842629	0,8894001	
liedown	0,7720145	19,200643	0,5685258	0,0836996	0,4737715	0,3424776	
lieup	0,7720145	4,300764	0,0947543	0,0379017	0,5685258	8,1348207	
standing	0,2895054	0,5918778	0,0947543	0,6395915	0,5685258	0,9870648	
bubble	2,9915561	0	1,7055773	0	2,0845945	0	
waterspit	0	0	0	0	0		

(Tab.4.8 frequenze e durate orarie per fasce Tania)

	FASC	IA A	FASC	CIA B	FASCIA C		
Unità comportamentale	frequenza	durata	frequenza	durata	frequenza	durata	
	oraria	oraria (min)	oraria	oraria (min)	oraria	oraria (min)	
Directional swim	71,97687	14,14725	81,62919		41,80012		
Belly up swim	·				-	,	
Side swim	77,51355 7,685245	18,79013 0,939025	87,6538 10,26729	12,10418 0,646254	40,79837 4,462322	11,58534 0,919784	
					4,402322	0,313764	
Swim preferred-trip	0,578459	3,995325	0,509122	1,706846	0	0	
Swim random	0	0	0	0	0,091068	0,057676	
Rest	0	0	0	0	0	0	
Vertical stand	0,165274	0,023373	-	0,523225		2,211429	
Lie	0	0	0,084854	0,009192	-,	0,854519	
Sink	3,140208	0,412456	6,024608	0,393126	6,374746	1,091295	
Exploratory behaviour	3,470756	0,683302	20,02546	3,194503	21,492	9,566669	
Spheric position	0	0	0,084854	0,012727	0,091068	0,010625	
chewing	0,413185	0,068743	3,903267	1,110793	4,735525	3,389239	
wall suckling	2.80966	0	8,65507	0	3,915915	0	
Tank rub	132,1366	0	163,6826	0	81,86995	0	
Roll	0	0	0,254561	0	3,187373	0	
Stop	0,082637	0	0	0	0	0	
Ventral arch	0	0	0,169707	0	0	0	
Dorsal arch	1,570104	0	2,545609	0		0	
bloating neck	0	0	0,084854	0	-,-	0	
Approach	0	0	0,084834	0	0,43333	0	
Leave	0	0	0	0	0,182136	0	
Contact +	0,082637	0	0,593975	0	3,915915	0	
Contact -	0,578459	0	3,563852	0	9,015712	0	
Mouthing	0,570433	0	0	0	0,091068	0	
Nibbling	0	0	0	0	0	0	
Belly to belly swim	0	0	0	0,013434	0	1,96251	
slapping	0	0	0,084854	0,006364	2,458831	0,842377	
jawclap	0	0	0,084854	0	1,366017	0	
chase	0	0	0	0	0	0,186689	
push	0	0	0	0,265855	0,455339	2,366244	
bite	0	0	0	0	0	0	
headhit	0	0	1,187951	0	1,366017	0	
tuskhit	0	0	0	0	1,001746	0	
flinch	0	0	0,084854	0	1,092814	0	
flounce	0	0	0	0	0	0	
erection	0	0	0	0	0	0	
genitalrub	0	0	0	0	0	0	
matattempt	0	0	0	0	0,091068	0	
mate	0	0	0,084854	0		0,432572	
masturbation	0	0	0	0		0	
oralmasturb	0	0	0	0	0	0	
dorsaldive	0	0	0	0	0	0	
lateraldive	19,41971	0	14,34026	0	12,84056	0	
rollingdive	0 247011	0	0.762693	0	1 921256	0	
gliding	0,247911 0	0,094865	-	0 0 019798		0 0 605601	
walk	0,247911						
headup	0,247911	16,80484		0,207876 0,01202			
liedown lieup	0,247911	0,028872		0,01202	•	4,199742	
standing	0,082637	0,885406		0,229088	1,274949	1,170221	
bubble	1,735378	0,883400	1,612219	0,229088	3,915915	0	
waterspit	0	0	0	0	0	0	
		U	· ·	U	U	U	

# **4.3 NUOTO**

#### 4.3.1 POSIZIONE DI NUOTO DI NUOTO:

Sono state analizzate nello specifico le tre tipologie riguardanti la posizione assunta durante il nuoto:

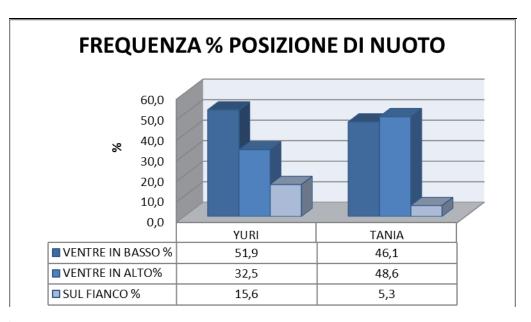
- Ventre in basso ("belly dow")
- Ventre in alto ("belly up")
- Sul fianco ("side swim")

Per quanto riguarda Yuri, la tipologia di nuoto prediletta è quella definita "belly down" che viene manifestata nel 51,9 % dei casi; la seconda tipologia più adottata è il "belly up" con il 32,5%.

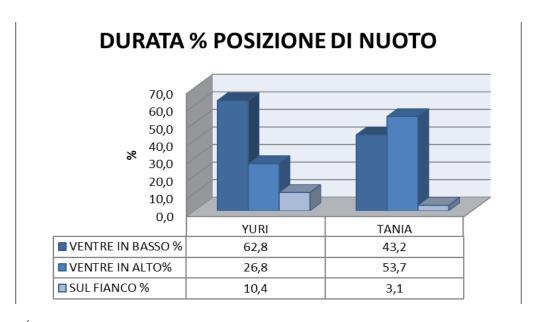
La meno utilizzata, da entrambi gli esemplari, è "side swim" con il 15,6% dei casi (Grafico 5.1).

Tania predilige un tipo di nuoto a ventre in alto e lo attua nel 48,6% dei casi mentre gli altri due stili di nuoto, "belly down" e "side swim", vengono manifestati in percentuale rispettivamente di 43,2% e 3,1%.

Le durate orarie rispecchiano specularmente la frequenza, infatti, la maggior quantità di tempo speso da Yuri è dedicato allo stile di nuoto a ventre basso (62,8%) mentre Tania a ventre alto (53,7%).



(Grafico 4.1 percentuali della frequenza oraria riguardo alla posizione di nuoto)

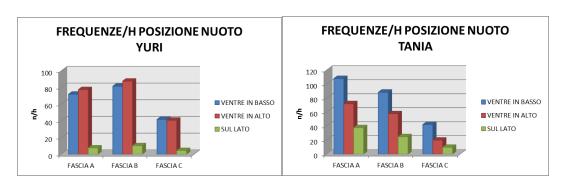


(Grafico 4.2 percentuali della durata oraria riguardo alla posizione di nuoto)

Per quanto riguarda l'analisi per fasce delle frequenze, è emersa una significativa differenza dei due esemplari per il tipo di nuoto "bellyup" tra fascia A e fascia C (p=0) e tra fascia B fascia C (p=0).

La fascia B di Yuri vede il nuoto a ventre alto il più utilizzato e il nuoto sul lato il meno prediletto; per quest'ultimo è stata osservata, riguardo ai due esemplari, una differenza significativa tra la fascia B e la fascia C

(p=0,001). La massima frequenza di "belly up" per Yuri è presente in fascia B, dove raggiunge 87,65 atti/h. Nella fascia C vi è una netta diminuzione delle frequenze orarie rispetto a tutti e tre i tipi di nuoto e un'equiparazione tra il nuoto a ventre alto e il nuoto a ventre basso (Grafico 5.3). Nelle tre fasce orarie Tania manifesta invece un andamento simile dei tre tipi di nuoto che si riduce in proporzione col passare delle ore durante il giorno. L'esemplare femmina predilige infatti, come già descritto, il nuoto ventre basso, che raggiunge la sua frequenza massima nella prima fascia della giornata con 108,08 atti/h.



(Grafico 4.3 frequenze orarie delle posizioni di nuoto analizzate per fasce)

L'analisi delle durate orarie delle posizioni di nuoto rivelano una differenza significativa,per i due esemplari, tra le durate orarie del nuoto"belly up" tra fascia A e fascia C con p=0,004 e tra la fascia B e C (p=0). Si osserva in oltre una relazione significativa per il nuoto a ventre basso tra la fascia B e la fascia C (p=0,005). Tania spende la maggior parte del tempo nuotando a ventre basso, soprattutto nella fascia centrale della giornata nella quale raggiunge un massimo di durata media di 24,17 min/h.

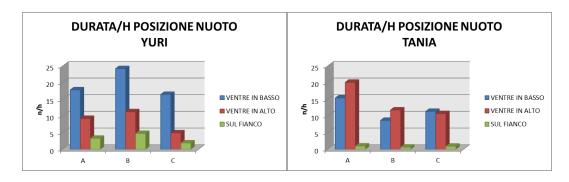
Quindi, anche se il nuoto a ventre alto è eseguito in un maggior numero di casi risulta effettuato per minor tempo rispetto al nuoto ventre basso. Nella prima e nell'ultima fascia giornaliera i valori medi relativi a questa tipologia di nuoto sono pressoché identici: rispettivamente 17,80 min/h e 16,43 min/h.

Anche Tania compie questo tipo d'inversione; pur prediligendo a livello di frequenza oraria il nuoto a ventre basso, effettua per una durata di tempo più lungo quello ventre alto.

Nella prima e nella seconda fascia giornaliera i livelli di durata oraria raggiungono rispettivamente 20,09 min/h e fascia B 11,78 min/h.

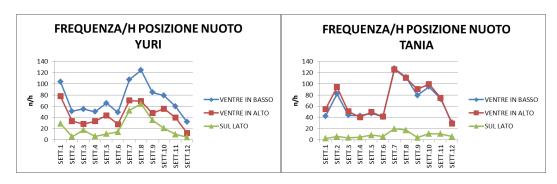
In fascia C la durata oraria dei due valori di nuoto prediletti quasi si equivalgono: il valore di durata del nuoto a ventre basso è 11,36 min/h mentre quello a ventre alto e di 10,70 min/h.

Il nuoto sul fianco in entrambi gli esemplari è il meno utilizzato anche a livello di tempi(Grafico 4.4), infatti, tutte e tre le fasce di osservazione giornaliere presentano medie assai più basse, soprattutto nell'esemplare femmina che presentano durate orarie che rasentano il valore zero per tutto l'arco della giornata.



(Grafico 4.4 durate orarie delle posizioni di nuoto analizzate per fasce)

L'analisi per settimane della tipologia di nuoto (Grafico 4.5), effettuata da Yuri, conferma ciò che è stato in precedenza notato, infatti, predilige il nuoto a ventre basso per tutto il periodo di osservazione soprattutto per quanto riguarda le settimane 7 e 8 (rispettivamente di 107,51 atti/h,124 atti/h, 84,73 atti /h).

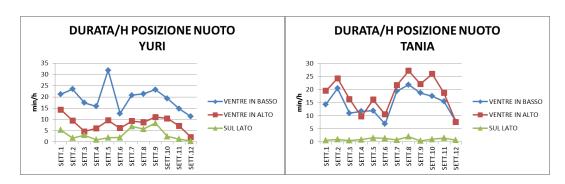


(Grafico 4.5 frequenze orarie delle posizioni di nuoto analizzate per settimane)

Tania presenta un singolare andamento nelle frequenze medie riguardanti le tipologie di nuoto principali, esse sono quasi esattamente sovrapponibili durante tutta la fase di osservazione, presentando un picco nella settima settimana 8 (ventre basso 127,25 atti/h ventre alto 125,74 atti/h).

Il trend di andamento del nuoto sul lato si conferma mediamente più basso attestandosi su valori pari o vicini allo zero durante tutta la fase di osservazione.

Seppur con una leggera predilezione per il nuoto a ventre alto, che registra un massimo di 27,13 min/h nell'ottava settimana, anche l'analisi delle durate orarie medie (Grafico 4.6) conferma ciò che è stato precedentemente affermato, ossia una quasi totale similarità delle due tipologie di nuoto principali; esplica in oltre un trend riguardante il nuoto sul lato con valori rasenti lo zero per tutto il periodo.



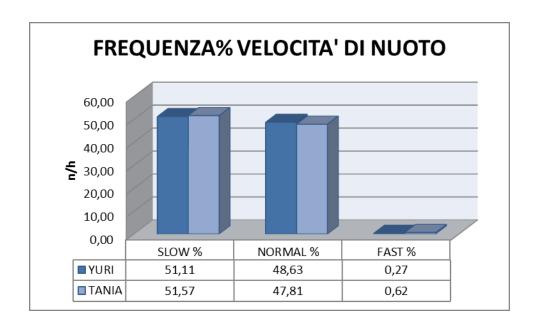
(Grafico 4.6 durate orarie delle posizioni di nuoto analizzate per settimane).

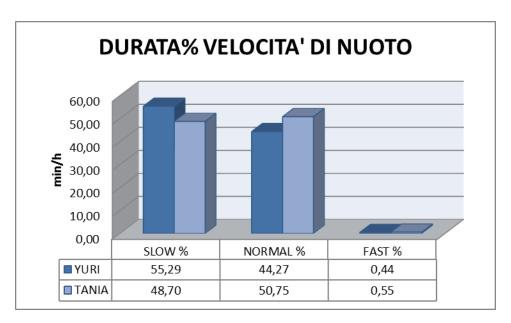
# 4.3.2 VELOCITA' DÌ NUOTO:

Lo studio delle caratteristiche del nuoto dei due esemplari di tricheco, per quanto riguarda la velocità, rivela come vi sia un'estrema congruenza sia per quanto riguarda la frequenza oraria che la durata oraria dei due esemplari.

Le tre le velocità di nuoto studiate (slow, normal, fast) mostrano sovrapposizione dei dati in entrambi i trichechi che presentano una predilezione per il nuoto "slow" (51,11% Yuri e 51,57% Tania) e per il nuoto "normal" (48,63% Yuri e 47,81% Tania) mentre il nuoto di tipo "fast" viene adottato in meno dell'1% dei casi (0,27% Yuri e 0,62% Tania). (Grafico 4.7)

Anche le durate orarie medie presentano questo aspetto mostrando una netta predilezione per il tipo di nuoto "slow" e "normal" infatti vengono utilizzati per la maggior parte del tempo sia da Yuri che da Tania ("slow" 55,29% Yuri 48,70% e Tania; "normal" 44,27% Yuri e 50,75% Tania) mentre il nuoto "fast" è utilizzato solo per lo 0,44% del tempo da Yuri e per lo 0,55% da Tania. (Ggrafico 4.8)



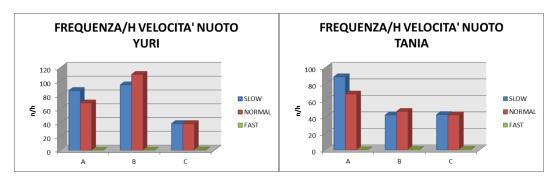


(Grafico 4.8 durate orarie relative alla velocità di nuoto)

L'analisi delle frequenze riguardanti la velocità registrata da Tania durante l'arco della giornata, rivela una marcata assiduità nell'attuare il nuoto lento nella fascia A (massimo di 88,76/h), seguito da un continuo alternarsi delle due velocità maggiormente adottate che risultano essere, a livello di frequenza/h, la "normal" e "slow"nel resto della giornata.

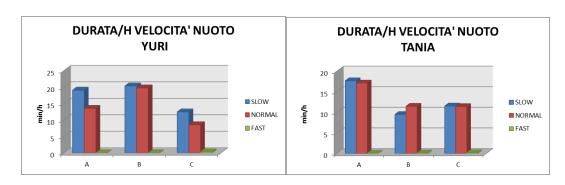
L'andatura lenta nelle prime ore della giornata, seppur in minor modo, è adottata anche da Yuri; in fascia B l'andatura prediletta è "slow" (94,84 atti/h).

Da sottolineare che, per entrambi i soggetti la fascia C è caratterizzata da un equiparazione delle frequenze dei due tipi di andatura maggiormente utilizzata, e che i livelli del portamento definito "fast" registra valori vicini allo zero in tutte tre le fasce.



(Grafico 4.9 frequenze orarie delle velocità di nuoto analizzate per fasce)

Dall'analisi delle durate orarie (grafico 4.10) si evince quanto notato per le frequenze, ossia che, il nuoto "slow" e "normal" rimane il più utilizzato soprattutto per quanto riguarda la fascia B di Yuri (massimo di durata oraria della velocità slow 20,34 min/h e velocità normale 19,73 min/h) e la fascia A di Tania (normale 17,09 min/h slow 17,64 min/h).



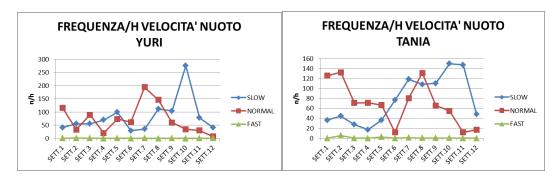
(Grafico 4.10 durate orarie delle velocità di nuoto analizzate per fasce)

L'analisi per settimane delle velocità tenute durante il periodo di studio, sottolinea che gli andamenti risultano discontinui durante tutto l'arco temporale (Grafici 11).

Sia Tania che Yuri presentano una frequenza massima di nuoto lento nell'ultimo periodo di osservazione, ossia tra la decima e l'undicesima settimana dove entrambi presentano il loro picco massimo. Infatti Yuri alla decima settimana raggiunge addirittura i 275,86 atti/h e Tania i 149 atti/h.

Riguardo al nuoto normale l'arco centrale ed iniziale del periodo di studio di Tania risulta essere il più marcato a livello di frequenza, raggiungendo livellai massimi nella seconda e nell'ottava settimana rispettivamente di 132,36/h e 131,04/h.

Yuri invece, per il nuoto normale, presenta un picco nella settima settimana con 194,33 atti/h.

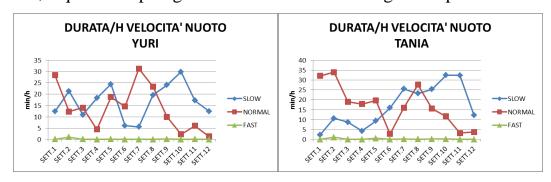


(Grafico 4.11 frequenze orarie delle velocità di nuoto analizzate per fasce)

Il grafico delle durate orarie settimanali permette di focalizzare l'attenzione sul tempo speso effettuando i due tipi di nuoto principali, i quali, presentano per entrambi gli esemplari un andamento molto discontinuo durante tutto il periodo (Grafico 5.12).

Tania, pur tenendo anch'essa un andamento incostante per quanto riguarda il nuoto lento, compie una crescita continuativa fino ad un massimo di durata nella settimana 10 (32,46 min/h).

Lo studio delle durate orarie conferma quanto in precedenza detto sul nuoto "fast", ossia che non vi sono presenti valori alti di questa modalità di nuoto, è quindi la tipologia meno usata da entrambi gli esemplari.

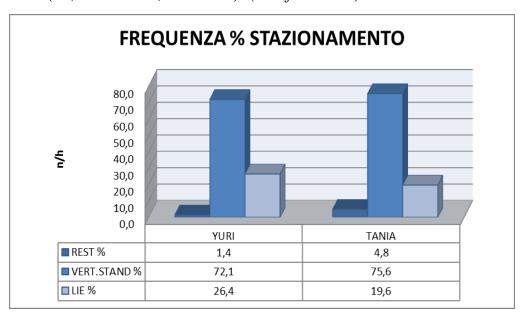


(Grafico 4.12 durate orarie delle velocità di nuoto analizzate per settimane)

# 4.4 STAZIONAMENTO

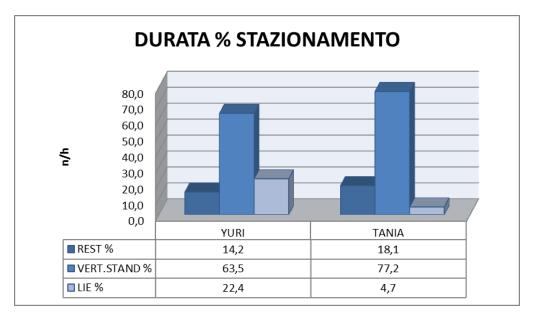
Questa categoria comportamentale è composta da tre livelli di stazionamento: "rest" descrive uno stazionamento orizzontale nella parte superficiale della vasca, "lie" si riferisce sempre ad uno stazionamento in orizzontale ma nella colonna d'acqua o sul fondo e "vertical stand" descrive una tipologia di stazionamento in verticale con il capo in superficie oppure rivolto verso il basso.

Le frequenze percentuali rivelano che entrambi gli esemplari compiono lo stazionamento definito "vertical stand" in maggior frequenza rispetto agli altri due (72,1% Yuri 75,6% Tania). (*Grafico 4.13*)



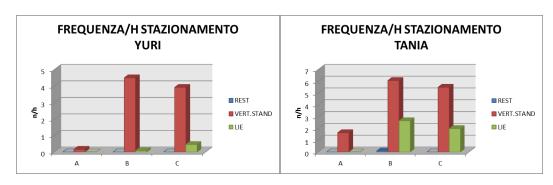
(Grafico 4.13 frequenze orarie percentuali dello stazionamento)

La durata oraria percentuale (*Grafico.14*) rivela come Tania esegua in maniera leggermente più duratura rispetto a Yuri il tipo di stazionamento più utilizzato dai due animali, ossia quello verticale. Anche per quanto riguarda questo tipo di misurazione lo stazionamento meno utilizzato temporalmente è per Yuri il "rest" con il 14,2% mentre per Tania è il "lie" con solo il 4,7%.



(Grafico4.14 durate orarie percentuali dello stazionamento)

Lo studio per fascia giornaliera (*Grafico 5.15*), vede come stazionamento principale il "vertical stand" (Yuri4,9 n/h e Tania 3,91 n/h), in ogni momento della giornata; i due esemplari presentano differenze significative per questa tipologia di nuoto tra la fascia A e B (p=0,001) e tra la fascia A e C (p=0),

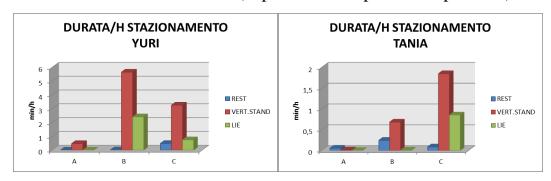


(Grafico 4.15 frequenza oraria stazionamento per fasce)

Per quanto riguarda Yuri, la durata oraria del "vertical stand" conferma quanto in precedenza detto per la frequenza, ossia che è uno dei moduli stazionari più utilizzato, soprattutto riguardo alla fascia B (5,63 min/h). (Grafico 4.16)

Tania invece presenta un picco certamente più marcato in fascia C, momento della giornata nel quale sembra praticare in maniera più assidua lo stazionamento verticale (1,84 min/h).

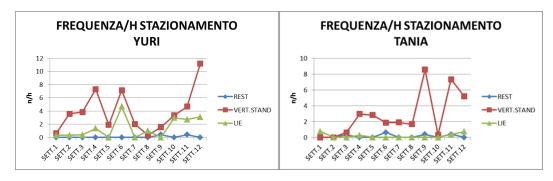
Viene anche confermato che la fascia A vede i due esemplari in continuo movimento acquatico o in zona terrestre, poiché i valori di durata per gli stazionamenti si attestano per entrambi gli esemplari intorno allo zero. Le durate orarie registrano una significativa differenza per i due esemplari tra la fascia A e B, e le fasce A e C (rispettivamente p=0,002 e p=0,012)



(Grafico 4.16 durata oraria stazionamento per fasce)

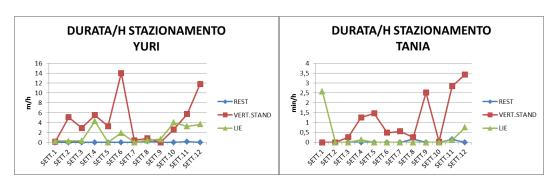
Lo stazionamento verticale risulta il più utilizzato anche in visione settimanale soprattutto verso la fine del periodo osservato. (*Grafico 5.17*) Tania presenta in settimana 9 e 11 due rilevanti picchi (rispettivamente di 8,57 n/h e 7,34 n/h) mentre Yuri fa registrare il suo massimo in settimana 12 con un picco di 11,20 n/h.

Tania rimane regolare e costante in tutte tre le tipologie di stazionamento fino alla settimana 8; mentre Yuri segue un andamento discontinuo per tutte le 12 settimane tranne che per quanto riguarda il "rest" che si attesta sempre a valori vicini allo zero.



(Grafico 5.17 frequenza oraria stazionamento per settimane)

Yuri manifesta un andamento simile riguardo ai due tipi di stazionamento definiti "rest" e "lie" mentre per il terzo tipo di modulo stazionario viene particolarmente adottato in settimana sei e dodici (14,01 min/h e 11,80min/h)



(Grafico 4.18 durata oraria stazionamento per settimane)

# 4.5 QUANTIFICAZIONE E VALUTAZIONE DEI COMPORTAMENTI SOCIALI

Durante l'attività di studio sono stati presi in esame nel particolare i comportamenti sociali attuati dai due soggetti studio.

Questa categoria di moduli etologici è stata suddivisa in tre classi principali:

- Affiliativi
- Aggressivi
- Sessuali

Per quanto riguarda i comportamenti *affiliativi* il soggetto maschio (Yuri), ha manifestato cinque moduli:

1) Approach 2) Leave 3) Nibbling 4) Belly to belly 5) Slapping.

Riguardo agli atteggiamenti *aggressivi* i moduli sociali manifestati sono quattro: 1) *Jawclap 2) Chase 3) Push 4) Tuskhit* 

Mentre riguardo a quelli sessuali sono 5:

1) mate attempt 2) mate 3) masturbation 4) oral masturbation 5) erection

Tramite l'osservazione della frequenza oraria (*Grafico 4.19*) è possibile affermare che i due esemplari esibiscono i moduli comportamentali di questa categoria in maniera differente. Infatti, Yuri ha effettuato con particolare predilezione tutte quelle attività atte a ricercare un contatto o un approccio con l'esemplare femmina in maniera molto più marcata e assidua di quanto non abbia esibito Tania nei suoi confronti. Yuri ha mostrato nella maggior parte dei casi atteggiamenti aggressivi (52,9%) e sessuali (27,1%) mentre per i moduli comportamentali definiti affiliativi la percentuale rimane più bassa (20,1%). Tra le dimostrazioni di aggressività, infatti, il modulo comportamentali "tusk it" (forte colpo di zanne indirizzato a più parti del corpo dell'altro soggetto) è tra i più manifestati.

Per quanto riguarda il soggetto femminile, i moduli comportamentali *affiliativi* messi in atto sono quattro:

1)Approach 2 )Leave 3) Belly to belly 4) Slapping

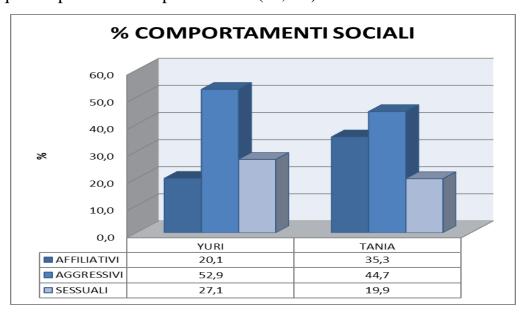
Quelli aggressivi sono quattro:

1) Jawclap 2) Chase 3) Push" 4) Headhit

Mentre quei moduli sociali che rappresentano atteggiamenti di tipo sessuale sono 3: 1) Genitalrub 2) Mate attempt 3) Mate

Anche Tania ha mostrato una particolare predilezione nei comportamenti espressi verso Yuri, mentre, i moduli comportamentali di tipo sessuale sono stati mostrati con meno assiduità (19,9%). L'esemplare maschio è stato il

maggior propositore nella ricerca di contatto fisico in generale, sia a livello sessuale che aggressivo. Riguardo ai comportamenti lo studio mostra una frequenza più elevata rispetto a Yuri (35,3%).

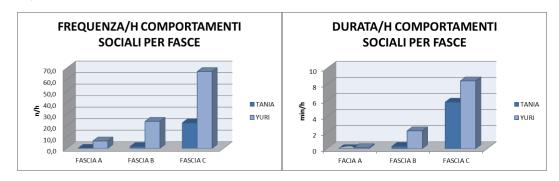


(Grafico 4.19 Percentuale dei tre principali moduli comportamentali sociali)

Entrambi i soggetti hanno manifestato un'attività sociale quasi del tutto assente in orari mattutini, infatti, la frequenza media di Yuri per la fascia A è di 6,5 atti/h e addirittura dello 0,1 atti/h per Tania (Grafico4.14), Infatti il più delle volte, in caso di osservazioni mattutine i due soggetti erano in fase dormiente o comunque situati nell'area secca dell'installazione in assenza o quasi di attività. La maggior attività sociale, Per entrambi i soggetti è stata registrata nelle ore serali in fascia C: Yuri registra la frequenza di 66,8 n/h in questa fascia; mentre il valore riguardante Tania, pur relativamente più basso, è di 22,2n/h. Per quanto riguarda Tania, la fascia centrale della giornata non presenta grandi differenze rispetto alla fascia A, anche se comunque vi è un innalzamento dei valori.

Il grafico delle durate/h medie è strettamente correlato alle frequenze/h, mostrando infatti come in entrambi i casi si evidenzi un innalzamento dei rapporti sociali lungo l'arco della giornata fino a un culmine a fine giornata; il massimo delle iterazioni osservate è stato registrato da Yuri che

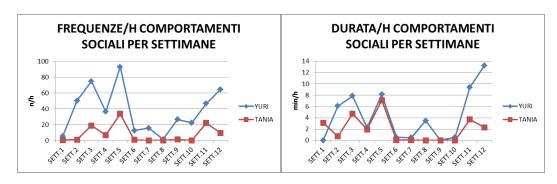
raggiunge gli 8,41 min/h di durata oraria mentre Tania 5,77 min/h (Grafico 4.14).



(Grafico 4.20 frequenza e durate/h dei comportamenti sociali analizzato per fasce)

L'andamento settimanale delle frequenze orarie dei comportamenti sociali risulta relativamente discontinuo durante l'arco del periodo, infatti le prime 6 settimane sono caratterizzate da andamenti altalenanti con picchi massimi di Yuri nella terza e nella quinta settimana rispettivamente di 74,79 e 93 atti/h e massimi di Tania (sempre in terza e in quinta settimana) di 18,6 e 33,5 atti/h. In generale gli andamenti dei due soggetti risultano comparabili fino alla sesta settimana mentre tra la sesta e decima settimana vi è uno scostamento che vede Tania in una fase di quiescenza sociale attestandosi a valori sempre intorno allo zero mentre Yuri, seppur con un calo di frequenza, risulta perseverare in un trend discontinuo fino alla decima settimana dove vi è un innalzamento repentino delle frequenze fino ad un massimo di 64,5 atti/h nella dodicesima ed ultima settimana osservazione(Grafico 4.16). Dal grafico 4.16 si evince come vi sia una congruenza anche nell'assiduità temporale esplicata dai due soggetti per i quali sono stati osservati valori molto simili soprattutto nel corso della settimana 5 dove Yuri e Tania registrano rispettivamente 8,12 min/h 7,10 min/h.

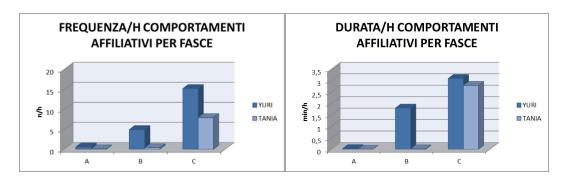
Yuri inoltre, come si può notare anche dalle frequenze, presenta un innalzamento nel tempo trascorso in iterazioni sociali nella dodicesima settimana: 13,24 min/h.



(Grafico 4.21 frequenze e durate orarie dei comportamenti sociali analizzati per settimane)

### 4.5.1 COMPORTAMENTI AFFILIATIVI:

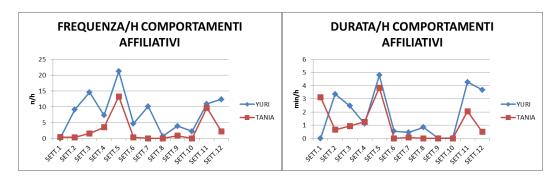
Riguardo l'analisi per fasce è possibile valutare la congruenza con l'analisi generale dei comportamenti sociali che vede le prime due fasce della giornata caratterizzata da una quasi totale assenza di comportamenti affiliativi mentre l'attività sociale della terza ed ultima fascia della giornata è caratterizzata da un'elevata attività che vede Yuri come principale protagonista, e in costante ricerca di un approccio con l'esemplare dell'altro sesso; infatti in fascia C fa registrare il picco massimo di frequenza (15,15 n/h) (Grafico4.18), mentre Tania nella stessa fascia esegue in media 7,92 atti affiliativi/h. Questo trend si rispecchia anche nell'analisi della durata oraria dei comportamenti affiliativi dove è possibile notare inoltre come Tania abbia un'attività temporale relativamente elevata anche in fascia B dove presenta valori di 1,80 min/h. Per questa categoria i due esemplari manifestano una significativa differenza nelle frequenze orarie per il comportamento affiliati "approcci" tra le fasce A e B (p=0,025) e tra le fasce B e C (p=0,001); Anche per il modulo comportamentale facente parte di questa classe di espressioni sociali detto "belly TO belly"si rileva una significativa differenza tra la fascia A e la fascia B (p=0,011), tra la A e la C (p=0) e tra la B e la C (p=0); mentre per la durata oraria si osserva una significativa differenza tra le fasce A e C (p=0,004) e tra la B e la C (p=0,001).



(Grafico 4.22 frequenze e durate orarie dei comportamenti affiliativi analizzato per fasce)

Prendendo in esame nello specifico le frequenze per settimane dei comportamenti affiliativi (Grafico 4.17) è possibile notare come l'andamento di Tania nelle prime cinque settimane subisca un lento ma costante innalzamento (nella quinta settimana arriva a 3,48 atti/h) analogamente Yuri registra un picco nella terza e nella quinta settimana (rispettivamente di 14,17 e 21,19 atti affiliativi/h). L'andamento settimanale generale del soggetto maschio può definirsi più discontinuo rispetto al soggetto femmina che rimane relativamente costante soprattutto tra la sesta e decima settimana dove i valori si attestano intorno allo zero, e manifesta un picco nella undicesima settimana con 9,66 atti affiliativi/h.

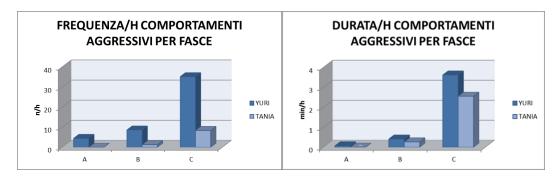
Riguardo alla durata oraria dei moduli comportamentali affiliativi (Grafico 4.17) si nota un'estrema continuità per quanto riguarda il periodo che va dalla sesta alla decima settimana di Tania che, anche in questo caso, registra valori molto bassi sempre intorno allo zero, mentre Yuri presenta un andamento discontinuo che ha il suo culmine, come Tania, nella quinta settimana con valori rispettivamente di 4,78 e 3,84 min/h.



(Grafico4.23 frequenze e durate orarie dei comportamenti affiliativi analizzato per settimane)

#### 4.5.2 COMPORTAMENTI AGGRESSIVI:

Riguardo agli atteggiamenti aggressivi, l'analisi delle fasce orarie mostra una maggior attività della terza fascia nella giornata. Questa tipologia di moduli comportamentali sono manifestati con frequenza molto elevata da Tania ma soprattutto da Yuri (*Grafico 4.25*); raggiungono massimi di frequenza oraria rispettivamente di 2,55 e 35,15 atti/h. Com'era prevedibile Yuri è il maggior esecutore di questa categoria anche per quanto riguarda la durata, con in picco nella terza fascia di 5,42 min/h. La durate orarie rispecchiano in pieno le frequenze con andamento quasi identico nella terza fascia.



(Grafico 4.24 frequenze e durate orarie dei comportamenti aggressivi analizzato per fasce)

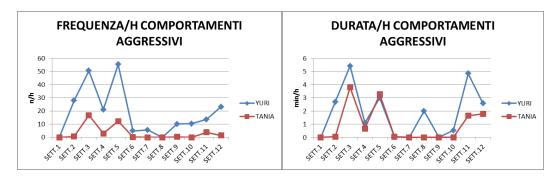
L'analisi comportamentale dell'aggressività manifestata dai due soggetti vede in netta prevalenza di espressioni Yuri, soprattutto nella terza e quinta settimana (50,62 atti/h e 55,33 atti/h) dove si osservano anche i picchi

massimi di Tania, seppur con frequenza minore (16,78 atti/h e 12,80 atti/h). Nel periodo finale dell'osservazione (Grafico 4.19), tra la sesta e la dodicesima settimana è riscontrabile un abbassamento dei livelli di aggressività in entrambi gli esemplari, infatti, Tania rimane quasi per l'intero periodo a livelli pari o vicini allo zero mentre Yuri mantiene sempre un certo grado di aggressività pur non raggiungendo quello delle prime sei settimane. Riguardo ai comportamenti di questa categoria per i due esemplari, si riscontra una significativa differenza per il modulo "puh" tra le fasce A e B (p=0,005), A e C (p=0) e tra le fasce B e C (p=0,001), riguardo alla durata oraria invece, la significativa differenza si riscontra tra le fasce A e C (p=0,001) e tra B e C (p=0,001).

L'analisi della durata oraria dei moduli comportamentali aggressivi rivela che il soggetto maschio, raggiunge il suo massimo nelle le settimane 3 e 11 (5,42 e 4,84 min/h).

Anche il "tusk it" presenta significative differenze per i due esemplari, che si riscontra tra le fasce A e B, A e C e B e C con valori rispettivamente di p=0,03, p=0,01 e p=0,001.

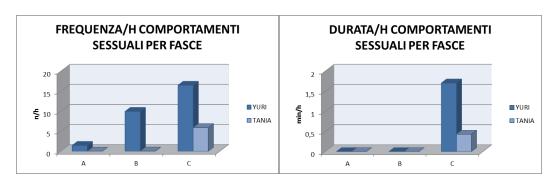
Tania raggiunge il suo massimo di durata di aggressività nella stessa settimana in cui lo raggiunge anche Yuri, ossia la terza dove arriva a 3,81 atti min/h.



(Grafico4.25 frequenze e durate orarie dei comportamenti aggressivi analizzato per settimane)

#### 4.5.3 COMPORTAMENTI SESSUALI:

L'analisi dei comportamenti sessuali durante l'arco della giornata, indica per quanto riguarda il maschio, una crescita costante della frequenza dalle fasce mattutine a quelle serali; nella fascia A mostra una frequenza oraria di 1,44 atti/h fino ad arrivare, nelle ore serali, a un picco di 16,48 atti/h. Al contrario Tania presenta una frequenza pressoché nulla in fascia A e B e vi è un picco di frequenza nella fascia C di 5,91 atti/h. La durata dell'attuazione dei moduli comportamentali sessuali indica un'attività nulla o quasi durante la fascia A e la fascia B della giornata sia per quanto riguarda l'esemplare maschio che riguardo l'esemplare femmina (Grafico 4.26). Seppur dimostri valori molto bassi, Yuri nella fase finale del giorno raggiunge un massimo di durata oraria di 1,70 min/h mentre Tania non supera i 0,43 min/h).

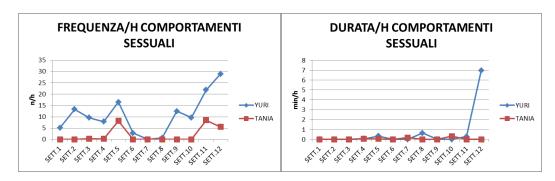


(Grafico 4.26 frequenza e durata oraria dei comportamenti sessuali analizzato per fasce)

L'andamento della frequenze dei comportamenti sessuali analizzato per settimane rivela, per quanto riguarda il soggetto femmina, un trend pressoché costante, che rimane a livelli vicini allo zero durante tutto il periodo di studio mostrando picchi nella quinta (16,48 atti/h) e nell'undicesima settimana (8,50 atti/h), mentre per quanto riguarda Yuri l'andamento è comparabile a quello di Tania e presenta una maggior

frequenza nella parte iniziale del periodo di studio soprattutto per quanto riguarda la quinta settimana (16,48 n/h). Osservando sia la frequenza oraria che la durata oraria è in risalto l'aumento di comportamenti sessuali del soggetto maschio nelle fasi finali dell'osservazione, in maggior modo per l'undicesima e dodicesima settimana delle frequenze orarie dove si presenta un notevole innalzamento dei dati registrati (28,97 n/h). Le durate orarie rivelano inoltre un andamento molto lineare con valori sempre al di sotto del minuto tranne per quanto riguarda l'ultima settimana di Yuri che raggiunge una durata di 6,98 min/h (Grafico 4.21).

Si rivelano differenze significative per le frequenze orarie dei due animali nel comportamento "Mater attempt" tra la fascia A e B (p=0,03), A e C (0,001) e B e C (p=0,001). Anche la frequenza oraria del modulo comportamentale detto "mate" segnala alcune differenze significative tra le fasce A e C (p=0,031) e B e C con (p=0,031)



(Grafic45.27 frequenze durate orarie dei comportamenti sessuali analizzato per settimane)

# 4.6 ANALISI CONTATTI ATTIVI E PASSIVI

L'osservazione e lo studio dei contatti attivi e passivi compiuti dai due esemplari durante il periodo di osservazione sono stati utili per comprendere quale dei due animali fosse il soggetto propositivo nei rapporti sociali. Di seguito nelle tabelle è indicato quali e quanti contatti

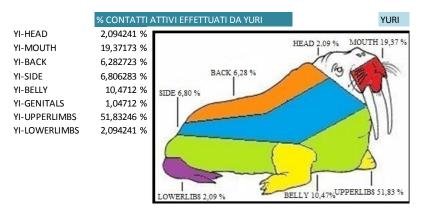
siano avvenuti tra i due esemplari e da parte di chi è venuta la maggior interazione sociale.

Yuri è il più attivo in questo tipo di contatti, infatti, durante il periodo di osservazione esegue ben 191 contatti attivi su Tania (Tab 4.4):

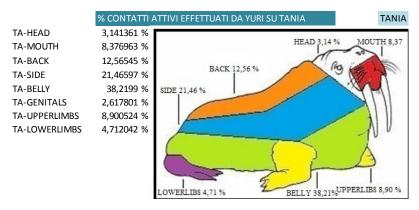
		YURI soggetto attivo											
		_		parti del corpo									
		contact +	HEAD	MOUTH	BACK	SIDE	BELLY	GENIT	UPPERLIMBS	LOWERLIMBS	totale		
		HEAD	C	0	0	0	0	0	6	0	6		
		MOUTH	C	13	0	0	0	0	3	0	16		
soggetto passivo		BACK	1	. 4	3	1	5	1	9	0	24		
pas	0	SIDE	C	2	1	12	2	1	23	0	41		
5		BELLY	2	. 4	6	0	13	0	45	3	73		
9386	orp	GENITALS	C	3	1	0	0	0	1	0	5		
sol	del corpo	UPPERL	C	7	0	0	0	0	10	0	17		
TANIA	i.E	LOWERLIMBS	1	. 4	1	0	0	0	2	1	9		
ΤĀ	parti												
		totale	4	. 37	12	13	20	2	99	4	191		

(Tab 4.4 contatti attivi Yuri)

La parte del corpo prediletta da Yuri nella fase di approccio sono le pinne anteriori utilizzate nella maggior parte dei casi per toccare l'esemplare di sesso opposto sul ventre (73 contatti su 191 ossia il 38,21%). Yuri effettua il 45,5% dei contatti con le pettorali in questa parte del corpo di Tania.



(Fig. 4.1 percentuali contatti attivi Yuri)



(Fig. 4.2 percentuali contatti attivi Yuri su Tania)

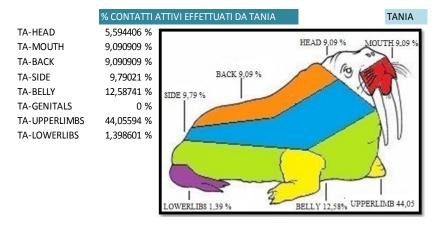
Anche per quanto riguarda Tania, la parte del corpo con la quale si rapporta di più con l'esemplare dell'altro sesso sono le pinne anteriori (63 contatti durante il periodo di osservazione e una percentuale del 44,05%); le pinne posteriori invece giocano un ruolo secondario nei contatti attivi tra i due esemplari, infatti, si osservano solo 2 contatti durante tutto il periodo di osservazione pari a una percentuale dell'1,39% (Tab.4.5).

				TANIA soggetto attivo								
				parti del corpo								
		contact +	HEAD	MOUTH	BACK	SIDE	BELLY	GE	ENITALS UPPER	RLIMBS LOWI	ERLIMBS	totale
		HEAD		3	0	1	0	1	0	6	0	11
		MOUTH		0	8	0	0	1	0	15	0	24
0 >		BACK		2	3	5	1	8	0	11	0	30
assi		SIDE		1	0	0	9	0	0	5	0	15
o pe	0	BELLY		1	1	2	2	7	0	18	2	33
ett	corpo	GENITALS		0	1	0	0	0	0	0	0	1
980	el c	PENIS		0	0	0	0	0	0	0	0	0
YURI soggetto passivo	parti del	UPPERLIMBS		1	0	5	2	1	0	8	0	17
Λ	par	LOWERLIMBS		1	2	5	0	0	0	2	2	12
		totale		8	13	13	14	18	0	63	2	143

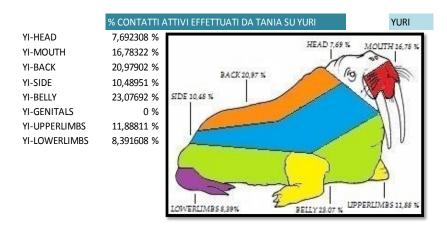
(Tab 4.5 contatti attivi Tania)

Anche nel caso dell'esemplare femmina, la parte prediletta con la quale interagire rimane la pancia del soggetto dell'altro sesso, infatti, il 23,07% dei contatti effettuati su Yuri, è indirizzata a questa parte del corpo. (Fig.5.4)

Infine è possibile affermare che i contatti attivi o passivi riguardanti i genitali dei due esemplari, sono in percentuale molto bassi rispetto alle altre parti del corpo; Tania infatti registra 0% (Tab 5.5) e Yuri non supera lo 0,69%.



(Fig 4.3 contatti attivi Tania)



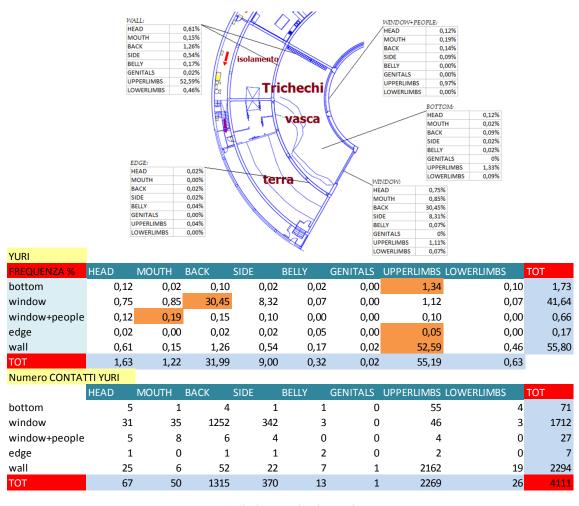
(Fig. 4.4 contatti attivi di Tania su Yuri)

## 4.7 ANALISI TUNKRUB

Questa categoria di contatti descrive le interazioni tra i soggetti in esame e l'ambiente in cui sono tenuti e da indicazioni precise su quale parte del corpo è prediletta per interagire con l'habitat circostante.

Dallo studio delle frequenze orarie è possibile confermare che entrambi gli animali dedicano assiduamente buona parte del loro tempo a questi tipi d'interazioni, infatti, Yuri presenta una frequenza oraria di 131,09 contatti/h e Tania 131, 60 contatti/h.

Inoltre Yuri, predilige di gran lunga l'appoggio al muro registrando un 55,80% corrispondente a 2294 contatti durante le 12 settimane di studio su un totale di 4111 contatti (Tab 5.6); in generale ha utilizzato su questa parte della vasca le pinne anteriori per 2269 volte pari al 55,19% dei contatti totali. La parte del corpo meno utilizzata (dopo i genitali) è la pancia, con lo 0,32% dei contatti pari a soli 13 casi effettivi.



(Tab 4.6 Tunkrub Yuri)

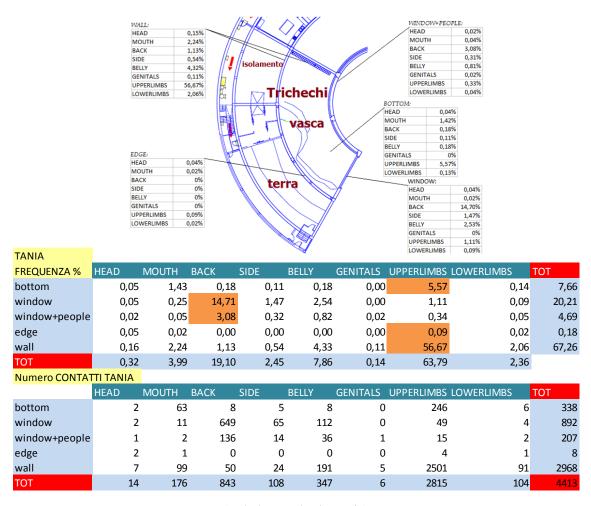
Tania predilige le pinne anteriori che sono utilizzate nella maggior parte dei casi come appoggio all'acrilico o al muro. La percentuale registrata per i contatti inerenti a questa parte del corpo è del 63,79%, e indica una

specularità nelle abitudini riguardo al "tunkrub" dei due esemplari(Tab 4.6).

Da notare come il contatto con la pancia sia eseguito un numero di volte estremamente superiore rispetto a Yuri, infatti riguarda il 7,36% dei contatti (rispetto allo 0,32% di Yuri) pari a 347 volte.

Anche per Tania il punto con cui entra maggiormente in contatto della vasca è il muro che coinvolge il 67,26% dei contatti pari a 2968 volte su un totale di 4413 (Tab 4.6).

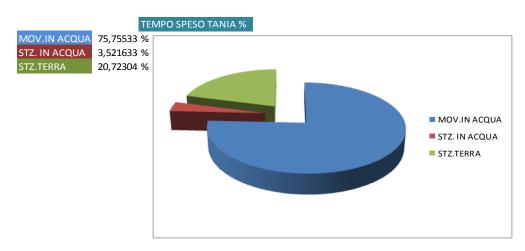
La parte del corpo meno utilizzata da Tania (anche in questo caso dopo i genitali) nel tunkrub è la testa, nei confronti della quale è stato osservato solo uno 0,32% pari a soli 14 contatti.



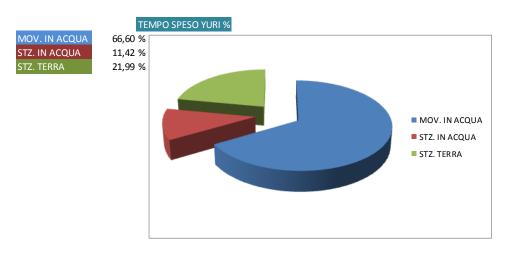
(Tab 4.6 Tunkrub Tania)

## 4.8 ANALISI GENERALE DEL TEMPO SPESO

Lo studio del tempo speso durante il periodo di osservazione, rivela una congruenza nelle abitudini motorie degli esemplari in esame, infatti, entrambi non tradiscono la loro natura acquatica in quanto più della metà del tempo è spesa in acqua in fase di movimento (66,6% Yuri e 75,75% Tania). Invece, per quanto riguarda lo stazionamento viene prediletta, sia da Yuri che da Tania, la terraferma, questo ad indicare che, per le attività di movimento, il mezzo acquatico è di gran lunga il prediletto mentre per le attività che richiedono uno stazionamento fisico la terraferma rimane il luogo ideale.



(Grafico 4.28 tempo speso Tania)

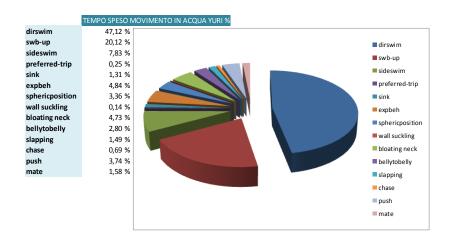


(Grafico 4.29 tempo speso Yuri)

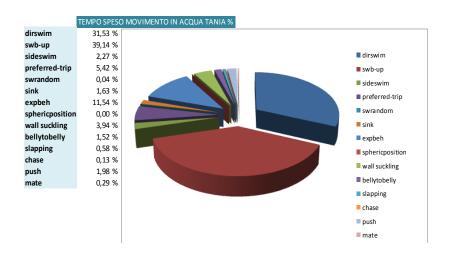
Il tempo trascorso nel mezzo acquatico è stato suddiviso in due livelli principali, il primo rappresenta il tempo speso in movimento e il secondo rappresenta il tempo speso in fase di stazionamento in acqua.

Com'è ben visibile dai grafici 4.30/31, la maggior parte del tempo utilizzato in attività di movimento in acqua è speso nuotando con andatura regolare; come analizzato in precedenza, il soggetto maschio predilige un tipo di nuoto definito "dirctional swim" ovvero a ventre basso che rappresenta il 47,12% del tempo totale passato in acqua seguito dal tipo di nuoto opposto, ossia a ventre in alto (20,12% del tempo totale). Tutte le altre attività si equiparano temporalmente rimanendo in percentuale comprese tra l'1 e il 8%.

Tania invece predilige il tipo di nuoto a ventre alto, infatti, il 39,4% del tempo passato in acqua, è speso in questo modo. Anche per quanto riguarda il soggetto femmina tutti gli altri comportamenti espressi in movimento nel mezzo acquatico mostrano percentuali molto basse (Grafico 4.26), tranne due comportamenti strettamente legati al nuoto quali "exploration behaviour" che rappresenta l'11,54 % del tempo trascorso in acqua e directional swim con il 31,53%.



(Grafico 4.30 tempo speso movimento in acqua Yuri)

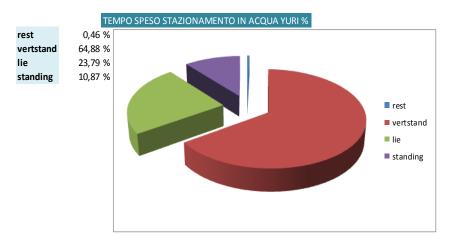


(Grafico 4.31 tempo speso movimento in acqua Tania)

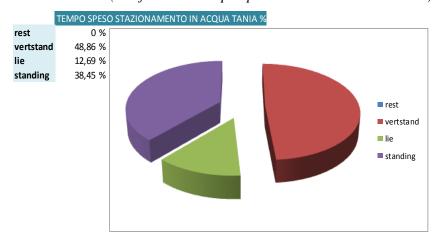
Per quanto riguarda invece il tempo passato in fase di stazionamento acquatico, il modulo comportamentale definito "vertical stand" è di gran lunga il prediletto sia da Yuri che da Tania, infatti rappresenta rispettivamente il 64,88% e il 48,86% del tempo passato in questa fase(Grafici 4.27/28).

I risultati mostrano che Yuri, come secondo comportamento prediletto in questa fase di stazionamento, predilige il "lie" (23,79%) ossia lo stazionamento in orizzontale immerso nell'acqua; mentre Tania manifesta

lo "standing" (38,45%) come comportamento secondario adottato in questo frangente.



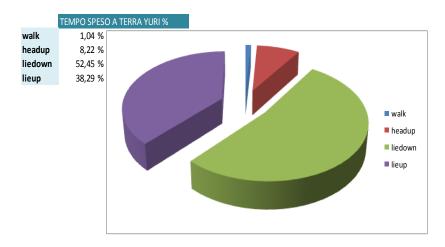
(Grafico 4.32 tempo speso movimento a terra Yuri)



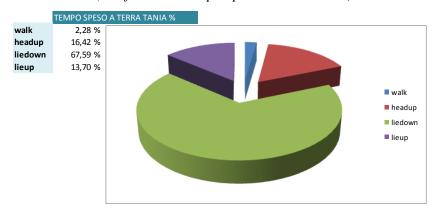
(Grafico 4.33 tempo speso movimento a terra Tania)

Il tempo speso in terra dai due esemplari, è per la maggior parte impiegato in atteggiamenti di dormienza o di riposo quindi è nettamente caratterizzato dalle due posizioni principali che sono "lie up" e "lie down" (Grafici 4.34/35) ossia stazionamento a pancia in su e a pancia in giù; rappresentano quindi le due posizioni maggiormente assunte durante il sonno infatti sia Yuri che Tania presentano rispettivamente per il "lie down" il 52,45% e il 67,59% del tempo trascorso a terra. La seconda posizione maggiormente esibita sulla terraferma è, per quanto riguarda

Yuri "lie up" con il 38,29% mentre per Tania "Head up" con il 16,42% (Grafici4.34/35).



(Grafico 4.34 tempo speso a terra Yuri)



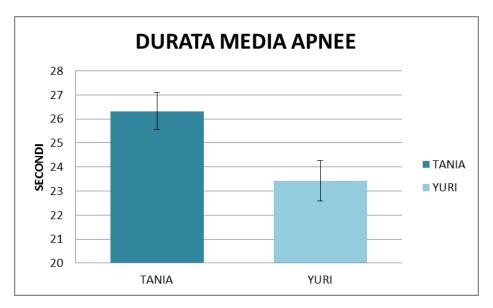
(Grafico 4.35 tempo speso a terra Tania)

## 4.9 ANALISI DEI PARAMETRI RESPIRATORI

Uno degli obiettivi principali nell'analisi delle abitudini vitali di *Odobenus* rosmarus è lo studio quantitativo e qualitativo dei parametri respiratori dei due soggetti studio.

Il grafico della durata media rivela come Tania presenti valori medi più alti di Yuri poiché si attesta a 26,32 ± 2,9 secondi mentre Yuri si ferma 23,43±22,25 secondi(Grafico 4.36).

L'analisi rivela però come Yuri abbia fatto registrare il periodo più lungo passato in apnea durante la fase di osservazione; i sui tre valori massimi sono 233,67, 241,47 e 281,41 secondi rispetto a Tania che ha effettuato apnee massime di 233,01, 250,32 e 261,99 secondi; i tre valori minimi di Yuri sono 1,77, 2,06 e 2,17 secondi mentre Tania 1,05, 2,3 e 2,5 secondi. Non si rivelano significative differenze tra i due pattern respiratori.



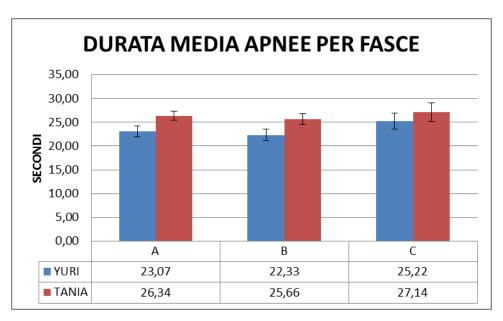
(Grafico 4.36 durata media apnee Yuri Tania)

L'analisi delle medie giornaliere rivela che entrambi gli esemplari di tricheco presentano livelli minimi in fascia B (Yuri 22,33 sec e Tania 25,26 secondi), in questa fascia non è stata rilevata una differenza significativa tra i due (p=0,577).

Anche se in visione generale le medie di Yuri e Tania, a livello di fascia giornaliera, non presentano sostanziali discrepanze (Grafico 4.32).

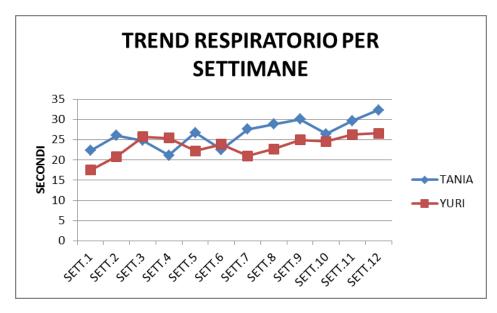
In entrambi gli esemplari, l'intervallo di media più lungo registrato è nella fascia C, che rimane quasi speculare in entrambi (p=0,770)

Yuri presenta un range tra valori medi minimi e valori medi massimi di  $4,96 \pm 123$  mentre Tania  $4,61 \pm 109,88$ .



(Grafico 4.37 media apnee per fasce Yuri Tania)

L'andamento per settimane rivela come Tania, ad eccezione delle settimane 2-3-4, rimane sempre al di sopra delle medie respiratorie di Yuri con un massimo registrato nella settimana dodici con 32,38 secondi (Grafico 4.33). Anche Yuri alla dodicesima settimana è dove segna il massimo livello di media ossia 26,62 secondi.



(Grafico 4.38 media apnee per settimane Yuri Tania)

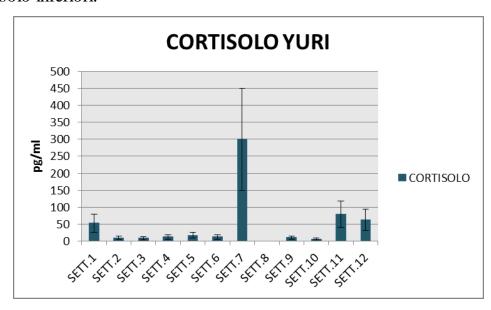
### 5. STUDIO DEI VALORI ORMONALI

# 5.1 QUANTIFICAZIONE DEI LIVELLI ORMONALI

Uno degli obiettivi principali di questo studio era di quantificare i livelli di ormoni quali cortisolo, progesterone e testosterone presenti nei campioni di saliva prelevati durante il periodo di studio ed effettuare poi un confronto con i moduli comportamentali osservati per verificarne le eventuali correlazioni.

### CORTISOLO YURI

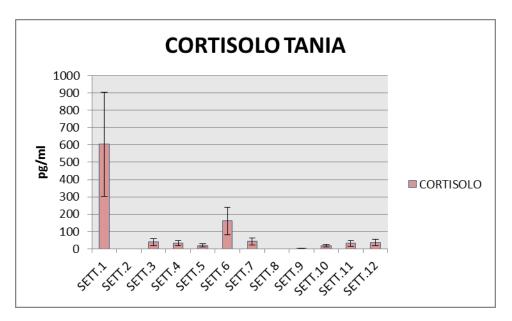
Yuri presenta livelli di cortisolo relativamente bassi durante quasi tutto il periodo di studio tranne un picco notevolmente elevato in settimana sette che registra uno aumento fino a 300,13 (pg/ml) a fronte di una media complessiva di 41,9 pg/ml; a parte la prima (52,38 pg/ml) e le ultime due settimane (rispettivamente di 78,77 pg/ml e 62,84 pg/ml) il resto del periodo rimane a livelli di cortisolo molto bassi a parte la prima (52,38 pg/ml) e le ultime due settimane (rispettivamente di 78,77 pg/ml e 62,84 pg/ml) il resto del periodo è caratterizzato da concentrazioni salivari di cortisolo inferiori.



## CORTISOLO TANIA

Tania presenta un andamento di concentrazioni cortisoniche salivari che rimane su valori medi pari a 104,83 pg/ml per tutto il periodo di studio (Grafico 5.2) tranne la prima settimana che vede un massimo pari a 604,21 pg/ml.

La nona è la settimana nella quale si registra il valore più basso di cortisolo, ossia 2,85 pg/ml.

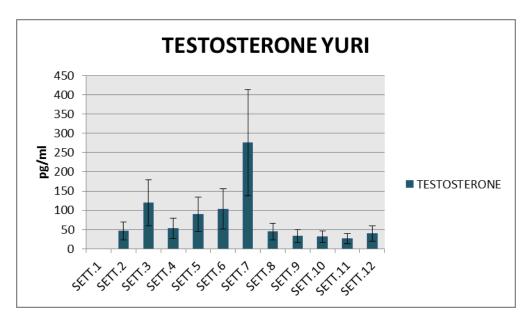


(Grafico 5.2 Livelli di cortisolo Tania)

## TESTOSTERONE YURI

I livelli di testosterone di Yuri, analogamente a quanto osservato nel caso del cortisolo, infatti, mostrano anche in questa misurazione, un picco massimo nella settima settimana (275,48 pg/ml); gli altri valori sono relativamente bassi,con una media generale di 64,07pg/ml.

L'andamento vede un livello di testosterone maggiore nella prima fase di osservazione che va dalla seconda alla sesta settimana, e successivamente una diminuzione nella parte finale del periodo con un minimo nell'undicesima settimana di 26,52 pg/ml (Grafico 5.3).

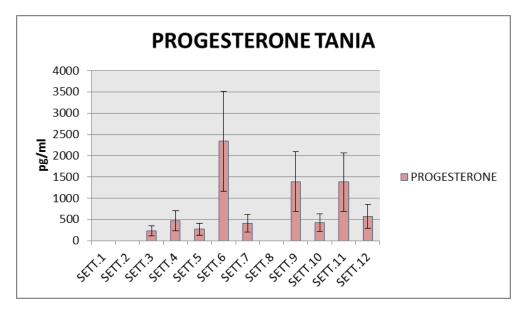


(Grafico 5.3 Livelli di testosterone Yuri)

## PROGESTERONE TANIA

L'andamento relativo ai livelli di progesterone in Tania si presenta discontinuo e altalenante. I tre picchi principali sono stati registrati nelle settimane 6, 9 e 11. Il livello massimo si raggiunge in sesta settimana con 2341 pg/ml, mentre per la nona e undicesima settimana si registrano rispettivamente 1392,91 pg/ml e 1378,83 pg/ml. Il valore medio delle 12 settimane è 840,47 pg/ml.

Da notare come nel lasso di tempo fino alla quinta settimana si osservino i livelli più bassi di tutto il periodo; nella terza settimana si registra il valore più basso in assoluto con 234,96 pg/ml (Grafico 5.4).



(Grafico 5.4 Livelli di progesterone Tania)

# 5.2 CONFRONTO TRA MODULI COMPORTAMENTALI E LIVELLI ORMONALI

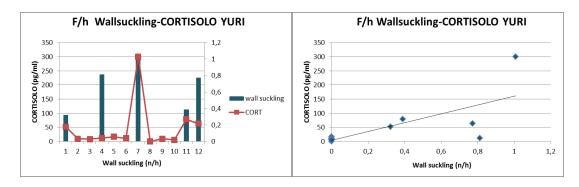
# 5.2.1 CORRELAZIONI TRA CORTISOLO E MODULI COMPORTAMENTALI DI YURI

Dopo aver eseguito l'analisi di correlazione di *Pearson*, è stato riscontrata una correlazione tra i livelli di cortisolo di Yuri e i seguenti moduli comportamentali:

# Wall Suckling:

Questo modulo descrive un'attività di ricerca del cibo tramite suzione effettuata sulle pareti della vasca in conformità con l'abitudine naturale di questa specie.

Dall'analisi di *Pearson* emerge come vi sia un'elevata correlazione pari a r=0,714 e, come nella settimana sette, il valore massimo di comportamento risulta coincidere con il picco di cortisolo rilevato dall'analisi (313 pg/ml corrispondente ad una frequenza/h di 1,09 n/h) così come il calo a livelli pari o vicini allo zero delle settimane dalla 2 alla 6 e per il periodo dalla settimana 8 alla settimana 10; si rivela inoltre un leggero rialzo delle ultime due settimane.



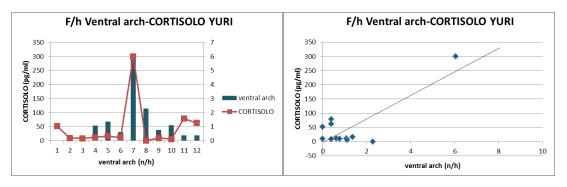
(Grafico 5.4 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di wall suckling e le concentrazioni di cortisolo di Yuri con relativo grafico di dispersione)

# Ventral arch:

Questo modulo comportamentale descrive il movimento con il quale l'animale effettua un marcato inarcamento in del corpo verso il ventre.

Dall'analisi di Pearson si evince un'elevata correlazione col cortisolo pari a r = 0.819.

Si riscontra anche in questo caso una coincidenza tra picco di cortisolo e frequenza/h di questo modulo comportamentale con un massimo nella settima settimana (6,05 n/h). A seguire un abbassamento dei livelli coinvolge quasi tutte le altre settimane (Grafico 5.6).

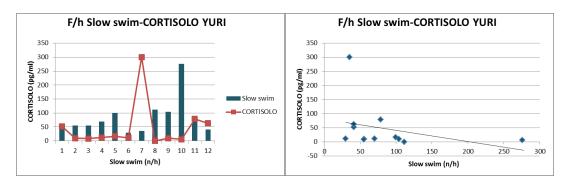


(Grafico 5.6 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di ventral arch e le concentrazioni di cortisolo di Yuri con relativo grafico di dispersione)

# Slow Swim:

Il seguente modulo descrive una tipologia di nuoto caratterizzata da bassi livelli di velocità.

Dall'analisi di *Pearson* vi è un'evidente correlazione inversa tra questi due dati (r=-0,313), infatti, analizzando anche il grafico (Grafico 5.7) è possibile notare che quando i livelli di cortisolo risultano elevati, come in settimana sette, vi è un basso grado di frequenza di esecuzione di questo modulo comportamentale (35,33 n/h).

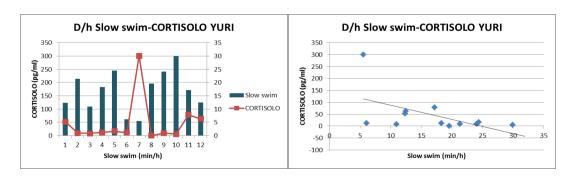


(Grafico 5.7 Andamento settimanale della correlazione inversa tra frequenza/h di slow swim e le concentrazioni di cortisolo di Yuri con relativo grafico di dispersione)

Anche riguardo alla durata oraria è possibile riscontrare lo stesso tipo di fenomeno; in questo caso è anche più accentuato, infatti, il grado di correlazione inversa è r = -0.535.

Com'è ben visibile dal grafico 5.8, nelle prime cinque settimane risultano esserci livelli di cortisolo estremamente bassi e durate di slow swim particolarmente elevate, com'è riscontrabile anche dall'ottava alla dodicesima settimana(Grafico 5.8).

Anche analizzando la linea del grafico di dispersione e ben visibile il suo andamento inclinato verso il basso ad indicare una chiara e particolare correlazione inversa tra questi due valori



(Grafico 5.8 Andamento settimanale della correlazione inversa tra durata/h di slow swim e le concentrazioni di cortisolo di Yuri con relativo grafico di dispersione)

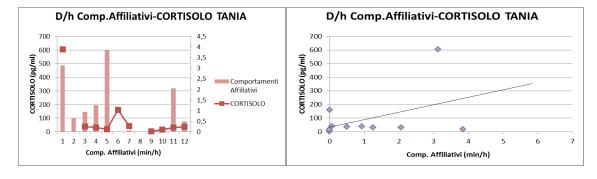
# 5.2.2 CORRELAZIONI TRA CORTISOLO E MODULI COMPORTAMENTALI DI TANIA

Analizzando i livelli di cortisolo e i moduli comportamentali di Tania si è riscontrata una rilevante correlazione per la categoria di comportamenti sociali definiti "affiliativi", "chewing" e per la modalità di stazionamento detta "lie"; inoltre è stata osservata una correlazione inversa per la velocità di nuoto catalogata come "slow swim".

## Comportamenti affilitivi:

Dall'analisi di Pearson è emersa una correlazione positiva tra le durate orarie dei comportamenti affilitivi di Tania e i livelli di cortisolo (r = 0,418).

Nella prima settimana si ha un picco di entrambi i valori. Le durate dei comportamenti affiliativi raggiungono infatti 3,12 min/h e i valori di cortisolo 604,21 pg/ml.



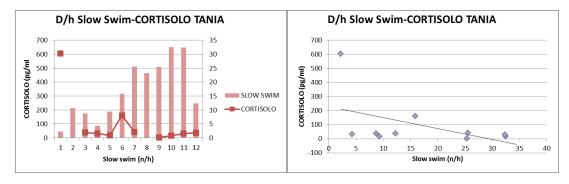
(Grafico 598 Andamento settimanale della correlazione tra durata/h dei comportamenti affiliativi e le concentrazioni di cortisolo di Tania con relativo grafico di dispersione)

#### Slow swim:

Questo modulo descrive un andamento di nuoto lento caratterizzato dall'assenza di pinneggiate ripetute.

Come nel caso descritto in precedenza riguardo all'andamento settimanale dei livelli di cortisolo in Yuri nel modulo "slow swim", anche in questo caso vi è un'evidente correlazione inversa tra i livelli di cortisolo di Tania e le durate orarie con le quali ha manifestato questo comportamento (Grafico 5.10).

Dall'analisi di Pearson risulta infatti netta la presenza di una correlazione inversa (r = -,0477); inoltre,come ben visibile come nelle ultime 4 settimane, vi è un netto innalzamento nelle frequenze orarie di questo comportamento corrispondente ad un notevole ribasso nei valori di cortisolo, essi raggiungono il minimo in settimana 9 con 2.85 pg/ml.



(Grafico 5.10 Andamento settimanale della correlazione inversa tra durata/h di slow swim e le concentrazioni di cortisolo di Tania con relativo grafico di dispersione)

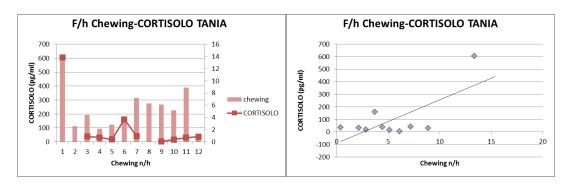
## **Chewing:**

Questo comportamento si manifesta con il movimento della masticazione, effettuabile anche in assenza di cibo.

Dall'analisi di Pearson risulta una elevata correlazione pari a r = 0.703.

Nella prima settimana si registra un picco massimo di entrambi i valori; i livelli di cortisolo si attestano a 604,21 pg/ml mentre le frequenze orarie arrivano a 13,37 n/h (Grafico 5.11).

È presente anche un picco relativamente elevato per entrambi i set di dati registrato in settimana 6. Cortisolo si attestano rispettivamente a 160,61 pg/ml e 76,37 n/h.



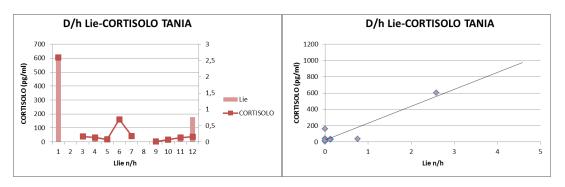
(Grafico 5.11 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di chewing e le concentrazioni di cortisolo di Tania con relativo grafico di dispersione)

#### Lie:

Questo modulo comportamentale si manifesta quando l'animale rimane in fase di stazionamento in orizzontale nella colonna d'acqua.

Pearson ci rivela una netta correlazione tra le durate orarie di questo modulo comportamentale e i livelli di cortisolo registrati per Tania (r = 0,925).

Dal grafico 5.12 si osserva una coincidenza nei picchi massimi dei due valori in settimana 1, infatti, il livello di cortisolo arriva ad un valore di 604,21 pg/ml mentre le durate orarie di lie registrano un valore di 2,58 n/h. Anche i bassi valori di cortisolo nel periodo che va dalla terza all'undicesima settimana hanno un corrispettivo nell'abbassamento delle durate orarie di questo comportamento: i minimi livelli di cortisolo sono registrati in settimana 9 (2,85 pg/ml) e le durate minime di *lie* sono presenti in settimana 11 (0,11 n/h).



(Grafico 5.12 Andamento settimanale della correlazione tra durata/h di Lie e le concentrazioni di cortisolo di Tania con relativo grafico di dispersione)

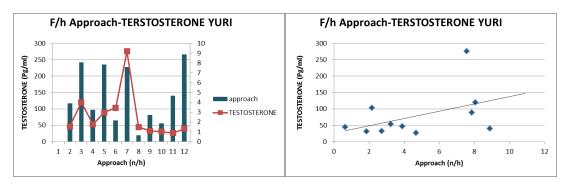
# 5.2.3 CONFRONTO TRA TESTOSTERONE E MODULI COMPORTAMENTALI IN YURI

In seguito all'analisi di Pearson effettuata sui dati riguardanti le concentrazioni di testosterone nella saliva di Yuri, si sono riscontrate significative correlazione con le frequenze orarie dei seguenti moduli comportamentali : "Approach", "Wall suckling" e "Ventral arch".

## Approach:

Questo modulo descrive un nuoto direzionale rivolto verso l'esemplare dell'altro sesso.

L'analisi di Pearson rivela una correlazione pari a r = 0,446. Pur non essendoci un'esatta coincidenza nei picchi, l'andamento settimanale segue, in entrambi i set di dati, una tendenza irregolare che risulta però analoga (Grafico5.13).



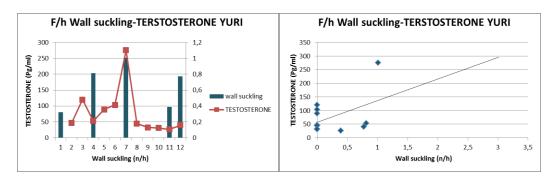
(Grafico 5.13 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di Approach e le concentrazioni di testosterone con relativo grafico di dispersione)

## Wall Suckling:

Come precedentemente descritto (cortisolo Yuri) questo modulo indica l'attitudine di questa specie alla ricerca di cibo tramite una tecnica di setacciamento della parete per suzione che, in questa situazione di cattività, viene effettuato lungo le pareti della vasca in questione.

Come nel caso del cortisolo, Pearson indica una correlazione tra le concentrazioni settimanali di testosterone e la frequenza oraria con la quale Yuri esibisce questo modulo comportamentale (r = 0,439).

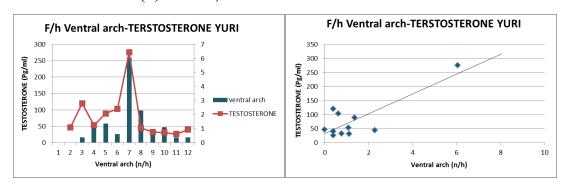
In settimana sette emerge una chiara correlazione tra i massimi livelli di testosterone (275,48 pg/ml) e le massime frequenze manifestate da Yuri (1,95 n/h); inoltre l'azzeramento di wall sucklig presente nell'ottava nona e decima settimana rispecchia un notevole abbassamento dei livelli di testosterone nello stesso periodo (Grafico 5.14).



(Grafico 5.14 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di Wall suckling e le concentrazioni di testosterone con relativo grafico di dispersione)

## Ventral arch:

Come osservato per i livelli di cortisolo, anche nel confronto tra testosterone e questo modulo comportamentale vi è un'elevata correlazione, infatti, l'analisi di Pearson mostra un coefficiente di r = 0,824. Nel grafico 5.15 è possibile apprezzare la coincidenza nei picchi della settima settimana che vede il livello di frequenza oraria massima registrata (6,05 n/h) in corrispondenza con il livello massimo di testosterone (275,48 pg/ml); in più, le minime delle ultime cinque settimane corrispondono in entrambi gli andamenti culminando in negativo nella dodicesima settimana per il testosterone 26,52 pg/ml e nell'undicesima settimana per le frequenze del "ventral arch" (0,386 n/h).



(Grafico 5.17 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di Ventral arch e le concentrazioni di testosterone con relativo grafico di dispersione)

# 5.2.4 CONFRONTO TRA PROGESTERONE E MODULI COMPORTAMENTALI IN TANIA

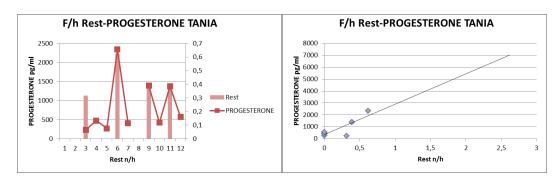
Lo studio delle correlazioni di Pearson tra i livelli di progesterone e i moduli comportamentali eseguiti da Tania ha rivelato una coincidenza per i seguenti moduli comportamentali: "rest", "vertical stand", "wall suckling" e "roll".

### Rest:

Questo comportamento fa parte della categoria dei moduli di stazionamento; nel caso specifico si manifesta quando l'animale rimane fermo in verticale a livello della superficie dell'acqua.

La correlazione rilevata tramite l'analisi di Pearson risulta essere r = 0,855. È possibile osservare questo alto grado di correlatività anche dal *grafico* 5.16 dove si nota una coincidenza nei picchi della sesta, nona e dell'undicesima settimana.

I massimi livelli di progesterone e di durata oraria sono nella sesta settimana, pari rispettivamente a 2341 pg/ml e 0,63 n/h. Si osserva inoltre una coincidenza speculare in settimana 9 (progesterone 1392,815 pg/ml rest 0,38 n/h) e in settimana 11 (progesterone 1378,83 pg/ml e rest 0,39 n/h).



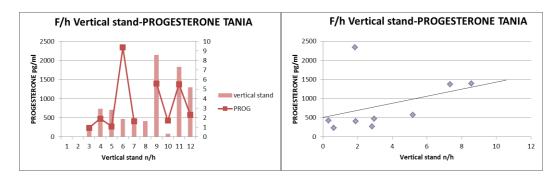
(Grafico 5.16 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di restarch e le concentrazioni di progesterone con relativo grafico di dispersione)

## **Vertical stand:**

La correlazione che deriva dal calcolo di Pearson non risulta molto accentuata ma comunque è rilevante (r = 0,377).

I punti di massima coincidenza sono in settimana 9 (progesterone 1392,915 pg/ml e vertical stand 8,57 n/h) e in settimana 11, quando i livelli di progesterone arrivano a 1378,838 pg/ml e le frequenze orarie di vertical stand a 7,34 n/h.

Anche i valori più bassi per ambedue i set di dati presenti nelle settimane 3, 4, 5 e 10 sono una conferma di questa correlazione (Grafico 5.17).



(Grafico 5.17 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di vertical stand e le concentrazioni di progesterone con relativo grafico di dispersione)

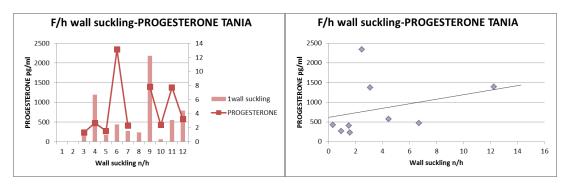
## Wall suckling:

Come precedentemente descritto questo tipo di comportamento rappresenta le modalità di ricerca cibo tipiche di questa specie, caratterizzate da un'attività di suzione che in questo caso viene effettuata lungo le pareti della vasca.

Anche questa volta vi è una correlazione di basso livello ma comunque relativamente considerevole (r = 0,300).

Anche se il picco massimo di progesterone presente in settimana 6 non coincide con il massimo di frequenze orarie manifestate per questo modulo comportamentale, Si registrano bassi livelli coincidenti nelle settimane 3 (progesterone 234,96 pg/ml e wall suckling 1,58 n/h), 5 (progesterone

271,38 pg/ml e wall suckling 0,944 n/h) e 10 (progesterone 422,38 pg/ml e wall suckling 0,322 n/h). (Grafico 5.18)



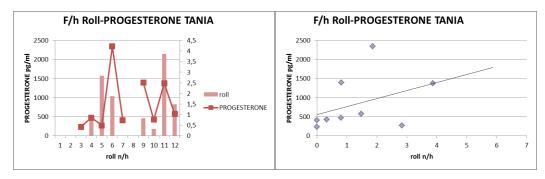
(Grafico 5.20 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di wall suckling e le concentrazioni di progesterone con relativo grafico di dispersione)

# Roll:

Questo comportamento è riferito ad una rotazione di 360 ° sull'asse longitudinale effettuata dell'animale.

La correlazione rilevata è pari a r = 0.391. Come nel caso precedente si osserva per entrambi i set di dati una coincidenza nell'andamento irregolare lungo tutto il periodo di studio.

Il Picco massimo del progesterone in settimana 6 coincide con un periodo di alta frequenza manifestata da Tania per il comportamento "roll"; in settimana 5 e settimana 11 quando le frequenze registrate sono rispettivamente 2,83 e 1,86 n/h (Grafico 5.19).



(Grafico 5.19 Andamento settimanale della correlazione tra frequenza/h di roll e le concentrazioni di progesterone con relativo grafico di dispersione)

## 5.2.5 CONCENTRAZIONI EMATICHE

Uno degli obiettivi prefissati per lo studio endocrinologico era la comparazione dei livelli ormonali ottenuti tramite il prelievo salivare e quelli ottenuti con il prelievo di sangue. Le modalità con la quale sono stati effettuati i campionamenti prevedevano il prelievo contemporaneo dei due tipi di campione.

Il basso numero di campioni ematici (n=19) a fronte dell'alto numero di campioni salivari disponibili (n=132) non ha però permesso il raggiungimento di una quantità sufficiente per poter effettuare un analisi statistica utile ad un confronto effettivo.

I campioni di siero disponibile sono stati utilizzati per effettuare un confronto tra genere maschile e genere femminile e per analizzare le conseguenze sui livelli ormonali degli esemplari sottoposti all'esposizione del pubblico e quelli presenti nell'area ad accesso limitato e quindi non esposti.

I campioni di siero da cui si è reso dosabile il cortisolo inerenti alle femmine sono 18 (5162,10±264,05) mentre per quanto riguarda il maschio si è riusciti ad ottenere un solo campione di siero corrispondente a 6843,62 pg/ml.

Riguardo al confronto dei livelli ormonali rispetto alle due posizioni espositive, si è rilevato un valore più alto di cortisolo negli esemplari esposti, pari a 6215,68±325,24 pg/ml mentre per quelli nella zona chiusa si registra un livello di cortisolo plasmatico di 5069,63±289,12 pg/ml. Anche per quanto riguarda il progesterone si rilevano valori più alti per gli esemplari in esposizione (19863,60 pg/ml) rispetto a quelli non esposti (17340,11 pg/ml). Per il testosterone è presente un solo campione (54,47 pg/ml).

Nonostante l'esiguità dei campioni è importante evidenziare alcune osservazioni interessanti riguardo ai dosaggi ormonali salivari effettuati sui cinque esemplari prima e dopo il prelievo di sangue in quanto presentano una discreta differenza derivante dall'effetto del prelievo sui livelli di cortisolo, infatti, i dati rilevati nei due campioni di saliva raccolti prima e dopo il campionamento ematico, sono notevolmente diversi: superiori nel campione post prelievo. Nei pochi campioni ottenuti il valore è risultato essere: 127,74 *vs* 5654,10 pg\ml, 59,07 *vs* 743,45 pg\ml e 7,68 *vs* 1119,83.

# 6. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI:

Lo studio affrontato per la compilazione di questa tesi si è prefissato l'obiettivo di analizzare nel dettaglio gli aspetti etologici, fisiologici ed endocrinologici dei due esemplari di *Odobenus rosmarus* ospitati all'interno dell'Oceanografic de Valencia.

Questa indagine scientifica è stata resa possibile grazie alla progettazione di un periodo di osservazione e registrazione video, durante il quale ci è stata data l'opportunità di entrare a diretto contatto con gli esemplari in questione per poter effettuare campionamenti endocrinologi da confrontare con gli specifici moduli comportamentali osservati.

Il primo tra gli obiettivi di questo studio era la costruzione di un catalogo comportamentale di *Odobenus rosmarus*.

Per fare ciò si è prima di tutto si è proceduto con la ricerca di materiale letterario inerente all'attività comportamentale di questa specie in modo da classificare i fenomeni di cui si è intrapreso lo studio ed effettuare una sintesi comparativa con le catalogazioni già esistenti nella produzione letteraria.

La realizzazione di una valida ricerca sperimentale etologica deve necessariamente essere preceduta e sostenuta da una preliminare compilazione di un etogramma tramite l'osservazione accurata dei vari moduli comportamentali nelle differenti circostanze (*Mainardi*, 1992).

Data l'esigua quantità di materiale letterario disponibile sulla specie in esame, si è presentata effettiva difficoltà nel classificare le tipologie di comportamenti eseguite dai due Odobenidi: le fonti esistenti atte a classificare i comportamenti degli esemplari di questa specie in cattività si limitano a distinguere le differenti attitudini comportamentali in termini generali o concentrando l'attenzione solo su alcuni fattori isolati della loro attività etologica (*Pryaslova*, 2008; *Charrier*, 2010). Riguardo alla vita in

libertà sono presenti riferimenti specifici dei comportamenti a proposito del peculiare habitat naturale occupato da questi mammiferi in natura come le distese ghiacciate, tipiche delle zone abitate da questi esemplari, o la terraferma (Miller, 1976; Fay, 1985; Fay & Ray, 1968; Kastelein, 2009). Da specificare come non sempre sia stato possibile identificare e correlare ogni comportamento osservato a casi preesistenti in letteratura; in queste occasioni si è reso necessario procedere inserendo nel catalogo una nostra descrizione del modulo comportamentale osservato in modo da rendere chiara la descrizione e il riconoscimento in campo in un secondo momento. La fase successiva alla creazione del catalogo è stata quella di registrare con regolarità e per un prestabilito intervallo di tempo le abitudini quotidiane dei due soggetti studio, avviando così una fase di registrazione video necessaria per una successiva quantificazione delle frequenze e durate orarie di ogni singolo modulo comportamentale.

Una seconda finalità delle registrazioni raccolte è stata quella di poter creare un catalogo video composto da filmati descrittivi della durata di circa 30 secondi l'uno; grazie al supporto delle immagini annesse alle specifiche definizioni scritte è possibile riconoscere, in modo univoco e senza possibilità di errori, ogni singolo modulo comportamentale descritto. Esiste l'eventualità che ogni soggetto possa presentare modalità di esecuzione leggermente differenti l'uno dall'altro; il catalogo video da l'opportunità di avere una rappresentazione chiara del comportamento che si desidera analizzare a prescindere dalla specificità con la quale viene descritto nel catalogo comportamentale.

Il secondo obiettivo stabilito per questa tesi si prefiggeva il compito di quantificare e analizzare il comportamento dei due odobenidi studiandolo dal punto di vista delle tre fasce giornaliere e nel corso delle 12 settimane di osservazione.

Dall'analisi quantitativa dei comportamenti esibiti dai due esemplari in esame, è emersa una sostanziale differenza comportamentale soprattutto per quanto riguarda l'aspetto inerente ai rapporti sociali e all'interazione fra i due animali.

Questa categoria di comportamenti è stata suddivisa in tre classi principali affiliativi, aggressivi e sessuali. I due esemplari manifestano una percentuale diversa dei tre tipi di comportamento.

Tania si rivela più incline, rispetto a Yuri, a manifestare comportamenti di tipo affiliativo con una percentuale del 35,3% mentre il maschio non supera il 20,01 %.

Yuri, infatti, tende a esibire in modo notevolmente più marcato i *pattern* etologici attribuibili alla categoria dei comportamenti sociali definiti aggressivi.

Questa attitudine è dimostrata analiticamente dal fatto che il 52,9% del totale dei comportamenti sociali esibiti dall'esemplare maschio fanno parte di questa classe mentre Tania arriva al 44,7%.

Questa tendenza è riscontrabile anche in letteratura, dove spesso è descritta la natura aggressiva degli esemplari maschi di questa specie correlata a fattori di territorialità e di conquista del partner. Nelle condizioni di cattività in cui è tenuto il soggetto in esame, non sono presenti altri esemplari maschi della stessa specie, non si presenta quindi la necessità di dover difendere il territorio, lo stock di esemplari femmina o le risorse alimentari; è quindi probabile che gli stessi moduli comportamentali possano essere manifestati nei confronti della femmina durante i tentativi di accoppiamento o di approccio sessuale/riproduttivo per sopperire a una necessità genetica di sfogo di determinati pattern comportamentali che in natura sarebbero abitudinari o rientranti in rituali complessi di corteggiamento tipici della specie.

Un esempio di modulo comportamentale ascrivibile a questa tipologia di osservazioni è il "tusk hit". Questo comportamento è eseguito infliggendo ripetuti e continui colpi di zanne rivolti a più parti del corpo della femmina (le più colpite risultano essere la parte dorsale e quella ventrale a seconda della posizione in cui avviene l'approccio); il numero effettivo di casi in cui è stato registrato questo modulo è ben di 498 volte durante il periodo di studio, con una frequenza oraria complessiva di 15,87 n/h.

L'esemplare femmina invece, nella maggior parte dei casi in cui esibisce questa classe di comportamenti, sembra farlo più per necessità di difesa che per volontà di offesa nei confronti del maschio il quale, come detto, ha mostrato molteplici volte un'assidua insistenza nei suoi confronti a scopo riproduttivo.

Il modulo comportamentale aggressivo più manifestato da Tania è, infatti, il "push" con una frequenza oraria complessiva di 1,90 n/h. Questo modulo viene utilizzato il più delle volte per respingere i ripetuti tentativi di accoppiamento o per difendersi da tutti i pattern comportamentali ostili che fanno parte del naturale rituale di approccio manifestati dal maschio di questa specie.

Il 27,1% dei comportamenti sociali di Yuri sono ascrivibili alla categoria dei comportamenti sessuali mentre Tania esibisce, nel 35,3% dei casi, comportamenti affiliativi e solo nel 19,9% moduli di tipo sessuale.

Il fatto che la categoria degli atteggiamenti sessuali risulti, per Yuri, la più manifestata subito dopo quella degli aggressivi può indicare la veemenza nell'attuazione di questi moduli comportamentali.

Durante lo studio, per entrambi gli esemplari, è stata osservata una chiara predilezione ad attuare comportamenti di tipo sociale nelle ultime ore della giornata, e quindi nella fascia C che va dalle 17 alle 21, dove vengono esibiti la maggior parte dei moduli comportamentali di iterazione fra i due odobenidi. Tania manifesta una frequenza oraria di 22,2 atti/h con una

durata oraria pari a 5,77 min/h a fronte dei dati inerenti alla fascia A in cui manifesta una frequenza oraria di soli 0,1 atti per ora.

Yuri si mostra ancor più attivo in fascia C manifestando ben 66,8 atti/h con una durata oraria di 8,41 min/h, mentre nella fascia notturna risulta effettuare solo 6,5 atti per ora con durata oraria pari a 0,10 min/h.

Questo tipo di attitudine è probabilmente da attribuirsi, oltre a fattori inerenti a ritmi circadiani ormonali specie specifici, anche alla regolarità indotta da una vita in cattività. Per mancanza di informazioni in letteratura non è però possibile effettuare veri e propri confronti tra le attività giornaliere abitudinarie in natura e quelle in cattività.

Il nuoto esibito dai due odobenidi è stato quantificato sotto diversi punti di vista che ne descrivono le caratteristiche principali; sono state prese in considerazione la velocità (slow, normal, fast) e la posizione di nuoto (ventre alto, ventre basso e sul lato).

Entrambi gli esemplari manifestano una predilezione delle attività legate al nuoto nelle ore della giornata mattutine e centrali, in fascia A e B, rispetto alle ore serali, fascia C. Yuri raggiunge il massimo di durata oraria di "normal swim" e "slow swim" (i due tipi di nuoto maggiormente adottati) nella fascia tra le ore 11 e le 17 della giornata, con valori che si attestano rispettivamente a 19,73 min/h e 20,34 min/h. Anche Tania segue la stessa tendenza oraria per le attività legate al nuoto, prediligendo però, le prime ore della giornata,tra le 6 e le 11 quando manifesta delle durate di normal e slow swim rispettivamente di 17,09 min/ e 17,64 min/h.

Questa tendenza rispecchia molti studi effettuati sui mammiferi marini in cattività che riscontrano un'attività motoria maggiore nelle prime ore mattutine e pomeridiane rispetto a quelle serali, quest'aspetto può essere dovuto a un fattore di natura fisiologico-ormonale che dona maggiore attività dovuta alla risalita dei livelli di cortisolo in circolazione che

inducono all'animale un livello cinetico più elevato (Caldwell and Caldwell, 1972; Slijper, 1976; Ray *et al.*, 1986).

I due esemplari adottano in maniera molto simile il tipo di nuoto definito "fast", Per classificare Il tipo di nuoto veloce è stato valutato a seconda della consequenzialità con la quale sono effettuate le pinneggiate dai due odobenidi. In caso di nuoto "fast" le pinne posteriori risultano effettuare anche 2 o 3 atti natatori ripetuti al secondo mentre in caso di "slow swim" è ben evidente come con una sola pinneggiata per ogni arto l'animale possa lentamente coprire l'intera lunghezza della vasca a loro disposizione, Yuri lo adotta nello 0,55% dei casi e Tania nello 0,44%.

Non esistono in letteratura riferimenti a riguardo della velocità di nuoto adottata dagli esemplari di questa specie ma tenendo conto che, ogni esemplare ha delle peculiari caratteristiche che possono influire su questa attività come stazza, età e sesso, si può però supporre che questo tipo di nuoto sia eseguito in modo frequente in casi di "inseguimento" o "fuga" tra i due esemplari.

Riguardo alla preferenza di posizione adottata durante le attività di nuoto si è evidenziata una divergenza espressa tra due esemplari; Infatti Yuri, osservando le frequenze orarie sembra prediligere il nuoto a ventre alto (massimo in fascia B con 87,25 atti/h) ma analizzando le durate orarie si osserva come il nuoto a ventre basso venga effettuato per un periodo di tempo più lungo (massimo sempre in fascia B con 24,17 min/h). Al contrario Tania, pur esibendo il nuoto a ventre basso con una frequenza oraria maggiore (massimo in fascia A con 108,08 n/h), esegue il nuoto a ventre alto per un lasso di tempo più lungo (20,09 min/h).

Oltre alla fase motoria degli esemplari è stata studiata la fase di stazionamento. Le categorie osservate sono 3: "rest", "vertical stand" e "lie".

In questo caso sono state registrate delle congruenze nelle abitudini stazionarie che coinvolgono i due esemplari, infatti, entrambi prediligono lo stazionamento in modalità di "vertical stand", Yuri per il 72,1% mentre Tania per il 75,6%.

I momenti della giornata che vedono i due animali fermi in stazionamento per il periodo più lungo sono le ore centrali e serali. Yuri in fascia B staziona per una durata oraria di 5,64 min/h mentre Tania in fascia C per 1,84 min/h.

Un altro studio effettuato analizzando il comportamento dei due odobenidi è stato l' aspetto sociale dei contatti attivi e passivi intercorsi tra i due esemplari e le interazioni avvenute con l'ambiente circostante, ossia le diverse parti della vasca nella quale erano alloggiati ("tunk rub").

La vasca è stata suddivisa in più parti ed è stato osservato quali fossero maggiormente lambiti dai soggetti (*wall, window, window+people, edge e bottom*). È stato osservato come il muro e la vetrata siano le parti della vasca maggiormente raggiunte da entrambi, questo perché durante il nuoto, il più delle volte gli animali eseguono un tipo di tragitto ripetuto che coinvolge queste due parti sulle quali si appoggiano per darsi la spinta.

Tania esegue il 67% dei contatti totali sul muro, corrispondenti a 2968 tocchi effettivi e per il 20,21% sulla vetrata ossia 892 tocchi.

Anche Yuri predilige questi punti registrando, per quanto riguarda la parete, ben 2254 contatti corrispondenti al 55,80%, e rispetto alla vetrata 1712 tocchi equivalenti al 41,64%.

Le pinne anteriori sono le parti del corpo maggiormente adoperati nell'interazione con la vasca; il dorso per quanto concerne la vetrata. Sono state quantificate inoltre le interazioni fra i due esemplari, rilevando che anche in questo caso le pinne anteriori sono la parte del corpo con la quale questa specie interagisce maggiormente con i cospecifici, infatti,

l'esemplare maschio predilige per approcciarsi con Tania nel 51,83% dei casi osservati mentre Tania nel 44,05% delle volte.

Per avere una visione generale della distribuzione temporale con la quale sono espressi i vari comportamenti è stata eseguita una quantificazione di come venga speso il tempo dai due esemplari *Odobenus rosmarus*.

Dall'analisi si riscontra che il 66,6 % del tempo di Yuri e il 75,7% di quello da Tania è speso nel mezzo acquatico, il restante sulla terraferma

Questo dato rispecchia in pieno le abitudini naturali peculiari di questa specie, infatti, i maggiori assembramenti presenti in natura si trovano lungo le coste ghiacciate adiacenti a tratti di mare, dove questa specie svolge le principali attività vitali; l'alimento prediletto dai trichechi, essendo costituito principalmente da cozze, vongole, echinodermi, gamberetti, vermi, lumache, granchi e coralli molli che si trovano principalmente al di sotto della superficie marina, è del tutto caratterizzato da un ambiente acquatico. Inoltre le attività annesse alla riproduzione, data la stazza, avvengono per loro totalità nel mezzo acquatico.

Il terzo obiettivo della ricerca ha riguardato lo studio delle attività respiratorie dei due esemplari di tricheco.

Dall'analisi generale è emerso che l'esemplare femmina compie apnee in media più estese (26,32±21,04 sec.) rispetto al maschio (23,43±22,25 sec.). Questo dato dimostra in maniera lampante le modificazioni inerenti alle abitudini respiratorie dei soggetti tenuti in stato di cattività rispetto a quelli allo stato brado, infatti, in natura *Odobenus rosmarus* può raggiungere apnee fino a 24 minuti di durata (Wiig *et al.*, 1993; Burn e Knutsen, 1997). Nel nostro caso la motivazione è da ricercarsi nella mancanza di necessità (visto che non deve procacciarsi prede) di immergersi alle profondità alle quali si spingerebbero nel loro habitat naturale. Questa specie, infatti, può spingersi fino agli 800 di profondità (Dhindsa *et al.*, 1974; Ridgway *et al.*, 1984; Fay, 1985).

Dall'analisi per fasce emerge poca discrepanza tra le lunghezze temporali delle medie respiratorie col passare delle ore della giornata ad eccezione di un lieve aumento aumento delle medie in entrambi gli esemplari.

L'ultimo obiettivo ha riguardato lo studio endocrinologico, con l'utilizzo di campioni salivari, alternativi a quelli ematici.

Grazie alla tecnica RIA è stato possibile rilevare i livelli di testosterone, progesterone e cortisolo prensenti nella saliva degli esemplari di *Odobenus rosmarus*. L'utilità di questa tecnica risiede anche nella possibilità di eseguire campionamenti senza incidere sui livelli di stress (e quindi su quelli ormonali) dovuti "all'effetto prelievo" intrinseco al campionamento ematico.

Questo metodo, quindi, può risultare valido, data la sua natura poco invasiva, permette di non utilizzare tecniche di contenimento forzato dell'animale, può essere di grande utilità nel in caso in cui si vogliano studiare i livelli basali di un determinato ormone dato che i campioni ematici, per le modalità di prelievo, non possono essere valutati come veri e propri indicatori di questi livelli in relazione a ormoni, quali i glucorticoidi e in particolar modo cortisolo, estremamente sensibili a questo tipo di fattori stressogeni. Queste tecniche prospettano quindi nuove possibilità di ricerca in questo campo, sia in cattività sia in ambito naturale (Hogg *et al.*; 2009). L'efficacia di questo metodo di campionamento sta anche nella possibilità di effettuare più dosaggi durante l'arco della giornata in modo da studiarne l'andamento temporale anche in brevi lassi di tempo.

La scelta di analizzare i livelli di cortisolo è stata fatta poiché quest'ormone evidenzia in particolar modo situazioni di stress, disagio, eccitazione ed aggressività, è quindi evidente la sua utilità nel monitorare la condizione di salute di un animale e quantificarne in generale lo stato psico-fisico.

Riguardo a Yuri si sono riscontrate delle correlazioni positive tra i livelli di cortisolo e i seguenti *pattern* comportamentali: wall suckling, ventral arch e una correlazione inversa con frequenze e durate orarie di slow swim.

Wall sucklig è un modulo comportamentale normalmente messo in atto per la ricerca di cibo, è stato osservato però che in molti casi viene effettuato " a vuoto", ossia senza uno vero e proprio scopo nutrizionale. L'elevata correlazione con il cortisolo riscontrata (r=0,714) può indicare che questo tipo di comportamento scaturisca anche da livelli di stress particolarmente elevati dovuti alla mancanza di cibo in quel determinato momento e che, come sarebbe normale in natura, indurrebbe il manifestarsi di questo modulo tipico della ricerca cibo con ritmi scelti dall'animale e non, come inevitabilmente accade in stato di cattività, dagli addestratori.

Riguardo al "Ventral arch", la sua correlazione con il cortisolo può indicare un tipo di nuoto più agitato e irregolare; d'altronde anche la correlazione inversa presente con il modulo "slow swim" (r= -0,535) indica una relazione tra modalità di nuoto e i livelli di cortisolo.

A riprova di questo aspetto, anche Tania presenta una correlazione inversa con il modulo comportamentale "slow swim" (r=-0,477); Inoltre, Tania rivela relazioni significative del cortisolo con gli andamenti dei comportamenti "affiliativi" e con "chewing".

Data l'alta correlazione rilevata con quest'ultimo comportamento (r=0,703), suppone che l'attività masticatoria sia uno dei metodi con il quale l'animale scaricha il livello di stress accumulato; è stato infatti osservato che questa tipologia di movimento viene effettuata per periodi prolungati in momenti non correlati all'alimentazione. Riguardo agli ormoni sessuali, Yuri, ha manifestato un risultato interessante rispetto alla correlazione tra il modulo "Approach" e i livelli di testosterone (r=0,446). Questo rapporto è rilevante in quanto dimostra quanto i livelli di testosterone abbiano particolare influenza legata al comportamento tenuto

dall'animale; infatti, questo modulo etologico rappresenta un metodologia di approccio che l'esemplare maschio manifesta nei confronti della femmina, in molti casi con finalità sessuali.

È stata osservata una correlazione anche riguardo ai moduli comportamentali "wall suckling" e "ventral arch"; quest'ultimo, come nel cortisolo, può essere collegato ad una qualche relazione, non ancora approfondita, tra modalità di nuoto e livelli di testosterone nel sangue, non sono però stati trovati in letteratura riferimenti rivolti a questo tema; uno studio più approfondito a riguardo sarebbe di notevole interesse per acuire le conoscenze degli effetti che questo steroide esercita sul comportamento di *Odobenus rosmarus*.

Nel caso di "wall suckling" si può solo notare la coincidenza con la correlazione che questo modulo comportamentale presenta anche con il cortisolo.

Quanto al progesterone, Tania presenta correlazioni rilevanti per ben due dei tre moduli comportamentali che descrivono lo stato di stazionamento, essi sono "rest" (r=0,855) e "vertical stand" (r=0,377); anche in questo caso però, non si riscontrano precedenti studi che abbiano approfondito tale rapporto che possano legare uno stato di stazionamento con i livelli di progesterone. Si apre così il campo a possibili future analisi sull'incidenza dei livelli di progesterone su queste espressioni etologiche.

Le modalità di approccio di questo studio effettuato all' *Oceanografic de Valencia* ha presentato aspetti positivi e oggettive complicazioni; il vantaggio di poter operare in una struttura controllata, dotata di ampie vetrate, ha dato la possibilità di apprezzare una visione anche subacquea dei comportamenti manifestati dai due esemplari all'interno della colonna d'acqua e di registrarne l'esecuzioni; inoltre, è stato possibile effettuare le analisi riguardanti le apnee. Questo tipo di analisi sarebbe risultato impossibile da eseguire in ambiente naturale, anche perché gli specifici

habitat di questa specie (le zone artiche e sub artiche) risultano essere di accesso estremamente difficile.

Le oggettive complicazioni sono derivanti invece da tutti quei fattori correlati alle condizioni di cattività che inevitabilmente s'interpongono tra lo studio di un'animale allo stato brado e un esemplare tenuto sotto la costante influenza antropogenica come, i livelli di stress alterati, le modalità di alimentazione ciclizzate e non strettamente naturali, la regolazione artificiale dei parametri vitali come il ciclo sonno/veglia e tutte le conseguenze che possono derivare da una continua esposizione al grande pubblico.

Concludendo, pur considerando fattori limitanti intrinseci legati all'esiguità numerica dei soggetti e al loro stato di cattività, lo sforzo derivante dall'innovativa metodologia di campionamento totalmente non invasiva, e lo studio multidisciplinare che ha integrato aspetti etologici, endocrinologici e fisiologici, ha permesso di approfondire le conoscenze su aspetti biologici importanti altrimenti impossibili da analizzare in *Odobenus rosmarus*.

# 7.BIBLIOGRAFIA:

- Alcock J. (2007). Etologia un approccio evolutivo. Zanichelli (Ed.).
   Bologna. Pp.55-178.
- Aron D.C., Findling J.W., Tyrrell J. B. (2002). Ipotalamo e ipofisi. Greenspan F.S., Strewler G.J. (Ed.). *Endocrinologia generale e clinica*. Piccin. Padova. Pp. 95-158.
- Ashjian C. J., Smith S. L., Codispoti L.A., Grebmeier J.M., Campbell R.G., Sherr E.B. (2006). *Rapid seasonal sea-ice retreat in the Arctic could be affecting Pacific walrus (Odobenus rosmarus divergens) recruitment.*Aquatic Mammals, 32: 98-102.
- Aublin D.J. (2001). Endocrinology. In: Dierauf L.A., Gulland F.M.D. (Eds.). *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. CRC Press. Boca Raton, Florida. Pp. 165-192.
- Berta A., Wyss A.R. (1994). Pinniped phylogeny. *Transactions of the San Diego Society of Natural History Series*, 29: 33-56.
- Broom D.M., Johnson K.j. (1993) Stress and animal welfare Pp 85:
   9-23
- Charrier I., Aubin T., Mathevon N. (2010). Mother-Calf vocal communication in Atlantic walrus: a first field experimental study. *Animal Cognition*, 13: 471-482.

- Connor R.C. (1990). Ethogram (Monkey Mia, Australia). Working paper for the ECS workshop on ethograms, 10th European Cetacean Society Annual Conference, February 1995, Lugano, Switzerland. [Unpublished].
- Connor, R.C., Wells, R.S., Mann, J., Read, A.J., (2000). *The bottlenose dolphin: Social Relationship in a Fission-Fusion Society. In: Cetacean Societies: Field Studies of Dolphin and Whale*. Mann, J., Connor, R.C., Tyack, P.L., Whitehead H., (Eds). The University of Chicago Press, Chicago e London:Pp 91- 126.
- Constantine R., Brunton H.D., Dennis T. (2004). Dolphin-watching tour boats change bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) behaviour. *Biological Conservation*, 117: 299-307.
- De Beaux O. (1949a). Delfinatteridi. In: *Enciclopedia italiana di scienze, lettere ed arti*. Istituto della Enciclopedia italiana, Roma. (Vol XII). Pp.529-530.
- De Beaux O. (1949b). Tricheco. In: *Enciclopedia italiana di scienze*, *lettere ed arti*. Istituto della Enciclopedia italiana, Roma. (Vol. XXXIV). Pp 319.
- De benedetti A. (2008). Endocrinologia. In: Aguggini G., Beghelli V., Clement M.G., d'Angelo A., Debenedetti A., Facello C., Giulio L.F., Gugliemino R., Lucaroni A., Maffeo G., Marongiu A., Naitana S., Nuvoli P., Piazza R. *Fisiologia degli animali domestici con elementi di etologia*. UTET. Torino. Pp. 655-768.

- Denkinger, J. and von Fersen, L., (1995). Play behaviour in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). In European Research on Cetacean—9 (P.G.H. Evans & H. Nice), Kiel Germany, Pp 198-201.
- Dewsbury D.A. 1984. Comparative psychology in the twentieth century Stroudsburg, PA: Hutchinson Ros, 8:123-138
- Dickson W.M. (2002). Ghiandole endocrine. In: Swenson M.J., Reece W.O. (Eds.). *Dukes' fisiologia degli animali domestici*. Idelson-Gnocchi. Sorbona. Pp: 680-719.
- Di Paola S., Akai C., Kraus B.(2007). Experiencing belugas: developing anaction selection-based aquarium interactive. *Journal of Adaptive Behavior, Special Issue on Action Selection*.
- Dudzinsky K.M. (1996). Communication and behaviour in the Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*): relationships between vocal and behavioural activities. Dissertation thesis. Texas A&M University, College Station, Pp 5-215.
- Eibl-Eibesfeldt, I. (1995). *I fondamenti dell'etologia il comportamento degli animali e dell'uomo*. Adelphi. Milano. Pp. 23-39.
- Esposti Appicino E., Tizzi R. (2006). Bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) behavioural catalog: unification of current terminology and selection of video sequences in a controlled environment. Poster session presented at: *34th Annual Symposium of the European Association for Aquatic Mammals*. Riccione. 17-20 Marzo 2006.

- Fay F.H. (1960). Structure and function of the pharyngeal pouches of the walrus (*Odobenus rosmarus*). *Mammalia*, 24: 361-371.
- Fay F.H., Ray G.C. (1968). Influence of climate on the distribution of walruses, *Odobenus rosmarus* (*Linnaeus*). *Zoologica: New York Zoological Society*, 53:1-14
- Fay F.H. (1982). *Ecology and biology of the pacific walrus*, *Odobenus rosmarus divergens Illinger*. North American Fauna 74. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service. Washington, DC. Pp. 1-279.
- Fay F.H. (1985). *Odobenus rosmarus. Mammalian species*, 238: 1-7.
- Jay C.V., Marcot B.G., Douglas D.C. (2011). Projected status of the Pacific walrus (*Odobenus rosmarus divergens*) in the twenty-first century. *Polar Biology*, 34: 1065-1084.
- Karczmarski L., Thornton M., Cockcroft V.G. (1997). Description of the selected behaviours of humpback dolphins (*Sousa chinensis*). *Aquatic mammals*, 23: 127-133.
- Kastelein R.A., Gerrits N.M. (1990). The anatomy of the walrus head (*Odobenus rosmarus*). Part 1: The Skull. *Aquatic Mammals*, 16: 101-119.
- Kastelein R.A., Gerrits, N.M., Dubbeldam J.L. (1991). The anatomy of the Walrus head (*Odobenus rosmarus*). Part 2: Description of the

muscles and of their role in feeding and haul-out behaviour. *Aquatic Mammals*, 17:156-180.

- Kastelein R.A., Dubbeldam J.L., de Bakker M.A.G. (1997). The anatomy of the walrus head (*Odobenus rosmarus*). Part 5: The tongue and its function in walrus ecology. *Aquatic Mammals*, 23: 29-47.
- Kastelein R.A. (2009). Walrus *Odobenus rosmarus*. In: Perrin W.P., Wursig B., Thewissen J.G.M. (Eds.). *Encyclopedia of marine mammals*. Academic press Elsevier, San Diego, CA. Pp.1212-1217.
- Kovacs K.M., Aguilar A., Aurioles D., Burkanov V., Campagna C., Gales N., Gelatt T., Goldsworthy S.D., Goodman S.J., Hofmeyr F.J.G., Harkonen T., Lowry L., Lydersen C., Schipper J., Sipila T., Southwell C., Stuart S., Thompson D., Trillmich, F. (2011). Global threats to pinnipeds. *Marine Mammal Science*, 28: 414-436.
- Gaiani, R., Chiesa, F., Mattioli, M., Nannetti, G., Galeati, G., (1984). Androstenedione and testosterone concentrations in plasma and milk of the cow throughout pregnancy. Journal of Reproduction & Fertility 70: 55-59.
- Ghiretti F. (1977). Fisiologia generale e animale. UTET. Torino. Pp. 310-425.
- Herzing D.L. (1995). Vocalizations and associated underwater behavior of free-ranging Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*) and bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Aquatic Mammals*, 22: 61-79.

- Herzing, D.L. and Johnson, C.M., (1997). Interspecific interactions between Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*) and bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Bahamas, 1985-1995. *Aquatic mammals* 23:85-99.
- Hof C., Levinsky I., Arau´ jo M.B., Rhabek C. (2011). Rethinking species' ability to cope with rapid climate change. *Global Change Biology*, 17:2987-2990.
- Lehner, P.N., (1996). Handbook of ethological methods. Cambridge University Press, Cambridge:Pp 672.
- Lovallo, W.R., (1997). Physiological regulation during physical and phycological stress. In Stress and Healt: Behavioral and Phsycological Interactions. Lovallo, W.R. (Ed.). Sage Publications, Thousand Oaks, CA: 55-74.
- MacCracken J.G. (2012). Pacific walrus and climate change: observations and predictions. *Ecology and Evolution*, 2: 2072-2090.
- McLaren I.A. (1960). Are the Pinnipedia Biphyletic? *Systematic Zoology* 9: 18-28..
- Martin, P. and Bateson, P., (1986). Measuring Behaviour: An introductory Guide. Cambridge University Press, Cambridge:Pp 222.

- Marten, K., Shariff, K., Psarakos, S., White, D.J., (1996). Ring bubbles of dolphins. Sci. Am. 275(2): 82-87.
- Martinez, D.R. and Klinghammer, E., (1978). A partial ethogram of the killer whale (*Orcinus orca L.*). Carnivore 3: 13-27.
- Mason WA. (2000). Early developmental influences of experience on behaviour, temperament, and stress. *In:* Moberg GP, Mench JA, *editors*. The biology of animal stress. Basic principles and implications for animal welfare. New York: *CABI Publishing*. *Pp*269–290
- Miles, J.A. and Herzing, D., (2003). Underwater analyses of the behavioural development of free-ranging Atlantic spotted dolphin (*Stenella frontalis*) calves (birth to 4 years age). Aquatic mammals 29(3): 363-377.
- Miller E.H. (1975). Walrus ethology. I. The social role of tusks and applications of multidimensional scaling. *Canadian Journal of Zoology*, 53:590-613.
- Muizon C. (1982). Phocid phylogeny and dispersal. *Annals of the South Africa Museum*, 89: 175-213.
- Muller, M., Boutiere, H., Weaver, A.Ch, Candelon, N., (1998). Ethogram of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) with special reference to solitary and sociable dolphins. Vie Milieu 48(2):Pp 89-104.

- Munch, A.C., and Perkins, P.C., (1995). Adrenocortical colour darkness and correlates as indicators of continuous acute post-mortem stress in chased and purse-seined captured male dolphins. *Pathophysiology* 2: 191-204.
- Nelson D.L., Lien J. (1994). Behaviour patterns of two Atlantic white-sided dolphins, (*Lagenorhynchus acutus*). *Aquatic Mammals*, 20: 1-10.
- Ostman J.S.O., Folkens P.A. (1996). *A vocabulary to describe cetacean behaviors*. University of California, Santa Cruz, CA.Pp 1- 26.
- Pryor, K., (1990). Non-acoustic communication in small cetaceans: glance, touch, position, gesture and bubbles. In: Sensory Abilities of Cetaceans. Thomas, J. and Kastelein, R. (Eds.). Plenum Press, New York:Pp 537-544.
- Randall, D., Burggren, W., French, K., (1999). Fisiologia Animale, meccanismi e adattamenti. Zanichelli (Ed) Pp:944
- Renjun L., Gewalt W., Neurohr B., Winkler A. (1994). Comparative studies on the behavior of *Inia geoffrensis* and *Lipotes vexillifer* in artificial environments. *Aquatic mammals*, 20: 39-45.
- Rommel S.A., Lowenstine L.J. (2001). Gross and microscopic anatomy. In: Dierauf L.A., Gulland F.M.D. (Eds.). *CRC Handbook of Marine MammalMedicine*. CRC Press. Boca Raton, Florida. Pp 129-164.

- Rushen J., Mason G. (2007). A decade-or-more's progress in understanding stereotypic behavior. In: Mason, G., Jeffrey R. (Eds.). *Stereotypic animal behaviour: fundamentals and applications to welfare*. CABI. Cambridge, UK. Pp 1-15.
- Saayman, G.S., Tayler, C.K., Bower, D., (1973). Diurnal activity cycles in captive and free-ranging Indian Ocean bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus* Ehrenburg). *Behaviour* 44: 212-233.
- Sekiguchi Y., Kohshima S. (2003). Resting behavior of captive bottlenose dolphins (*Tursiops trunactus*). *Physiology and Behavior*, 79: 643-653.
- Seren, E., Leopold, A., Bolelli, G., (1974). Peripheral plasma levels of estrogens and progesterone during the bovine estrous cycle. Arch. Vet. It. 25: 433-519.
- Sherwood, L., Klandorf, H., Yancey, P., (2006). Fisiologia degli animali, dai geni agli organismi. Zanichelli (Ed).
- Slooten, E., (1994). Behavior of the Hector's dolphin: classifying behaviour by sequence analysis. Journal of Mammalogy 75: 956-964.
- Stirling I., Calvert W., Spencer C. (1987). Evidence of stereotyped underwater vocalization of male Atlantic walruses (*Odobenus rosmarus* rosmarus). Canadian Journal of Zoology, 65: 2311-2321

- Sylvestre J.P. (1985). Some observations on the behavior of two Orinco Dolphins (*Inia geoffrensis humboldtiana*), (Pilleri and Gihr 1977), in captivity at Duisburg Zoo. *Aquatic mammals*, 11: 58-65.
- Tamanini, C., Giordano, N., Chiesa, F., Seren E., (1983). Plasma cortisol variations induced in the stallion by mating. Acta Endocrinologica 102: 447.
- Tavolga M.C., Essapian F.S. (1957). The behavior of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): mating, pregnancy, parturition and mother-infant behavior. *Zoologica*, 42: 11-31.
- Tedford R.H. (1976). *Relationships of pinnipeds to other carnivores* (*Mammalia*). *Systematic Zoology*, 25: 363-374.
- Tinbergen, N., (1963). *On aims and methods of ethology*. Z. Teirsyichol.Bieh. 20: 410-433.
- Verboom W.C., Kastelein R.A. (1995). Rutting whistles of a male Pacific walrus (*Odobenus rosmarus divergens*). In: Kastelein R.A., Thomas J.A., Nachtigall P. E. (Eds.). *Sensory Systems of Aquatic Mammals*. De Spil Publishers. Woerden, Netherlands. Pp. 287-298.
- Von Streit, C., (1995). Behaviour of two bottlenose dolphin calves in their first year and mother-calf relationship. Working Paper for the ECS Workshop on Ethograms, Lugano, Switzerland. February 1994.

- Wiig Ø., Gjertz I., Griffiths D., Lydersen C. (1993). Diving patterns of an Atlantic walrus *Odobenus rosmarus* near Svalbard. *Polar Biology*, 13: 71-72.
- Wilson A.C. 1975. Stadler genet, symp. 7, 117-134.
- Wyss A.R. (1987). The walrus auditory region and monophyly of pinnipeds. *American Museum Novitates*, 2871: 1-31.