

ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITA' DI BOLOGNA

---

SCUOLA DI SCIENZE

Corso di laurea magistrale in BIOLOGIA MARINA

---

**Costruzione del catalogo comportamentale di  
*Delphinapterus leucas*: quantificazione in relazione  
a dinamiche temporali e correlazione con  
parametri respiratori ed endocrini**

Tesi in Adattamenti degli animali in ambiente marino

Relatore

Prof. Elena Fabbri

Presentata da

Paola Todeschini

Correlatori

Dott. Raffaella Tizzi

Prof. Pier Attilio Accorsi

III sessione

Anno Accademico 2011-2012



# INDICE

1. <u>INTRODUZIONE</u>	Pag. 6
1.1 I CETACEI	Pag. 6
1.2 IL BELUGA ( <i>Delphinapterus leucas</i> )	Pag. 8
1.2.1 TASSONOMIA E STORIA EVOLUTIVA	Pag. 8
1.2.2 MORFOLOGIA	Pag. 9
1.2.3 DISTRIBUZIONE E HABITAT	Pag. 10
1.2.4 PRINCIPALI ADATTAMENTI ALL'AMBIENTE ARTICO	Pag. 10
1.2.4.1 APPARATO ACUSTICO E SISTEMA DI ECOLOCALIZZAZIONE	Pag. 10
1.2.4.2 APPARATO VISIVO	Pag. 11
1.2.4.3 PINNA DORSALE	Pag. 12
1.2.5 COMPORTAMENTO ED ECOLOGIA DELLA SPECIE	Pag. 13
1.2.6 ORGANIZZAZIONE SOCIALE	Pag. 14
1.2.7 INTERAZIONI CON GLI UMANI	Pag. 15
1.3 ETOLOGIA E COMPORTAMENTO ANIMALE	Pag. 16
1.3.1 PERCHÉ STUDIARE IL COMPORTAMENTO ANIMALE	Pag. 18
1.3.2 SVILUPPO DI UNO STUDIO ETOLOGICO	Pag. 19
1.3.2.1 L'ETOGRAMMA	Pag. 20
1.3.2.2 PROTOCOLLI E METODI DI CAMPIONAMENTO	Pag. 22
1.4 GLI ORMONI	Pag. 23
1.4.1 IL CORTISOLO	
1.4.1.1 RUOLO NELL'ADATTAMENTO IN SITUAZIONI DI STRESS	Pag. 26
1.4.1.2 LIVELLI BASALI E VARIAZIONI	Pag. 28
1.4.2 ORMONI SESSUALI	Pag. 29
1.4.2.1 LIVELLI BASALI E VARIAZIONI	Pag. 30
2. <u>OBIETTIVI DELLO STUDIO</u>	Pag. 31
3. <u>MATERIALI E METODI</u>	Pag. 33

3.1 CARATTERIZZAZIONE DELL'AMBIENTE DI STUDIO	Pag. 33
3.2 SOGGETTI DELLO STUDIO	Pag. 36
3.3 COSTRUZIONE CATALOGO COMPORTAMENTALE E ARCHIVIO VIDEO	Pag. 37
3.4 ANALISI DEL COMPORTAMENTO	Pag. 38
3.5 ANALISI DELL'ATTIVITÀ RESPIRATORIA	Pag. 40
3.6 DOSAGGIO ORMONALE	Pag. 41
3.6.1 RACCOLTA DEL MATERIALE BIOLOGICO	Pag. 41
3.6.1.1 PRELIEVO DELLO SFIATO	Pag. 42
3.6.2 ANALISI IN LABORATORIO DEI CAMPIONI ORMONALI	Pag. 43
3.7 ANALISI STATISTICHE	Pag. 48
4. <u>RISULTATI</u>	Pag. 49
4.1 CATALOGO COMPORTAMENTALE	Pag. 49
4.2 ANALISI QUANTITATIVA DEL COMPORTAMENTO	Pag. 62
4.2.1 LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR	Pag. 68
4.2.1.1 STAZIONAMENTO	Pag. 71
4.2.1.2 SWIM PREFERRED-TRIP	Pag. 73
4.2.2 SOCIAL BEHAVIOUR	Pag. 76
4.2.3 AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR	Pag. 79
4.2.4 SEXUAL BEHAVIOUR	Pag. 82
4.2.5 AERIAL BEHAVIOUR	Pag. 84
4.2.6 BUBBLE RELATED BEHAVIOUR	Pag. 85
4.2.7 PLAY BEHAVIOUR	Pag. 89
4.3 ANALISI QUANTITATIVA DEI PARAMETRI RESPIRATORI	Pag. 91
4.4. DOSAGGIO ORMONALE	Pag. 93
4.4.1 VALORI ORMONALI	Pag. 93
4.4.2 CORRELAZIONE ORMONALE CON COMPORTAMENTO E ATTIVITÀ RESPIRATORIA	Pag. 95
4.4.2.1 CORRELAZIONE TRA COMPORTAMENTO	



E CORTISOLO IN YULKA	Pag. 95
4.4.2.2. CORELAZIONE TRA COMPORAMENTO E CORTISOLO IN KAIRO	Pag. 99
4.4.2.3 CORRELAZIONE TRA COMPORAMENTO E PROGESTERONE IN YULKA	Pag. 109
4.4.2.4 CORRELAZIONE TRA COMPORAMENTO E TESTOSTERONE IN KAIRO	Pag. 117
5. <u>DISCUSSIONE E CONCLUSIONE</u>	Pag. 119
6. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	Pag. 130
RINGRAZIAMENTI	Pag. 144

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1 I CETACEI

I Cetacei sono un ordine di Mammiferi di cui fanno parte balene, delfini e focene: attualmente non si conosce il numero preciso delle specie esistenti in quanto ne vengono scoperte di nuove e vi è costante dibattito sull'opportunità di ripartirne alcune in due o più generi.

In seguito alle scoperte della biologia molecolare la classificazione tassonomica dei Cetacei è stata riconsiderata e attualmente l'ordine dei Cetacei annovera 82-87 specie divise in due sottordini: i Mysticeti (balene e balenottere) e gli Odontoceti (delfini, orche, capodoglio) (Pace, 2009).

Gli Archeoceti rappresentano un terzo sottordine costituito unicamente da specie estinte conosciute solo attraverso lo studio dei reperti fossili (Barnes, 2002).

L'evoluzione dei cetacei è iniziata 55 milioni di anni fa (Fordyce, 2002) e ha trasformato questi animali in specie totalmente affrancate dalle terre emerse in grado di vivere e muoversi nell'ambiente acquatico.

Modellati dall'evoluzione, i cetacei hanno finito per assumere grossolanamente l'aspetto di un pesce: gli arti anteriori si sono trasformati in pinne pettorali, mentre quelli posteriori sono scomparsi lasciando all'interno del corpo soltanto i rudimenti vestigiali del cinto pelvico ed eccezionalmente del femore. L'organo propulsore per eccellenza è divenuto la coda, azionata da un'apposita muscolatura enormemente sviluppata.

Nelle specie più veloci è comparsa sul dorso la pinna dorsale, con funzione di stabilizzatore. Di forma subtriangolare e non connessa in alcun modo con lo scheletro, essa è formata da una duplicatura cutanea irrigidita al suo interno da tessuto connettivo e fibre di collagene. Il collo è scomparso, mentre il capo si è saldato al tronco con la fusione delle vertebre cervicali. Rispetto ai mammiferi terrestri i cetacei sono privi di pelo o quasi, ne rimangono tracce nei feti e sul rostrato di alcune specie. La sua funzione termoisolante è stata assunta dal pannicolo adiposo, l'ampio strato di grasso sottocutaneo. L'intero cranio ha subito una deformazione mediante rotazione all'indietro e verso l'alto

della sua porzione superiore, con il conseguente spostamento delle narici dall'estremità anteriore del muso verso la sommità del capo (telescopia). I Misticeti hanno mantenuto due orifizi, mentre negli Odontoceti le due narici convergono in un unico orifizio, chiamato sfiatatoio (Notarbartolo di Sciara and Demma, 2004).

Sebbene condividano la maggior parte delle caratteristiche sopra elencate, i due sottordini dei Cetacei presentano elementi che li contraddistinguono.

I Misticeti, cioè i Cetacei con i fanoni (dal greco *Mystax*, *mystakòs*, baffi o mustacchi), durante la loro evoluzione hanno perso i denti, sostituendoli con lamine cornee triangolari, con il lato interno sfrangiato in setole, impiantate in serie lungo il margine della mascella superiore. I fanoni permettono di filtrare l'acqua e intrappolare così piccoli pesci e zooplancton, l'elemento principale della loro dieta.

Tutte le specie appartenenti a questo sottordine hanno dimensioni generalmente molto grandi, ne è un esempio la balenottera azzurra (*Balaenoptera musculus*), l'animale più grande mai esistito sul nostro pianeta con una lunghezza di oltre 30 metri e un peso di 150 tonnellate. Al sottordine dei Misticeti appartengono 13-15 specie, divise in 4 famiglie.

Gli Odontoceti, ossia i Cetacei con i denti (dal greco *Odous*, *odontòs*, dente), ne possiedono in numero e posizione diversi a seconda delle specie. Sono prevalentemente ittiofagi o teutofagi, e le loro prede vengono cacciate attivamente. Sono animali generalmente più piccoli dei Misticeti, ad eccezione di alcune specie fra le quali il capodoglio (*Physeter macrocephalus*), il berardio (*Berardius bairdii*) e l'orca (*Orcinus orca*). Gli Odontoceti comprendono 69-72 specie, divise in 10 famiglie (Pace, 2009).

È proprio a questo sottordine che appartiene la specie *Delphinapterus leucas*, oggetto del nostro studio.

## 1.2 IL BELUGA (*Delphinapterus leucas*)

Il beluga, chiamato anche delfinattero o balena bianca, è diffuso nelle acque intorno al circolo polare artico, dove frequenta per lo più tratti di mare costieri poco profondi, spesso bassissimi.

Il suo nome comune deriva dalla parola russa “beloye” che significa “bianco” ed esprime perfettamente il suo tratto più distintivo, il colore bianco della pelle negli adulti.

La storia evolutiva e l’ecologia di questa specie sono collegate intrinsecamente agli estremi contrasti stagionali delle zone nordiche e alla natura dinamica dei mari glaciali di queste regioni (O’Corry-Crowe, 2009).

### 1.2.1 TASSONOMIA E STORIA EVOLUTIVA

Il beluga appartiene alla famiglia dei Monodontidi, la quale comprende come unico altro membro anche il Narvalo (*Monodon monoceros*); in passato si considerava *Orcella brevirostris* una specie di questa famiglia ma recenti studi genetici evidenziano una forte appartenenza di quest’ultima alla famiglia dei *Delphinidae* (Lint *et al.*, 1990; LeDuc *et al.*, 1999).

Il reperto fossile più recente dei monodontidi è di *Denebola brachycephala*, un beluga estinto ritrovato in depositi del Miocene nella Baja California (Messico) che dimostra come in passato questa famiglia abbia occupato ecozone temperate e si sia evoluto col passare delle ere per poter sopravvivere nelle zone artiche (Barnes, 2002). Questa teoria è supportata anche dal ritrovamento di fossili di *D. leucas* in depositi del Pleistocene nel nord-est del Nord America che riflettono il successivo range di espansioni e contrazioni di questa specie associata con i periodi di glaciazione massima e minima (O’Corry-Crowe, 2009).

## 1.2.2 MORFOLOGIA

Il beluga è un cetaceo di medie dimensioni, raggiunge una lunghezza compresa tra i 3,5 e i 5,5 metri e un peso fino a 1500 kg e come tutti i membri del sottordine odontoceti possiede una bocca dotata di denti.

Gli esemplari maschili sono in media più lunghi di quelli femminili del 25% e rispetto alle loro compagne presentano un corpo più tozzo e robusto.

Possiedono una testa piccola e tondeggiante, muso molto corto, fronte piuttosto elevata (melone) e sono privi di pinna dorsale (Fig. 1.1). Due tratti caratteristici che li distinguono dagli altri cetacei è l'elevata mobilità del collo e la muta annuale.

La flessibilità laterale della testa e del collo permette ai beluga di muoversi in acque poco profonde (1-3 metri di profondità) per inseguire le prede, fuggire ai predatori e sfruttare un habitat generalmente poco usato dagli altri cetacei.

I neonati misurano in media circa 1,6 metri di lunghezza. Alla nascita la pelle è di colore grigio ardesia con sfumature rosa brunastre. Progressivamente la colorazione diventa più chiara con la crescita: trasformandosi da grigio, a grigio chiaro fino a diventare di colore bianco a 7 anni di età nelle femmine e a 9 anni nei maschi (O'Corry-Crowe, 2009).

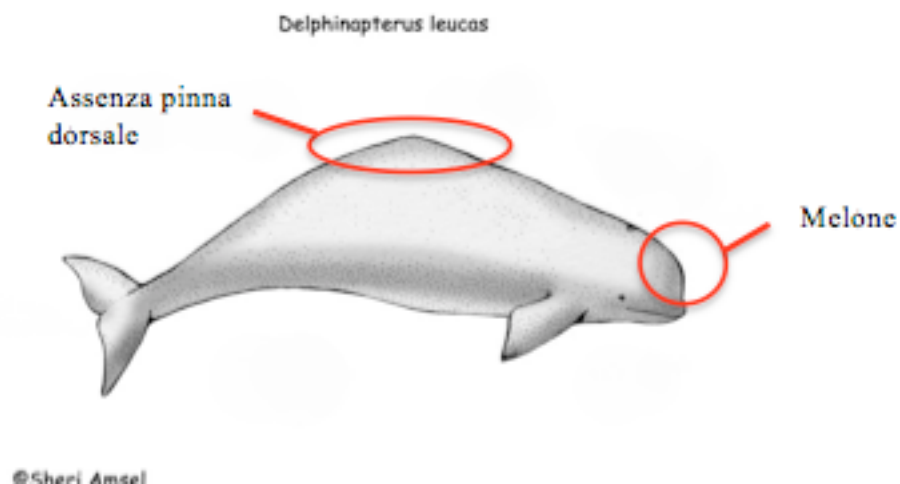


Fig. 1.1 *Delphinapterus leucas*

### 1.2.3 DISTRIBUZIONE E HABITAT

La distribuzione di questa specie è discontinua intorno al circolo polare artico con qualche popolazione isolata che si estende occasionalmente a sud fino al fiume St. Lawrence in Canada.

In inverno risiedono nelle fredde acque artiche, rimanendo nelle zone di mare aperto non ricoperte dai ghiacciai, mentre durante l'estate migrano verso baie poco profonde ed estuari. Questi movimenti stagionali dipendono sia dalle condizioni oceanografiche (principalmente le dinamiche della copertura glaciale) sia dalla distribuzione delle specie di cui si cibano (Boltunoy and Belikov, 2002).

Gli esemplari femmine e i piccoli preferiscono sostare nelle acque poco profonde lungo la scogliera, vicino ad isole e in grandi baie dove la temperatura superficiale dell'acqua è calda e sono presenti sabbia, pietre e fondali fangosi con molluschi, crostacei e pesci bentonici.

Adulti e giovani svezzati, invece, preferiscono zone in cui la profondità varia, dove le temperature superficiali sono fredde e dove sono presenti fondali rocciosi, sabbiosi o fangosi con materiale grossolano.

### 1.2.4 PRINCIPALI ADATTAMENTI ALL'AMBIENTE ARTICO

Per vivere in condizioni estreme di temperatura e torbidità, i beluga hanno sviluppato adattamenti unici che hanno facilitato la loro sopravvivenza nelle regioni artiche. La comprensione di questi adattamenti fornisce, inoltre, una prospettiva per valutare il modo in cui il beluga risponde a vari stress di origine antropica e non.

#### 1.2.4.1 APPARATO ACUSTICO E SISTEMA DI ECOLOCALIZZAZIONE

I Beluga hanno sviluppato un ottimo senso dell'udito direzionale ed un efficiente sistema di ecolocalizzazione. Il loro udito percepisce una vasta gamma di frequenze, da circa 40-75 Hz a 80-150 kHz, ma è maggiormente acuto a frequenze medie comprese tra i 10 e i 75 kHz circa (Fay, 1988; Richardson, 1995).

La ricezione dei suoni ad alta frequenza avviene attraverso la mascella inferiore: l'osso è cavo alla base e riempito con grasso; in questo modo i suoni sono condotti attraverso la mascella fino all'orecchio medio ed interno e successivamente al cervello (National Marine Fisheries Service, 2008). Tale sistema di ecolocalizzazione, ben adattato alle gelide acque dell'Artico, conferisce a questi animali la capacità di emettere e ricevere segnali individuando gli obiettivi anche in presenza di elevati livelli di rumore ambientale o di retrodiffusione del suono.

Infatti, se una sorgente di rumore tra un beluga e il suo obiettivo è troppo elevata per poter utilizzare l'ecolocalizzazione direzionale, il beluga può reindirizzare e far rimbalzare il suo fascio sulla superficie dell'acqua. Questa capacità di modificare gli impulsi emessi in una direzione diversa permette di localizzare con successo il bersaglio anche in presenza di altre fonti di rumore.

Grazie a questo adattamento i beluga riescono a navigare anche attraverso spessi strati di banchisa, nonché individuare aree libere dalla copertura glaciale e forse anche di trovare sacche d'aria al di sotto del ghiaccio (Turl, 1990).

#### 1.2.4.2 APPARATO VISIVO

La letteratura riporta come la visione dei beluga sia considerata ben sviluppata, sia sott'acqua sia al di fuori; la retina dei loro occhi possiede cellule a coni e a bastoncelli e per questo motivo si crede che siano in grado di distinguere i colori (Dawson, 1980).

Recenti dati, fisiologici, genetici, molecolari e di immunocitochimica, tuttavia, dimostrano l'assenza di cellule a coni sensibili al colore blu negli occhi di balene e foche, indicando la presenza di sole cellule a cono monocromatiche e, di conseguenza, gravi deficit nella visione dei colori (Griebel and Peichl, 2003).

Attualmente le ricerche sono ancora in corso con risultati che necessitano di ulteriori approfondimenti.

### 1.2.4.3 PINNA DORSALE

Il nome del genere *Delphinapterus* significa “delfino senza la pinna dorsale” caratteristica ben evidente negli esemplari di beluga che al posto della pinna dorsale presentano un crinale frastagliato, privo o quasi delle terminazioni nervose.

Questa cresta molto robusta è utilizzata dai beluga per rompere i resistenti strati di banchisa creando così superfici d’acqua libere dal ghiaccio dove poter respirare.

Inoltre, la riduzione dell’estensione della pinna dorsale riduce le probabili perdite di calore (O’Corry-Crowe, 2009).

### 1.2.5 COMPORTAMENTO ED ECOLOGIA DELLA SPECIE

Al contrario della staticità del sorriso dei delfini oceanici, l’abilità dei beluga di alterare la forma della loro bocca e della fronte (melone) permette agli esemplari di questa specie di assumere varie espressioni facciali, per cui può sembrare che sorrida, minacci o fischi; queste espressioni possono essere un modo di comunicare oppure essere collegate alla produzione di suoni.

Il suo nuoto lento è costituito da un movimento dolcemente ondeggiante, raramente caratterizzato da acrobazie aeree. Tuttavia nelle aree vicino alla costa artica canadese, esemplari di beluga sono stati osservati compiere comportamenti quali *spy hopping*, *tail waving and tail slapping* (O’Corry-Crowe, 2009).

Recenti studi di monitoraggio satellitare attraverso trasmettitori attaccati ad esemplari in libertà, mostrano la capacità dei beluga di compiere migrazioni di migliaia di chilometri attraverso il mare aperto e gli spessi strati di banchisa, mantenendo una velocità di nuoto pari a 2,5-3,3 Km/h (Suydam *et al.*, 2001).

I sensori di questi trasmettitori hanno, inoltre, registrato come i beluga compiano regolarmente immersioni profonde 300-600 metri e come nelle acque profonde al di là della piattaforma continentale possano immergersi fino a 1000 metri di profondità per una durata massima di 25 minuti (Richard *et al.*, 1997; Martin *et al.*, 1998).



Nelle zone di mare aperto i beluga spendono le loro giornate a nutrirsi e a riposare; la caccia è generalmente di tipo individuale (anche se all'interno di un piccolo gruppo), e solo in alcuni casi i beluga sono stati osservati cacciare cooperativamente.

Una tipica sequenza di caccia inizia con un lento movimento monodirezionale combinato con una localizzazione acustica passiva (*search mode*) seguito da uno scatto in velocità e un rapido cambiamento di direzione usando l'ecolocalizzazione per orientarsi e catturare la preda (*hunt mode*) (Bel'kovich and Sh'ekotov, 1990).

La maturità sessuale è raggiunta nelle femmine intorno ai 5 anni mentre nei maschi più tardi, verso gli 8 anni d'età.

La gestazione dura 14 mesi e generalmente porta alla nascita di un solo cucciolo durante il periodo primaverile e di inizio estate, coincidente con la migrazione verso acque calde costiere.

Le madri producono latte ipercalorico e nutrono i propri cuccioli fino ai due anni di età.

Molto poco si conosce riguardo alla stagione e ai comportamenti esibiti durante l'accoppiamento da questa specie in natura. Si ipotizza che la fecondazione possa avvenire tra la fine dell'inverno e l'inizio della primavera, un periodo nel quale la maggior parte dei beluga si trova nella zona di svernamento o all'inizio della migrazione primaverile.

Appena la banchisa si ritrae in primavera, i beluga migrano verso i territori estivi, spesso formando dense concentrazioni in alcuni punti costieri, come ad esempio estuari, insenature poco profonde e baie. Diverse spiegazioni sono state proposte sul motivo per il quale i beluga ritornano tradizionalmente in queste aree estive; ad esempio, in molte regioni le acque costiere protette sono più calde e questo potrebbe essere di grande aiuto per proteggere i cuccioli appena nati.

La permanenza negli estuari coincide, inoltre, con il periodo della muta. I beluga sono stati osservati grattare attivamente il loro corpo contro il fondale roccioso vicino alla costa (Smith *et al.*, 1992); inoltre, le acque relativamente più calde e la loro bassa salinità sono condizioni che favoriscono la perdita di cellule epiteliali morte e la ricrescita di nuova epidermide (St. Aubin *et al.*, 1990; Smith *et al.*, 1992).

La dieta dei beluga è composta da una grande varietà di invertebrati e vertebrati bentonici e pelagici. È stato osservato che i beluga si nutrono vicino alle coste basandosi

sull'abbondanza stagionale di pesci anadromi e costieri come il salmone (*Oncorhynchus spp.*), aringhe (*Clupea harengus*), capelano (*Mallotus villosus*), sperlani (*Osmerus mordax*) e merluzzo (*Eleginus gracilis*) (Kleinenberg *et al.*, 1964; Seaman *et al.*, 1982).

La relativa importanza di questi fattori nella determinazione dei pattern di distribuzione lungo la costa può variare nelle diverse regioni, in base a caratteristiche ambientali e biologiche (Frost and Lowry, 1990), ma risulta comunque chiaro che i beluga mostrino un certo grado di dipendenza da specifiche aree costiere.

In molte aree dell'Artico, i Beluga poi abbandonano le aree costiere per allontanarsi dalle rive anche di 1100 km e penetrando fino a 700 km all'interno della calotta polare dove la copertura glaciale supera il 90% (Suydam *et al.*, 2001).

Come questi animali riescano a trovare degli spazi liberi per respirare in quest'ambiente rimane ancora un mistero. Analisi dei profili di immersione suggeriscono che i beluga utilizzino l'ecolocalizzazione in profondità per trovare crepe nella copertura di ghiaccio sovrastante per poi romperlo con l'aiuto della cresta dorsale. Dati di immersione indicano, inoltre, che i beluga probabilmente si nutrono sia di prede bentoniche sia di specie associate al ghiaccio che si trovano vicino la superficie (Martin *et al.*, 1998).

Molto poco è conosciuto riguardo alla distribuzione, all'ecologia e al comportamento di questa specie durante il periodo invernale. In molte regioni, si crede che i beluga migrino nella stessa direzione dell'avanzamento del fronte glaciale; mentre in alcune aree potrebbero rimanere dietro questo fronte e passare l'inverno nelle zone d'acqua libere tra i banchi di ghiaccio.

## 1.2.6 ORGANIZZAZIONE SOCIALE

Anche se a volte si osservano beluga solitari, comunemente in natura si incontrano gruppi costituiti da 2-10 individui che a volte si aggregano fino a formare gruppi composti centinaia fino a migliaia di individui.

Gli esemplari solitari generalmente sono sempre individui adulti, mentre nei gruppi misti i maschi adulti possono separarsi e formare sub-unità di 6-20 individui.

Le femmine adulte formano piccole associazioni con i propri cuccioli e qualche volta anche con un esemplare giovane, probabilmente un precedente cucciolo, unendosi a volte con gruppi simili e formando così un grande “*nursery group*”.

Durante l’anno ci sono periodi in cui la segregazione per sesso ed età è più evidente durante i quali i maschi adulti migrano allontanandosi e nutrendosi lontano dagli esemplari femminili, giovanili e immaturi.

Generalmente la struttura del gruppo è fluida: gli individui formano e rompono velocemente le associazioni con altri beluga e oltre alle coppie formate da madre-cucciolo esistono pochissime associazioni stabili. In ogni caso, considerando che questi animali mostrano una grande varietà di comportamenti interattivi e cooperativi, è evidente che questa specie è in grado di formare complesse società dove i membri del gruppo sono uniti anche senza trovarsi in stretta prossimità fisica.

### 1.2.7 INTERAZIONI CON GLI UMANI

A causa della predicibilità delle rotte migratorie e della permanenza nelle aree costiere, i beluga sono stati per un lungo periodo un’importante risorsa per molte popolazioni costiere in tutto l’Artico e sub-Artico.

Attualmente, a causa dell’eccessivo sfruttamento commerciale del passato, i livelli di cattura da queste popolazioni non sono più sostenibili. D’altra parte l’aumento dell’attività umana in queste aree ha determinato un aumento della distruzione dell’habitat di questa specie, con un notevole incremento del disturbo e dell’inquinamento. Ad esempio, nelle aree dove sono presenti attività commerciali come la pesca, è alto il rischio per i beluga, specialmente per i neonati, di rimanere intrappolati nelle reti dei pescherecci.

In alcune aree dell’Artico, i beluga sembrano voler evitare il traffico navale, mentre in altre regioni mostrano un certo grado di tolleranza alla presenza delle imbarcazioni.

Questa specie risulta, inoltre, essere vittima dell’inquinamento; è stata, infatti, riscontrata un’alta incidenza di diverse patologie nei beluga del fiume St. Lawrence in Canada, probabilmente collegate con gli alti livelli di metalli pesanti e organocloruri trovati negli

esemplari. Alcune tossine, infatti, possono agire sopprimendo la normale risposta immunitaria, andando così ad incidere sulla crescita della popolazione (Béland, 1996).

I Beluga sono stati tra i primi cetacei ad essere tenuti in cattività, fin da quando nel 1861 un esemplare di questa specie, catturato nel fiume St. Lawrence, fu trasferito e mantenuto al museo Barnum a New York. Oggi i beluga sono uno dei più comuni e popolari mammiferi marini negli acquari in tutto il Nord America e Giappone. La maggior parte di questi esemplari sono animali catturati in natura, ma attualmente, con l'efficienza del programma di inseminazione artificiale, in molte strutture sta aumentando il numero di individui nati in cattività. La maggior parte dei beluga presenti negli acquari è stata addestrata per esibirsi in spettacoli, mentre alcuni individui sono stati inseriti all'interno di programmi militari della marina degli Stati Uniti e dell'Unione Sovietica (O'Corry-Crowe, 2009).

Per quanto riguarda l'Europa occidentale, gli unici esemplari di beluga in cattività si trovano presso l'Oceanografic di Valencia in Spagna.

### **1.3 ETOLOGIA E COMPORTAMENTO ANIMALE**

L'etologia è lo studio biologico del comportamento. Essa non solo si pone domande su come il comportamento sia controllato (*how questions*) ma indaga circa la funzione di un certo tipo di comportamento e come questo si sia evoluto (*why questions*). Questa accezione si rispecchia nelle definizioni di molti Autori che in letteratura evidenziano come l'approccio all'etologia sia basato su uno studio biologico caratterizzato dal metodo scientifico (Tinbergen, 1963) considerando lo studio comportamentale una vera e propria scienza (McFarland, 1976). Ad esempio gli Autori Fisner and Wilson (1975) definiscono l'etologia come lo studio dell'intero pattern del comportamento animale in condizioni naturali in modo da enfatizzare le funzioni e la storia evolutiva di tale pattern, mentre Lorenz (1960) la definisce come l'applicazione del metodo biologico a problemi riguardanti il comportamento.

In base al contributo più recente dato da Mainardi (1997), l'etologia comprende cinque branche fondamentali:

1. Etologia applicata: branca interessata all'utilizzazione pratica degli studi etologici di base.
2. Etologia cognitiva: studia i processi di rappresentazione, acquisizione e uso delle conoscenze negli animali; questi processi non sono osservabili direttamente, ma possono essere dedotti dal comportamento.
3. Etologia di campagna: valuta l'ampiezza del repertorio comportamentale di una specie e analizza il contesto in cui un'attività si è originata e sviluppata, mediante lo studio degli animali nel loro ambiente naturale o, comunque, dove l'animale può muoversi ed interagire liberamente con altri individui.
4. Etologia quantitativa: considera lo studio del comportamento animale attraverso l'applicazione dei metodi d'osservazione e delle tecniche di analisi quantitativa dei dati.
5. Etologia umana: applica i metodi e i concetti dell'etologia animale allo studio del comportamento umano.

I compiti fondamentali che l'etologia svolge sono:

- a) la *descrizione del comportamento*; ovvero definire i processi mediante i quali gli organismi animali rispondono a fattori interni e a stimoli provenienti dall'ambiente fisico e sociale, concretizzati nella forma sia di semplici riflessi, sia di elaborati moduli comportamentali costituiti da un'articolata sequenza di movimenti interdipendenti (Mainardi, 1997);
- b) la *spiegazione del comportamento*, dai punti di vista:
  - funzionale: la conseguenza immediata del comportamento sull'animale, sugli altri animali e sull'ambiente, o il significato adattativo di tale comportamento (Hinde, 1975; Tinbergen, 1963);
  - causale: i meccanismi e i contesti che provocano il comportamento (Tinbergen, 1963);
  - ontogenetico: lo sviluppo del comportamento nell'individuo e i processi che influiscono su esso (Tinbergen, 1963);

- filogenetico: l'evoluzione di tale comportamento nella specie (Tinbergen, 1963).

E' importante rilevare che determinati eventi comportamentali possono appartenere a più di una delle categorie elencate perché assumono significati diversi secondo l'ambito funzionale in cui sono osservati.

### 1.3.1 PERCHÈ STUDIARE IL COMPORTAMENTO ANIMALE

Gli animali usano la propria libertà per muoversi e interagire, sia con l'ambiente sia con altri individui, come uno dei più importanti meccanismi di adattamento alle condizioni in cui vivono.

Questi adattamenti possono essere di vari tipi; come ad esempio la ricerca di cibo, evitare di essere delle prede, trovare un posto adatto dove poter vivere, attrarre un compagno ed occuparsi della prole.

Ciascuna specie ha le proprie necessità, e lo stesso problema è spesso risolto in maniera diversa da specie differenti.

Nonostante si conosca molto riguardo agli adattamenti comportamentali e al modo in cui vengono definiti, bisogna ancora indagare riguardo alle loro diversità e funzioni (Martin and Bateson, 1986).

Drickamer and Vessey (1992) hanno individuato i seguenti motivi per cui studiare il comportamento animale:

- la curiosità riguardante il mondo vivente;
- la conoscenza delle relazioni tra gli animali e il loro ambiente;
- l'istituzione di principi generali, comuni a tutti i comportamenti;
- la migliore comprensione del nostro comportamento;
- il desiderio di preservare e mantenere l'ambiente;
- l'aspirazione alla conservazione e protezione delle specie minacciate.

I principi regolatori nell'evoluzione di un comportamento molto complesso e il ruolo che questo assume nel direzionare l'evoluzione non sono ancora ben conosciuti.

Le spiegazioni di come pattern comportamentali si sono sviluppati e il loro scopo possono essere compresi solo attraverso studi comparativi tra specie differenti e relazionando il comportamento alle condizioni ecologiche e sociali nelle quali gli animali vivono.

A seguito dei passi da gigante che ha compiuto la scienza negli ultimi anni, soprattutto nell'ambito molecolare e cellulare, è possibile nell'ambito dell'etologia portare avanti studi nei quali l'analisi del comportamento di un organismo è integrata con l'analisi dei meccanismi neuronali, fisiologici e molecolari che sono alla base delle sue azioni. In questo modo, la capacità di conoscere il meccanismo può aiutare a capire il comportamento e viceversa (Martin and Bateson, 2007).

### 1.3.2 SVILUPPO DI UNO STUDIO ETOLOGICO

Una ricerca etologica non può prescindere dalla descrizione, misurazione e classificazione del comportamento (Mainardi, 1997).

I punti principali alla base di uno studio etologico sono:

1. Costruire un etogramma specifico per la specie in esame,
2. Formulare le ipotesi di ricerca,
3. Scegliere i soggetti,
4. Formulare gli obiettivi,
5. Determinare un approccio sperimentale e descrittivo,
6. Stabilire le unità comportamentali da campionare,
7. Stabilire il disegno sperimentale,
8. Decidere le procedure per raccogliere i dati,
9. Scegliere i test statistici da applicare nell'analisi dei risultati.

### 1.3.2.1 L'ETOGRAMMA

Per ciascuna specie è possibile definire l'etogramma, un repertorio completo di tutte le singole espressioni comportamentali che l'animale manifesta nel contesto naturale. Questi caratteri comportamentali possono prevedere, così come si osserva per quelli morfologici, la presenza di differenze tra individui all'interno della stessa specie, esprimendo quindi un certo grado di variabilità naturale (Mainardi, 1997).

Bisogna tenere inoltre presente che esistono anche differenze comportamentali a seconda se si osserva una specie in natura o in cattività; in quest'ultimo ambito infatti gli animali possono mostrare sequenze comportamentali incomplete o maggiormente stereotipate (Gaskin, 1982; Mainardi, 1997).

Gli studi effettuati su animali in cattività rispondono alla necessità, osservare un animale non sempre è possibile in ambiente naturale, da vicino e per un periodo di tempo sufficientemente lungo.

Una soluzione in grado di limitare gli svantaggi dell'una e dell'altra modalità di osservazione consiste nel condurre osservazioni parallele sia in natura sia in laboratorio (Beck, 1977; Mann, 2000; Samuels and Gifford, 1997), con gli studi in cattività che complementano e spiegano i dati ottenuti in campo (Hoffman and Ratner, 1973). In tal modo, i due estremi della ricerca etologica (Lehner, 1996) si completano l'un l'altro in un *continuum* ciclico chiamato da Kelly (1967, 1969) "ciclo di ricerca".

Il principale problema da affrontare quando si intraprende uno studio etologico, è riuscire a riconoscere e classificare un comportamento con precisione ed in modo univoco; questa difficoltà è dovuta alla vasta complessità del repertorio comportamentale degli animali, per cui risulta che alcuni comportamenti siano identificati con precisione, mentre altri abbiano un carattere meno unitario ed entrino a far parte di più unità funzionali (Mainardi, 1997; Lehner, 1996).

Durante lo sviluppo dell'etogramma ciascuna unità comportamentale osservata viene classificata in categorie generali; queste devono essere indipendenti le une dalle altre ed includere al proprio interno unità simili con le stesse proprietà in comune.



Per quanto riguarda gli studi comportamentali sui Cetacei, in natura ed in ambiente controllato, emerge dalla letteratura l'utilizzo, nei diversi etogrammi, di alcune categorie principali relative a:

- comportamenti legati al movimento, spostamento e posizione nello spazio;
- comportamenti relativi alla ricerca e cattura delle prede;
- comportamenti di tipo sociale comprendenti quelli legati all'attività riproduttiva, sessuale, aggressiva, riconciliatoria, al rapporto madre-piccolo, ecc.;
- comportamenti di gioco;
- comportamenti "aerei", legati ad attività svolte in prossimità della superficie.

La priorità negli studi comportamentali è quella di definire i comportamenti osservati, e anche le categorie comportamentali, con una descrizione oggettiva, precisa e senza ambiguità nei confronti delle altre unità, in modo da poter essere identificati anche da altri osservatori (Mainardi, 1997).

Negli studi comportamentali è molto importante che i ricercatori usino lo stesso vocabolario comportamentale così da poter confrontare a posteriori i risultati ottenuti da diversi progetti di ricerca (Ostmann and Folkens, 1996; Muller, 1998); questa necessità è dovuta al fatto che i cataloghi comportamentali variano a seconda delle specie, degli individui, del sesso, dell'età e dell'esperienza, implicando a volte l'utilizzo di termini differenti per descrivere il medesimo comportamento.

Un successivo problema da affrontare durante lo studio etologico è determinare l'esatta durata di un comportamento; alcune azioni, infatti, sono molto brevi, mentre altre hanno una durata più lunga e apprezzabile (Mann, 2000).

In base alla loro durata relativa è possibile suddividere i comportamenti in (Altmann 1974):

- ✓ Stati: comportamenti duraturi nel tempo (Lehner, 1996), rappresentati come percentuale del tempo speso nel praticare tale comportamento o come durata (Altmann, 1974).
- ✓ Eventi: manifestazioni istantanee che avvengono così velocemente da poter solo essere contati come comparsa, comportamenti momentanei di breve durata (Sackett,

1978) o manifestazioni comportamentali singole come acrobazie aeree (Mann, 2000). Gli eventi si misurano in termini di frequenza (Altmann, 1974; Lehner, 1996; Mann, 1999).

### 1.3.2.2 PROTOCOLLI E METODI DI CAMPIONAMENTO

Una volta stabilite le ipotesi da testare e sviluppato un etogramma, il ricercatore deve individuare quale metodo di campionamento intraprendere.

Per ogni studio comportamentale, bisogna prendere due decisioni fondamentali: una scelta riguarda quale soggetto/i osservare e per quanto tempo, l'altra concerne i dettagli di come registrare il comportamento (Martin and Bateson, 1986). Janet Mann (1999) discrimina queste decisioni come "*follow protocol*" e "*sampling method*".

Questa distinzione è necessaria in quanto la sorgente di errore differisce sia a seconda del protocollo sia a seconda del metodo di campionamento.

Per esempio in letteratura il termine "*focal-animal sampling*" si riferisce ad osservazioni attraverso il campionamento del comportamento di un individuo per un dato periodo di tempo. In questo caso però ci sono due componenti distinte, il "*follow protocol*" (l'osservazione di un individuo) e il "*sampling method*" (che può essere continuo oppure no). L'affermazione che un metodo è "*focal animal sampling*" non è sufficiente poiché il ricercatore può raccogliere i dati sull'individuo in esame sistematicamente a intervalli regolari oppure opportunisticamente (*ad libitum*) attraverso l'annotazione irregolare di comportamenti di interesse.

Mann evidenzia cinque categorie all'interno del "*follow protocol*":

1. *Survey*: si riferisce all'osservazione di gruppi o singoli individui per un breve periodo di tempo, della durata inferiore a 30 minuti, in cui vengono raccolti dati circa il numero di individui, informazioni per l'identificazione, la localizzazione e parametri comportamentali. Questo protocollo fornisce una "istantanea" della vita di quella specie fornendo dati per modelli di *tracking* associazione e per analizzare fattori demografici, riproduttivi ed etologici.

2. *Group-follow*: riguarda le osservazioni di un gruppo di animali della durata maggiore di 30 minuti. Nonostante l'attenzione dell'osservatore possa essere catturata da comportamenti più particolari e da individui più riconoscibili rispetto ad altri, i vantaggi di questo protocollo sono di poter campionare più soggetti nello stesso momento ed esaminare problematiche riguardanti la scala spaziale e temporale della struttura sociale della specie in esame.
3. *Individual-follow*: in questo caso l'osservatore monitora un singolo individuo indipendentemente se questo si trova all'interno di un gruppo o meno. Questo protocollo permette all'osservatore di focalizzarsi sulla prospettiva individuale dell'animale e comprendere le dinamiche delle relazioni sociali se questo si trova all'interno di un gruppo.
4. *Tracking*: si riferisce agli studi che monitorano elettronicamente la localizzazione e il comportamento degli animali attraverso idrofoni, *transponder tags* ed altri dispositivi. Questo protocollo è particolarmente utile se i ricercatori necessitano di registrare in maniera continua il comportamento di un animale per lunghi periodi.
5. *Anecdote*: si tratta di un protocollo descrittivo nel quale l'osservatore prende nota di un singolo evento o di una serie di eventi.

Dopo aver individuato il protocollo per monitorare una specie, l'osservatore deve decidere quale metodo di campionamento eseguire, Mann (1999) ne identifica nove :

1. *Ad libitum*: l'osservatore annota tutto quello che sembra essere di interesse, non comporta limiti sistematici su cosa viene registrato e quando viene registrato. In generale la prima fase di uno studio comportamentale comporta un campionamento *ad libitum* così da poter delineare e definire i comportamenti e gli interessi della ricerca.
2. *Continuous sampling*: comporta una registrazione sistematica delle frequenze e durate di un set specificato di comportamenti. L'affidabilità di questi dati può essere facilmente compromessa se l'osservatore prova a registrare troppi comportamenti in una volta, specialmente quando gli animali sono molto attivi. Nonostante questo, Altman (1974) raccomanda di utilizzare questo metodo in studi che comportano la presenza di uno o al massimo due animali.

3. *Focal group-sampling*: questo metodo è una valutazione continua dell'attività di un gruppo di individui, l'osservazione può avvenire ad intervalli regolari oppure in maniera continua. L'accuratezza di questo metodo dipende dalla grandezza del gruppo, dalla sua coesività e dalle attività degli animali, queste variabili infatti possono potenzialmente introdurre errori sistematici e casuali nella raccolta dati.
4. *One-zero sampling*: registra se un comportamento è avvenuto oppure no durante un intervallo (ad esempio di 30 secondi), senza interesse nei confronti della sua durata e frequenza.
5. *Point sampling*: comporta la registrazione dell'attività come una "istantanea" in un preciso momento (ad esempio ogni 30 secondi). Questo metodo è molto affidabile ed è ampiamente applicato negli studi etologici, anche se è stato raramente utilizzato per le ricerche sui Cetacei.
6. *Scan sampling*: consiste nel prendere un campione istantaneo del comportamento di un individuo o la sua posizione prima di passare al successivo animale e fare la stessa cosa.
7. *Predominant activity sampling*: questo metodo sviluppato da Hutt and Hutt (1970) si riferisce alla registrazione del comportamento individuale come attività predominante durante un intervallo solo se questo comportamento rappresenta almeno il 50% di quell'intervallo. Questo metodo è utile solo per misurare gli stati comportamentali e non gli eventi.
8. *Incident sampling*: registra tutti gli eventi comportamentali di uno specifico tipo in un gruppo. Questo metodo non è applicabile per la maggior parte degli stati comportamentali e la chiave del suo successo è l'osservabilità degli eventi, i quali devono essere riconoscibili e di impatto per l'osservatore.
9. *Sequence sampling*: l'osservatore focalizza la sua attenzione sulle sequenze comportamentali o su particolari interazioni, piuttosto che sugli individui, e registra sistematicamente tutti i comportamenti rilevanti che occorrono mantenendo il loro ordine sequenziale nella registrazione (Altmann, 1974).

## 1.4 GLI ORMONI

### 1.4.1 CORTISOLO

Il cortisolo è secreto attraverso il sistema endocrino interrenale che nei mammiferi è rappresentato dalla corticale del surrene.

La ghiandola surrenale dei mammiferi marini presenta la stessa struttura generale propria dei mammiferi terrestri in cui si distingue una zona midollare, secernente catecolamine, circondata da una zona corticale impegnata nella produzione di ormoni steroidei.

Nei cetacei si può notare una differenza per quanto riguarda la corticale, i cui lobuli sono più sviluppati in questi ultimi rispetto agli altri mammiferi marini (St. Aubin, 2001).

Il parenchima della corticale è distinto in tre zone, una esterna, la zona glomerulare con cordoni ripiegati in arcate o in pseudoalveoli, una intermedia, la fascicolata, con cordoni paralleli disposti radialmente rispetto alla midollare, e una interna, la reticolare con cordoni variamente orientati.

Nei cetacei il cortisolo è il principale ormone glicocorticoide liberato dalla zona fascicolata della corticale seguito dal corticosterone (Sangalang and Freeman, 1976). Per alcuni Autori il corticosterone rappresenta meno del 10% del cortisolo in circolo (St. Aubin, 2002). Per altri Autori, invece, la concentrazione del corticosterone nel plasma è un quinto della concentrazione di cortisolo (Thomson and Geraci, 1986; Orthiz and Worthy, 2000).

Come tutti i recettori per gli ormoni steroidei, i recettori per i glucorticoidi sono localizzati nel citoplasma delle cellule bersaglio. Avvenuto il legame del recettore con l'ormone, il complesso ormone-recettore subisce una dimerizzazione, entra nel nucleo e si lega a specifici tratti di DNA definiti elementi di risposta ai glucorticoidi (*glucocorticoid responsive element*, GRE) nella regione promotore del DNA. In questo modo l'ormone controlla l'espressione di specifici geni e di conseguenza l'espressione di proteine che produrranno l'effetto biologico.

Nei vertebrati la secrezione di glucocorticoidi da parte della corticale del surrene è regolata da un sistema che agisce attraverso un ampio ciclo a feedback negativo e che coinvolge l'ipotalamo e l'ipofisi anteriore. L'ormone adrenocorticotropo ACTH rilasciato

dall'ipofisi anteriore stimola il rilascio di cortisolo da parte della corticale del surrene. Nei vertebrati superiori, l'ACTH deriva da una molecola di grandi dimensioni, la pro-opiomelanocortina POMC, prodotta nel reticolo endoplasmatico delle cellule dell'ipofisi anteriore, che secernono ACTH. Prima di essere secreto, questo grande precursore viene scisso in ACTH e in altri peptidi biologicamente attivi, vale a dire, l'ormone stimolante i melanociti MSH e una sostanza simile alla morfina, la b-endorfina. Agendo come ormone tropico sulla zona fascicolata e sulla zona reticolare della corticale del surrene, l'ACTH stimola lo sviluppo e l'attività secretrice dei due strati interni della corticale. In assenza di quantità adeguate di ACTH, questi strati si riducono in modo considerevole e la secrezione di glucocorticoidi diminuisce drasticamente. L'attività secretrice delle cellule che rilasciano ACTH, a sua volta, è controllata dall'ormone rilasciante la corticotropina CRH, che viene secreto dall'ipotalamo. Il ciclo di controllo a feedback negativo viene completato dalle azioni inibitorie che i glucocorticoidi esercitano sulla secrezione di CRH e ACTH rispettivamente dall'ipotalamo e dall'ipofisi anteriore (Sherwood *et al.*, 2006). Dal punto di vista fisiologico, il cortisolo viene secreto con un ritmo circadiano al fine di rendere disponibile glucosio a partire da substrati non zuccherini, attraverso la stimolazione della gluconeogenesi. In particolare i suoi livelli circolanti sono più elevati nelle prime ore della giornata, in corrispondenza della ripresa delle attività.

#### 1.4.1.1 RUOLO NELL'ADATTAMENTO A SITUAZIONI DI STRESS

I glucocorticoidi svolgono un ruolo fondamentale nell'adattamento allo stress, in particolar modo a quello di lunga durata. Lo stress è la risposta generalizzata e non specifica a qualsiasi fattore che turba o minaccia di turbare la capacità compensativa di un animale di mantenere l'omeostasi. Gli stimoli stressanti possono essere di natura fisica, chimica, fisiologica, psicologica o emotiva e sociale.

La risposta a un fattore di stress dipende da come il sistema sensoriale di un animale riceve ed interpreta l'informazione circa l'ambiente circostante, la reazione a questa informazione, e al grado di feedback negativo o positivo che occorre durante la risposta (Lovallo, 1997). L'esperienza e l'acclimatazione rendono meno sensibili gli animali a

procedure potenzialmente stressanti; ad esempio, i delfini tursiopi (*Tursiops truncatus*) diventano con il tempo abbastanza tolleranti al trasporto nelle lettighe.

L'introduzione di nuovi stimoli all'interno dell'ambiente di un animale può costituire un fattore di stress per alcuni ma rappresentare un arricchimento ambientale per altri; ad esempio l'introduzione di un nuovo individuo all'interno di una colonia può migliorare il quadro sociale oppure rappresentare un elemento di aggressione che aumenta il livello di stress della colonia.

In un ambiente di cattività, dove è necessario eliminare, o almeno gestire, i potenziali fattori di stress per migliorare il benessere degli animali, è molto importante saper valutare per ogni caso il contesto di ciascuna specie e gli individui coinvolti.

In natura, i mammiferi marini sono soggetti a fattori di stress quali la presenza di predatori, condizioni meteorologiche e oceanografiche difficili, aggressioni intraspecifiche. Anche aspetti delle loro normali attività, come ad esempio immersioni prolungate, sono fattori che possono alterare l'omeostasi e suscitare risposte a condizioni di stress.

Notevoli aumenti della secrezione di cortisolo, indotti dal sistema nervoso centrale, vengono prodotti in risposta a tutti i tipi di situazioni stressanti e svolgono tre principali funzioni:

- alterano il metabolismo dei carboidrati aumentando la circolazione di substrati utili per fornire energia;
- permettono alle catecolamine di agire sui meccanismi metabolici e sulla circolazione sanguigna;
- limitano le reazioni immunologiche, svolgono azione antiinfiammatoria e minimizzano i danni ai tessuti e alle cellule (Munch *et al.*, 1984; Breazile, 1988).

#### 1.4.1.2 LIVELLI BASALI E VARIAZIONI

Una sfida importante per lo studio dello stress nei mammiferi marini, o in qualsiasi specie in natura, è ottenere dei dati di riferimento che rappresentino uno stato di riposo. L'inseguimento, la cattura, la costrizione, e le procedure di campionamento sono riconosciuti come fattori di stress che possono influenzare le analisi, a volte in pochi minuti.

In cattività, i cetacei e i pinnipedi possono essere addestrati per consentire la raccolta dei campioni con il minimo disturbo, ottenendo dati che sono più vicini a una situazione di riposo di quella che ci si può aspettare. Inoltre, le piccole deviazioni che potrebbero essere presenti in tali circostanze servono come controllo per le stesse procedure che sono utilizzate per valutare lo stress in animali in natura o in individui in cattività in cui si sospetta esserci anomalie dovute allo stress (St. Aubin and Dierauf, 2001).

Tuttavia, al fine di misurare correttamente i livelli basali del cortisolo, è molto importante il metodo di monitoraggio; prelievi eseguiti dopo cattura o manipolazioni costrittive possono alterare i valori. Animali catturati con la rete, ad esempio, presentano valori maggiori rispetto a delfini in cattività addestrati al prelievo (St. Aubin *et al.*, 1996).

In letteratura esistono diversi studi riguardanti le concentrazioni di cortisolo in *Delphinapterus leucas*: Schmitt *et al.* (2010) riportano valori basali di  $1,80 \pm 0,71$  g/dL, St. Aubin (2001) indica livelli pari a 0,2 UI/kg, mentre Elsner (2002) registra valori compresi tra 2 e 4  $\mu\text{g/dL}$ .

Come in altri mammiferi, i livelli basali subiscono variazioni sia durante la giornata sia durante l'anno.

Lo studio di Schmitt *et al.*, (2010), eseguito su tre beluga in cattività, ha dimostrato che le concentrazioni nel plasma di ACTH e cortisolo sono significativamente ( $P < 0,01$ ) più alte la mattina presto (2.2  $\mu\text{g/dL}$ ) rispetto la sera (1.8  $\mu\text{g/dL}$ ).

Aumenti del cortisolo possono verificarsi anche dopo sforzi. In seguito ad un'intensa attività fisica, ad esempio, nell'uomo il cortisolo aumenta significativamente in risposta all'improvviso bilancio energetico negativo (Jürimäe *et al.*, 2007).



## 1.4.2 ORMONI SESSUALI

La riproduzione è regolata da specifiche ghiandole endocrine, le gonadi, che vengono distinte in testicoli nel maschio e ovari nella femmina. Le gonadi sono deputate alla produzione degli ormoni sessuali e al loro interno si attua la maturazione dei gameti maschili (spermatozoi) o femminili (ovociti). Le gonadi producono sia ormoni proteici sia ormoni steroidei. Questi ultimi, identificati anche con il termine di ormoni sessuali, sono ormoni liposolubili sintetizzati a partire dal colesterolo, e sono fondamentali per lo sviluppo e per la funzione dell'apparato riproduttivo (Poli and Fabbri, 2012).

Il colesterolo viene prima convertito in progesterone, che è quindi trasformato in androgeni (androstenedione e testosterone). Questi vengono poi convertiti in estrogeni, di cui l'estradiolo-17  $\beta$  è la forma più attiva.

Gli ormoni sessuali steroidei, progesterone e testosterone, si legano a recettori intracellulari e modificano l'espressione dei geni.

Questi ormoni sono essenziali per la comparsa dei caratteri sessuali secondari, cioè quelle caratteristiche morfologiche che differenziano il maschio dalla femmina, e agiscono anche su alcune attività metaboliche dell'organismo. I caratteri sessuali secondari si manifestano in modo completo solo quando le gonadi raggiungono la piena maturità sessuale. Nella maggior parte dei vertebrati, l'attività delle gonadi è controllata dall'adenoipofisi attraverso la liberazione di due gonadotropine (GTH *gonadotropin hormone*), l'ormone follicolo stimolante FSH e l'ormone luteinizzante o LH, a loro volta controllate dai centri ipotalamici e da segnali provenienti da varie aree del cervello.

Una delle più comuni caratteristiche della riproduzione dei vertebrati è la ciclicità, che può essere influenzata da fattori ambientali. Il collegamento endocrino tra cervello e ipotalamo fa sì che le variazioni dell'ambiente (luminosità, temperatura, ecc.) percepite da vari organi di senso, influenzino le gonadi nel periodo più favorevole per la riproduzione e per l'allevamento della prole.

Nei mammiferi il GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) secreto dall'ipotalamo in maniera pulsatile si lega ai recettori ipofisari causando un rilascio altrettanto pulsatile di LH e FSH dall'ipofisi anteriore. Il controllo del rilascio di GnRH è regolato da segnali

nervosi dei centri superiori e anche dagli ormoni gonadici rilasciati nel plasma, attraverso un meccanismo a feedback negativo (Randall *et al.*, 1999).

#### 1.4.2.1 LIVELLI BASALI E VARIAZIONI

In letteratura esistono alcuni studi riguardanti le concentrazioni degli ormoni sessuali in beluga mantenuti in cattività.

Lo studio condotto da Katsumata *et al.* (2010) su due esemplari maschili di beluga riporta valori di testosterone pari rispettivamente a  $0,42 \pm 0,07$  ng/ml e  $0,35 \pm 0,10$  ng/ml durante l'età pre-pubertà e valori rispettivamente di  $1,65 \pm 0,14$  ng/ml e  $2,06 \pm 0,14$  ng/ml una volta raggiunta la maturità sessuale.

Per quanto riguarda il progesterone, lo studio di Katsumata *et al.* (2006) evidenzia un aumento della concentrazione ormonale da 2 a 7 volte ogni anno coincidenti con il ciclo dell'estro, riportando valori che variano da 0,1 a 15,7 ng/ml.

## 2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo generale di questo studio è condurre osservazioni sistematiche non invasive su esemplari di *Delphinapterus leucas* sia da un punto di vista endocrinologico sia etologico con un'ulteriore analisi di tipo fisiologico legata all'attività respiratoria. Una successiva finalità della ricerca è tentare di evidenziare eventuali correlazioni tra questi aspetti.

Nello specifico gli obiettivi sono stati:

1. Costruzione di un catalogo comportamentale specifico per *Delphinapterus leucas* in ambiente controllato mediante l'unificazione della terminologia in uso e la creazione di un database dove ogni categoria viene definita univocamente ed ogni unità comportamentale descritta e illustrata da un filmato.

In letteratura infatti non esiste un vero e proprio etogramma per questa specie e molti Autori identificano lo stesso comportamento con nomi diversi oppure comportamenti diversi con lo stesso nome, creando così confusione e ambiguità per chi intraprende uno studio etologico sul beluga.

Analizzando i diversi comportamenti e selezionando le immagini relative alle definizioni, sarà possibile identificare un comportamento in modo assolutamente univoco, analizzandolo nel dettaglio e magari a velocità ridotta, attraverso la visione della sua sequenza ideale. In questo modo, indipendentemente dalla chiarezza e comprensibilità della descrizione scritta, si potrà riconoscere con immediatezza un comportamento quando lo si osserva (Dudzinsky, 1998; Lehner, 1996; Mainardi, 1997).

2. Studio del comportamento di *Delphinapterus leucas*, in condizioni controllate, in particolare attraverso l'analisi qualitativa e quantitativa di:
  - Display locomotori e posturali;
  - Interazioni sociali, aggressive e sessuali;
  - Produzione e interazione con le bolle;

- Attività di superficie;
- Caratterizzazione di categorie di gioco.

I comportamenti sono stati analizzati in modo da evidenziare eventuali differenze nell'arco della giornata ed anche lungo le dodici settimane di campionamento.

3. Studio dell'attività respiratoria di *Delphinapterus leucas* mediante l'analisi quantitativa di parametri respiratori, quali durata media dell'apnea e limiti minimi e massimi dell'estensione respiratoria. Analogamente al comportamento, l'andamento respiratorio è stato valutato durante la giornata e durante le dodici settimane di campionamento.
4. Verificare l'esistenza nelle dodici settimane di studio di una correlazione del livello degli ormoni (cortisolo, progesterone, testosterone) con il comportamento, approfondito fino all'analisi dei singoli moduli comportamentali e con l'attività respiratoria.

Quest'ultimo obiettivo ha lo scopo di verificare se è presente una correlazione tra gli aspetti endocrinologici ed etologici, approfondendo l'analisi fino ai singoli "display" per i quali sussiste questa correlazione.

## 3. MATERIALI E METODI

### 3.1 CARATTERIZZAZIONE DELL'AMBIENTE DI STUDIO

Il progetto si è svolto presso l'istituto Oceanogràfic di Valencia (Spagna), all'interno della struttura chiamata "Artico" costruita a forma di Igloo, alta 12 metri, divisa in due livelli. Il livello superiore offre una visione dall'alto delle due vasche: la prima, dotata di una spiaggia rocciosa tipica delle regioni artiche, ospita due trichechi (*Odobenus rosmarus*); nella seconda si trovano due esemplari di beluga (*Delphinapterus leucas*) in compagnia di tre foche comuni (*Phoca vitulina*) (Fig. 3.1).

Al livello inferiore si osservano da vicino gli animali attraverso una prospettiva sottomarina grazie alle ampie vetrate che costeggiano tutto il perimetro della stanza di forma circolare (Fig. 3.2).

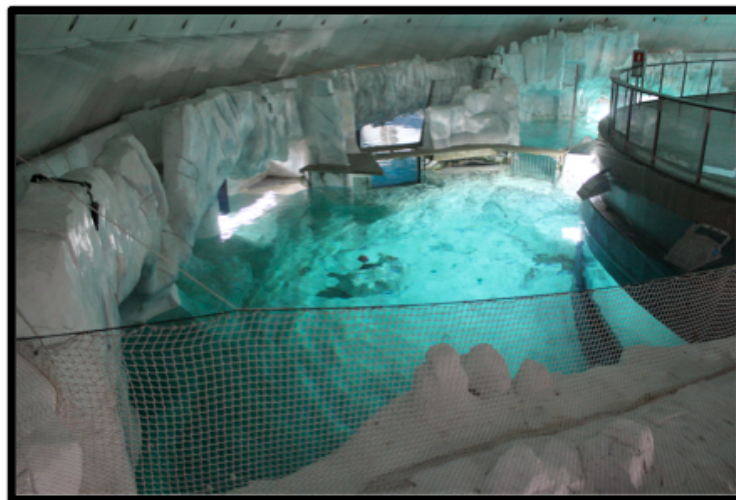


Fig. 3.1 Visuale della vasca dal livello superiore.



Fig. 3.2 Visuale della vasca dal livello inferiore

La vasca dei beluga è stata progettata per ricreare il loro habitat naturale attraverso l'installazione di colonne e pareti che richiamano blocchi di ghiaccio; la vasca è di forma irregolare e presenta diverse profondità che vanno da un metro e mezzo a cinque metri. Il bacino, di volume pari a  $3.582 \text{ m}^3$ , è suddiviso in 4 vasche più piccole collegate da aperture dotate di cancello. Le vasche visibili dalla vetrata acrilica sono la 1 e la 2 mentre la vasche 3 e 4 sono poste nella zona posteriore della struttura, e sono poco visibili al pubblico (Fig. 3.3 a e b).

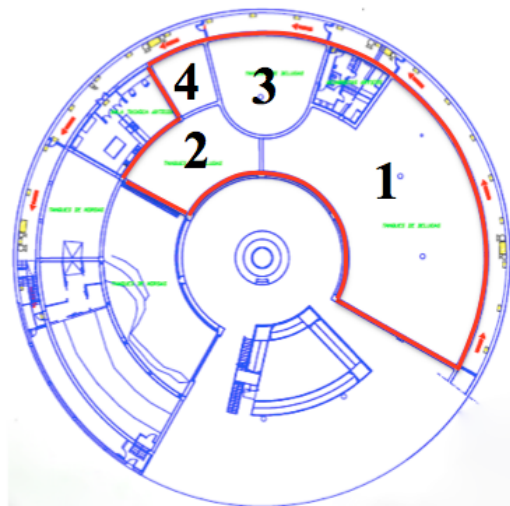


Fig. 3.3 a Evidenziato in rosso la vasca dei beluga e riportata la numerazione delle vasche.

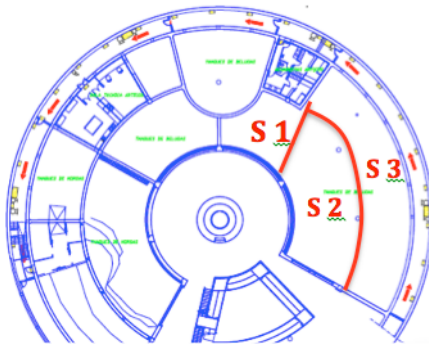


Fig. 3.3 b Settori della vasca 1.

La vasca uno è la vasca principale, dove stazionano i beluga e si affaccia sia sulla vetrata acrilica, da cui è possibile osservare gli animali, sia sulla parte posteriore tecnica dove gli addestratori e i veterinari possono entrare in contatto con gli animali per tutte le procedure di *feeding*, addestramento e monitoraggio medico.

Durante la giornata i cancelli possono essere aperti o chiusi in base alle necessità ma generalmente la mattina, la sera e durante la notte la vasca 1 è separata dalle vasche 2, 3, 4 in modo tale che i due esemplari di beluga siano separati dalle foche. Solo dalla tarda mattinata al tardo pomeriggio tutte le 4 vasche sono in comunicazione e gli esemplari delle due diverse specie possono interagire tra loro.

L'oceanografico si rifornisce d'acqua direttamente dal mare vicino ad una diga a nord di Valencia; successivamente l'acqua viene depurata attraverso filtraggio meccanico realizzato con filtri a sabbia che eliminano solidi in sospensione; a seguire viene effettuato un filtraggio fisico-chimico, ed infine un filtraggio microbiologico e disinfezione mediante l'applicazione di ozono, luce ultravioletta o cloro per eliminare i microorganismi patogeni.

Dopo questo lungo tragitto nei vari sistemi di filtrazione l'acqua viene distribuita nell'installazione e viene applicato un trattamento termico per regolare la temperatura tra 8-15°C.

## 3.2 SOGGETTI DELLO STUDIO

Lo studio è stato condotto su due individui di beluga che in Europa rappresentano gli unici esemplari in cattività di *Delphinapterus leucas*.

Si tratta di Kairo (Fig. 3.4) e Yulka (Fig. 3.5), rispettivamente un maschio adulto di età compresa tra i 25 e i 35 anni e una femmina adulta di 15 anni.



Fig. 3.4 Kairo, l'esemplare maschio.



Fig. 3.5 Yulka, l'esemplare femmina.



I due animali sono stati introdotti presso l'Oceanografico di Valencia all'inizio del mese di luglio nel 2003 dopo essere stati trasferiti dal parco marino argentino Mar del Plata Aquarium (Mar del Plata).

Entrambi gli animali sono stati catturati in natura; il maschio proviene dal mare di Okhotsk (appartenente all'oceano pacifico, racchiuso tra la costa orientale della Siberia, la penisola della Kamčatka con l'arco delle isole Curili e la costa settentrionale dell'isola di Hokkaidō, appartenente al Giappone) ed è stato ospite presso un ente di ricerca e recupero a Mosca in Russia ed in seguito è stato trasferito in Argentina dove vi è rimasto per 5 anni prima di essere trasferito a Valencia. La femmina invece è stata catturata in natura nel mar Bianco (sezione del Mar di Barents) ed è stata subito accolta presso il parco marino argentino dove è venuta in contatto con Kairo e dove è rimasta 4 anni.

### **3.3 COSTRUZIONE CATALOGO COMPORTAMENTALE E ARCHIVIO VIDEO**

Per costruire l'etogramma di *Delphinapterus leucas*, abbiamo utilizzato, come punto di partenza, il catalogo comportamentale dei delfini *Tursiops truncatus* elaborato da Esposti Appiccino e Tizzi (2006) e lo abbiamo integrato, attraverso una minuziosa ricerca bibliografica, con i comportamenti osservati per i beluga in letteratura unificando la terminologia usata dai diversi Autori.

In un secondo momento abbiamo integrato il catalogo comportamentale con due display osservati durante i mesi di campionamento: *tail jerks* e *preferred-trip*, per i quali non abbiamo trovato nessuna corrispondenza bibliografica.

Per completare il catalogo ho realizzato un archivio video in modo tale che ad ogni comportamento corrisponda un filmato della durata massima di 30 secondi che mostri nel dettaglio il display comportamentale.

Per l'elaborazione di questi video ho utilizzato il programma Windows Movie Maker (Windows Vista) e il programma iMovie (Mac OS X).

### 3.4 ANALISI DEL COMPORTAMENTO

Per monitorare il comportamento abbiamo utilizzato la tecnica del “*focal animal sampling*” (Altmann, 1974), definita anche “*long individual-follows protocol*”, per studi specifici sui cetacei (Mann, 1999). Con questa tecnica l’attenzione è focalizzata su un solo animale e permette di rilevare un vasto numero di comportamenti insieme a tutte le interazioni del soggetto con gli altri individui presenti, della stessa specie oppure di specie diversa. L’utilizzo di questa metodologia è ideale nel caso di studi relativi al comportamento spontaneo di un individuo nell’ambito del suo gruppo di appartenenza.

Le registrazioni sono state svolte osservando gli animali attraverso la vetrata acrilica, mediante l’utilizzo di una videocamera, nei momenti in cui non erano in atto addestramenti, feeding, o altre forme di attività diretta con gli animali (Fig. 3.6).



Fig. 3.6 Campionamento dell’attività comportamentale.

Kairo e Yulka sono stati monitorati tre giorni a settimana (lunedì, mercoledì e venerdì) per 12 settimane durante i mesi di giugno, luglio, agosto 2012 per un totale di 108 ore per animale.

Ogni giornata di campionamento è stata divisa in tre fasce orarie di cinque ore come mostrato in tabella 3.1.

FASCIA ORARIA	DURATA
A	6.00 - 10.59
B	11.00 – 15.59
C	16.00 – 21.00

Tab. 3.1 Tabella delle fasce orarie di campionamento

In ciascuna fascia oraria i due beluga sono stati videoregistrati per 1 ora ciascuno.

La decisione di monitorare i soggetti dello studio per tale durata, è stata fondamentale sia per consentire ai beluga di abituarsi alla presenza degli osservatori davanti all'acrilico, che nei primi minuti potrebbero influenzarne il comportamento, sia per la frequenza di alcuni display, altrimenti difficilmente registrabili.

La scelta di questa pianificazione ha permesso, inoltre, di monitorare il comportamento evidenziando eventuali influenze dei ritmi circadiani su determinati moduli.

Al fine di analizzare i dati sul comportamento in modo qualitativo e quantitativo è stato utilizzato il software "Observer 5.0" (Noldus) mediante l'ausilio di un pc con sistema operativo Windows XP.

Questo software, attraverso la configurazione di cataloghi comportamentali specifici per singoli studi, permette di organizzare i dati osservati in accurate sequenze logico-temporali passibili, in un secondo momento, di analisi statistica.

Una volta impostato il programma in base al progetto di ricerca specificando il metodo di campionamento, i soggetti dello studio e le variabili indipendenti (nel nostro caso le settimane e i giorni di campionamento, le fasce orarie, la visibilità e gli osservatori), vengono inseriti tutti i moduli presenti nel catalogo comportamentale creando così il *configuration file*. Per ciascun comportamento possono essere specificati ulteriori dettagli quali, ad esempio, la posizione degli stazionamenti, le parti del corpo interessate durante i

contatti con altri individui o con le pareti della vasca, la velocità del nuoto o l'eventuale compagnia durante alcuni display.

Tutte le ore di videoregistrazione per i singoli soggetti sono state visionate attraverso il software e sono stati prodotti file, denominati ODF (*Observational Data Files*), che rappresentano le sequenze temporalmente ordinate dei comportamenti mostrati dagli animali durante ogni singola sessione di campionamento. Ogni file è stato utilizzato per l'analisi statistica, applicata per fornire indicatori sui valori di frequenza e durata dei singoli comportamenti.

### 3.5 ANALISI DELL'ATTIVITÀ RESPIRATORIA

Per analizzare l'attività respiratoria abbiamo monitorato ciascun individuo per un periodo di 15 minuti al termine di ogni osservazione comportamentale, per tre volte al giorno.

Attraverso l'ausilio di un cronometro Oxilane (Geonaute) abbiamo riportato in apposite schede il numero e la durata delle apnee, cronometrando il tempo esatto che trascorre tra due aperture consecutive dello sfiatatoio.

Le osservazioni sono state fatte osservando gli animali dal livello superiore della struttura così da poter identificare l'animale ed avere una visuale libera dello sfiatatoio; in questo modo abbiamo anche evidenziato le immersioni rispetto al tempo trascorso in superficie tra un respiro e l'altro (Fig. 3.7).

In totale abbiamo effettuato 216 osservazioni (108 osservazioni/animale) corrispondenti a 57 ore di campionamento (27 ore/animale).



Fig. 3.7 Campionamento attività respiratoria.

## 3.6 DOSAGGIO ORMONALE

I campioni di sfiato sono stati raccolti tre volte a settimana in corrispondenza dei giorni di monitoraggio comportamentale e respiratorio. I prelievi sono avvenuti in mattinata prima che avvenisse il *feeding* o qualsiasi altro tipo di attività.

La scelta di prelevare il materiale biologico durante la mattinata è dovuta al fatto che la produzione di cortisolo mostra un ciclo circadiano, nei mammiferi, con elevati livelli durante le prime ore del giorno (St. Aubin, 2001).

In ciascuna di queste occasioni è stato prelevato un campione supplementare di sfiato per poter confrontare i valori.

Una considerazione da tenere presente riguardo a Yulka è che tale esemplare femminile durante il periodo di osservazione è stata inserita all'interno di un programma di inseminazione artificiale. Questo ha comportato l'assunzione da parte dell'animale di un farmaco progestinico dalla terza settimana all'inizio dell'ottava ed in seguito per un periodo di cinque giorni a cavallo tra le settimane 9 e 10.

### 3.6.1 RACCOLTA DEL MATERIALE BIOLOGICO

Il monitoraggio classico di questi ormoni (cortisolo, progesterone e testosterone) avviene attraverso il prelievo ematico, il quale però presenta degli svantaggi. Esso è, infatti, molto invasivo per gli animali e i risultati ottenuti possono essere alterati dallo stress da prelievo, che provoca repentine alterazioni delle concentrazioni ormonali (Buholzer et al., 2007).

In questo studio è stato adottato come metodo di campionamento ormonale il prelievo dello sfiato, che ovviando a questi problemi risulta essere da questo punto di vista un metodo migliore. La procedura prevede, infatti, prelievi veloci e non invasivi, in quanto il campione da acquisire è costituito dal materiale emesso spontaneamente dallo sfiatatoio.

Questa metodologia è stata validata per quanto riguarda il dosaggio ormonale di progesterone e cortisolo da uno studio condotto da Accorsi e Tizzi *et al.* (2010) in *Tursiops truncatus*, mentre per quanto riguarda il dosaggio di testosterone, in letteratura,

l'unico Autore che utilizza questa metodologia è Hogg (2004) che ne sottolinea la non invasività e attendibilità del metodo.

### 3.6.1.1 PRELIEVO DELLO SFIATO

Per prelevare il materiale emesso dallo sfiatatoio abbiamo utilizzato dei barattoli in polipropilene.

L'addestratore richiama l'animale a bordo vasca e attraverso un comando induce l'animale a sfiatare: il secreto è stato raccolto nel barattolo collocandolo sopra l'apertura dello sfiatatoio e la procedura è stata ripetuta 5-6 volte per campionamento (Fig. 3.9 e Fig. 3.10).

I contenitori sono stati chiusi ed identificati con nome del soggetto e data e conservati a -20°C fino al momento delle analisi.



Fig. 3.9 Prelievo del campione biologico dallo sfiatatoio.



Fig. 3.10 Dettaglio del prelievo del materiale biologico dallo sfiatoio.

### 3.6.2 ANALISI IN LABORATORIO DEI CAMPIONI ORMONALI

Al momento delle analisi i campioni di sfiato sono stati trattati secondo le seguenti modalità. I campioni sono stati scongelati e centrifugati a 500 g per 15 minuti a +4°C; il materiale contenuto nel barattolo è stato raccolto tramite una pipetta in una provetta tipo *ependorf* da 1 ml. Successivamente, al fine di "ripulire" il campione dal materiale cellulare in sospensione, ciascuna provetta *ependorf* è stata centrifugata a 1200g per 10 minuti. Sul surnatante è stato effettuato il dosaggio delle concentrazioni di cortisolo. La determinazione del dosaggio di cortisolo nello sfiato e nel sangue è stata effettuata mediante tecniche radioimmunologiche (RIA).

## A) PROGESTERONE

### Estrazione del progesterone:

L'estrazione del progesterone dai campioni biologici è stata eseguita mediante la metodologia descritta da Seren *et al.* (1974): a 100 ml di sfiato/plasma sono stati aggiunti 5 ml di etere di petrolio. I campioni sono stati, in seguito, posti in agitazione su *multivortex* per 30 minuti e successivamente sono stati centrifugati a 2.000g per 4 minuti a 4°C. La parte eterea, separata mediante aspirazione, è stata evaporata 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.

### Dosaggio del progesterone:

Il dosaggio del progesterone sia nello sfiato sia nel plasma è stato effettuato mediante tecniche radioimmunologiche (RIA), adottando la metodica descritta da Seren *et al.* (1974). L'analisi è stata effettuata in duplicato utilizzando 100 ml della soluzione ottenuta dall'estrazione del progesterone dai campioni, 100 ml di anticorpo anti-progesterone alla diluizione di 1:20.000 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  $\beta$ -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 and Degli Esposti, 1981). La specificità dell'anticorpo utilizzato per tale dosaggio è espressa dalle reazioni crociate riportate nella tabella 3.1. 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%. Le concentrazioni di progesterone sono state espresse pg/ml di sfiato.



progesterone	100
11- $\alpha$ -OH-progesterone	83,3
11- $\beta$ -OH-progesterone	15,7
17- $\alpha$ -OH-progesterone	1,7
20- $\alpha$ -OH-progesterone	<0,1
cortisolo	0,05
testosterone	<0,002
17 $\beta$ estradiolo	<0,0001
estrone	<0,0002

Tab. 3.1 Specificità, espressa in percentuale, dell'anticorpo utilizzato per il dosaggio del progesterone nel plasma e nello sfiato.

## B) TESTOSTERONE

### Estrazione del testosterone:

L'estrazione del progesterone dai campioni biologici è stata eseguita mediante la metodologia descritta da Gaiani *et al.* (1984) con la stessa procedura descritta in precedenza.

### Dosaggio del testosterone:

La concentrazione del testosterone è stata valutata secondo la metodica descritta da Gaiani *et al.* (1984). L'analisi è stata effettuata utilizzando un anticorpo antitestosterone alla diluizione di 1:70.000, e <sup>3</sup>H-testosterone (31 pg/tubo) come tracciante radioattivo. La separazione tra l'ormone legato e quello libero è stata ottenuta come descritto in precedenza.

La specificità dell'anticorpo utilizzato è espressa dalle reazioni crociate riportate nella seguente tabella 3.2.

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%.

Testosterone	100
5 $\alpha$ diidrotosterone	30,6
Androstenedione	0,6
Epitestosterone	<0,01
Deidroepiandrosterone	<0,001
Progesterone	<0,001
Pregnenolone	<0,001
Estrone	<0,001
Cortisolo	<0,001

Tab. 3.2 Specificità, espressa in percentuale, dell'anticorpo utilizzato per il dosaggio del testosterone nel plasma e nello sfiato.

### C) CORTISOLO

#### Estrazione del cortisolo:

L'estrazione degli ormoni steroidei è stata effettuata secondo la metodica descritta da Tamanini *et al.* (1983) per il cortisolo. A 100  $\mu$ l di sfiato/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 2.000g per 4 minuti a +4°C. La parte eterea, separata mediante aspirazione, è evaporata 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).

Dosaggio del cortisolo: la determinazione del dosaggio di cortisolo nei campioni di sfiato e plasma è stata effettuata mediante tecniche radioimmunologiche (RIA) adottando la metodica descritta da Tamanini *et al.* (1983). L'analisi è stata effettuata in duplicato: a

100 µl della soluzione ottenuta dall'estrazione degli ormoni steroidei dallo sfiato sono stati aggiunti 100 µl di <sup>3</sup>H-cortisolo (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 4000g per 4 minuti a +4°C. Il surnatante, contenente l'ormone legato all'anticorpo, è stato versato in *vials* da scintillazione ed utilizzato per il conteggio della radioattività eseguita tramite un *β-counter* a scintillazione liquida. La specificità dell'anticorpo utilizzato per tale dosaggio è espressa dalle reazioni crociate riportate nella tabella 3.3. 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%.

Cortisolo	100
corticosterone	9,5
11α-idrossiprogesterone	8,3
Cortisone	5,3
11α-desossicortisolo	5,0
progesterone	0,6
20α-diidro cortisone	0,4
testosterone	0,3
aldosterone	0,1
deidroepiandrosterone	<0,0001
5α-pregnenolone	<0,0001
17β-estradiolo	<0,0001
Colesterolo	<0,0001

Tab. 3.3 Specificità, espressa in percentuale, dell'anticorpo utilizzato per il dosaggio del cortisolo nel plasma e nello sfiato.

## 3.7 ANALISI STATISTICHE

### ANALISI DELLA VARIANZA

I file ODF (*Observational data files*) ottenuti dall'analisi comportamentale e i dati registrati dell'attività respiratoria, sono stati rielaborati attraverso Excel per essere analizzati attraverso il software statistico SPSS (*Statistical Package for Social Science*).

Avendo effettuato misurazioni ripetute sempre sugli stessi soggetti, abbiamo eseguito un'analisi della varianza entro casi, poiché i nostri dati non soddisfano il primo assunto per il calcolo dell'ANOVA: l'indipendenza dei dati osservati.

L'analisi è stata effettuata per verificare la significatività solo per le differenze osservate tra le fasce giornaliere in quanto l'esiguità dei dati non ha permesso di eseguire l'analisi per verificare la significatività delle differenze osservate tra le dodici settimane di campionamento. Per questi dati è stata fornita una analisi descrittiva.

I valori comportamentali di frequenza e durata oraria e i valori respiratori riportati per ciascuna settimana e fascia oraria, sono valori medi.

### CORRELAZIONE

I dati riguardanti l'attività comportamentale e respiratoria, calcolati sulle dodici settimane di campionamento, sono stati messi in relazione con i dati della concentrazione ormonale attraverso la correlazione di Pearson.

Sono stati considerati solo i dati comportamentali e respiratori campionati in fascia A in quanto il prelievo ormonale è stato eseguito solo in questa fascia.

I campioni ormonali i cui valori sono risultati al di sotto del limite di sensibilità del metodo di analisi non sono stati presi in considerazione nell'analisi.

La correlazione fornisce una misura diretta del tipo e del grado di associazione tra due o più variabili, prescindendo dalla dipendenza dell'una dall'altra: date due variabili,  $X_1$  e  $X_2$ , entrambe affette da errore di campionamento, l'analisi consente di conoscere se esse variano in modo associato e di determinarne il grado di variazione congiunta.

## 4. RISULTATI

### 4.1 CATALOGO COMPORTAMENTALE

Il primo obiettivo di questa tesi riguarda la costruzione di un catalogo comportamentale relativo a *Delphinapterus leucas*, in cui sono elencati e descritti con precisione diversi moduli comportamentali esibiti da questa specie. Il catalogo è stato prodotto utilizzando la bibliografia più recente ed evitando l'uso di terminologie equivoche.

La tabella 4.1 rappresenta il catalogo comportamentale creato per questo studio. La prima colonna indica il numero progressivo degli atti comportamentali (BEHAVIOURAL UNIT, indicati in colonna quattro); nel nostro caso si tratta di 68 voci raggruppate in 7 categorie principali in base alla principale finalità funzionale: LOCOMOTORY & POSTURAL BEHAVIOUR (n=28); SOCIAL BEHAVIOUR (n=8); AGGRESSIVE / SUBMISSIVE BEHAVIOUR (n=9); SEXUAL BEHAVIOUR (n=8); AERIAL BEHAVIOUR (n=7); BUBBLE RELATED BEHAVIOUR (n=6); PLAY BEHAVIOUR (n=2). I codici in triplette di lettere, assegnati ad ogni comportamento, sono indicati in colonna due (CODE) mentre in colonna tre è indicato se si tratta di un evento oppure di uno stato (TYPE). La quinta colonna (DEFINITION) riporta fedelmente la descrizione tratta dalla letteratura mentre la sesta (SPECIFIC REFERENCE) indica l'Autore e l'anno di pubblicazione da cui è stata tratta la definizione.

Tab. 4.1 Catalogo comportamentale per *Delphinapterus leucas*

	CODE	TYPE	BEHAVIOURAL UNIT	DEFINITION	SPECIFIC REFERENCE
<b>1. LOCOMOTORY &amp; POSTURAL BEHAVIOUR</b>					
<b>1</b>	SWM	State	<b>Directional swim</b>	One dolphin moves in a dorsal fin up position making forward progress in a single general direction. Direction changes can	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003

				occur, but usually are not erratic or rapid. Body is generally extended along the long axis and swim speed is relatively stable.	
2	BUP	State	<b>Belly up swim</b>	Forward progress with the belly upward.	Müller M. H., Weaver A. & Candelon N., 1998
3	SID	State	<b>Side swim</b>	Forward progress in a 90-degree rotation from the dorsal position, orienting one pectoral fin upward and the other downward.	Müller M. H., Weaver A. & Candelon N., 1998
4	SPT	State	<b>Swim preferred-trip</b>	One dolphin swims following always the same trip.	
5	SRD	State	<b>Swim random</b>	Dolphins showed frequent changes in heading that sometimes appeared as a transition behaviour between other behavioural states.	Constantine R., Brunton H. D. & Dennis T., 2004
6	RST	State	<b>Rest</b>	The dolphins stayed still at the surface for a long time (5s-55min) keeping the blowhole and the tip of dorsal fin at the surface and bending the posterior part of the body down at an angle of about 45°.	Sekiguchi Y., & Kohshima S., 2003
7	VST	State	<b>Vertical stand</b>	Dolphin hangs/suspends itself vertically with its head up or down in mid-water column.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003

8	LIE	State	<b>Lie</b>	Hanging (any position but vertical) in water column or lying flat on the seafloor.	Dudzinski K.M., 1996
9	HDT	State	<b>Head thrust</b>	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 S., Akai C. & Kraus B, 2007
10	SPY	Event	<b>Spy hop</b>	Brief vertical or near-vertical elevation of the body and head-up exposure of the foresection followed by a sinking return to the water.	Müller M. H., Weaver A. & Candelon N., 1998
11	FKO	Event	<b>Fluke out</b>	A dolphin hung vertically in the water, head downward, the tail and the peduncle protruding above the water.	Karczmarski L., Thornton M. & Cockcroft V.G., 1997
12	SIN	State	<b>Sink</b>	Vertical descent through the water column from the surface [...] without making forward progress.	Müller M. H., Weaver A. & Candelon N., 1998
13	EXP	State	<b>Exploratory behaviour</b>	Scanning perpendicular/horizontal relative to bottom.	Herzing D.L., 1995
14	TRU	Event	<b>Tank rub</b>	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	Sylvestre J.P., 1985

				with the wall.	
15	ROL	Event	<b>Roll</b>	The body is rotated through 360° on the longitudinal axis to either side of the dolphin.	Renjun L., Gewalt W., Neurohr B. & Winkler A., 1994
16	STP	Event	<b>Stop</b>	Suddenly stops dead in water after swimming forward.	Ostman J.S.O. & Folkens P.A., 1996
17	VAR	Event	<b>Ventral arch</b>	Dolphin 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 J. A. & Herzing D. L., 2003
18	DAR	Event	<b>Dorsal arch</b>	Head and flukes bent outwards extending the belly region and compressing the back.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
19	SAR	Event	<b>Side arch</b>	The dolphin lifted its head while arching its tail stock and twisting it to one side.	Nelson D.L. & Lien J., 1994
20	FLX	Event	<b>Flexion</b>	The fluke and caudal peduncle 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.	Tavolga M.C. & Essapian F.S., 1957



				Then the animal relaxed and the tail was raised dorsally.	
21	JRK	Event	<b>Jerk</b>	Any slight, rapid jerking of the body.	Nelson D.L. & Lien J., 1994
22	PJR	Event	<b>Pectoral jerk</b>	Rapid, jerky movements back and forth with, generally extended, flippers.	Ostman J.S.O. & Folkens P.A., 1996
23	TJR	Event	<b>Tail jerk</b>	Rapid, jerky movements back and forth with tail.	
24	HJE	Event	<b>Head jerk</b>	A sharp lateral or vertical jerk of the rostrum. Often accompanied by a sharp bang sound.	Connor R. C., 1995
25	NOD	Event	<b>Nodding</b>	Rapid up and down head movements	Connor R. C., 1995
26	DLO	Event	<b>Directed look</b>	An animal swings its head laterally to point the rostrum at the recipient.	Di Paola S., Akai C. & Kraus B, 2007
27	OMT	Event	<b>Open and close mouth</b>	Brief opening and closing of mouth.	Ostman J.S.O. & Folkens P.A., 1996
28	MEX	Event	<b>Melon</b>	The actor, while facing the recipient, markedly changes the shape of its melon, forming it into a ball and pushing it forward.	Di Paola S., Akai C. & Kraus B, 2007

**2. SOCIAL BEHAVIOUR**

29	APP	Event	<b>Approach</b>	A directional swim oriented towards the other dolphin, after swimming alone.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
30	LEA	Event	<b>Leave</b>	A directional swim oriented away from the other dolphin, after unidirectional swim or parallel swimming.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
31	CNT	Event	<b>Contact</b>	Any form of body contact other than pounce, usually not forceful.	Slooten E., 1994
32	RUB	Event	<b>Rubbing</b>	One individual actively rubs a body part on another individual.	Connor R.C., Wells R.S., Mann J. & Read A.J., 2000
33	MOU	State	<b>Mouthing</b>	Activity similar to nuzzling, but took place with the mouth open. At time one animal took a flipper, fluke, head or snout of the partner between the teeth.	Tavolga M.C. & Essapian F.S., 1957
34	NBL	Event	<b>Nibbling</b>	Nibbling at another's body, usually at the flukes.	von Streit C., 1995
35	BTB	State	<b>Belly to belly swim</b>	One dolphin swims parallel to another, belly to belly, with or without contact and simply mirroring the other dolphin's movement.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
36	BGP	State	<b>Beak-genital propulsion</b>	An animal invites a second animal to come up from below it and place the tip of its rostrum in its genital slit. The lower animal often turns partially on its side, sometimes supporting the	Johnson C.M. & Norris K.S., 1994

				horizontal flukes of the upper animal from its head to its outstretched pectoral flippers. In this position, the lower animal, its tail bent down slightly from the horizontal, propels the upper animal forward, only breaking from the pattern to rise for breaths of air. Sometimes it swims belly-up or dorsum-up during such propulsion.	
<b>3. AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR</b>					
<b>37</b>	DOM	Event	<b>Direct open mouth</b>	Opened mouth directed at another; often with abrupt vertical head movement.	Samuels A. & Gifford T., 1997
<b>38</b>	JCL	Event	<b>Jaw clap</b>	Dolphin opens and shuts its jaws rapidly [...] once or consecutive times. A loud clapping sound is made.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
<b>39</b>	CHA	State	<b>Chase</b>	Dolphin is rapidly following a dolphin in flee position, with its head orienting towards the tail of the lead dolphin, and also can involve swimming with dorsal fin down and belly up, i.e. inverted chasing.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
<b>40</b>	PUS	State	<b>Push</b>	Pushing body with its melon, rostrum, pectoral fins and body.	Dudzinski K.M., Sakai M., Masaki K., Kogi K., Hishii T. & Kurimoto M.,

					2003
41	BSL	Event	<b>Body slam</b>	A charging dolphin slams into another with any part of its body other than its rostrum, peduncle and tail, fins and pecs.	Connor R.C., 1990
42	BIT	Event	<b>Bite</b>	One animal draws the open jaws across another animal's body or extremities; often leaving parallel lines.	Pryor K., 1990
43	RHT	Event	<b>Rostrum hit</b>	One dolphins hits another dolphin with its rostrum.	Dudzinski K.M., 1996
44	THT	Event	<b>Tail hit</b>	One dolphin uses its fluke to hit another dolphin's head or body, can be done mid-watwer column or at the water surface.	Miles J. A. & Herzing D. L., 2003
45	FLI	Event	<b>Flinch</b>	An animal rapidly lowers its head and moves its whole body to face away from another (aggressor) animal.	Di Paola S., Akai C. & Kraus B, 2007

#### 4. SEXUAL BEHAVIOUR

46	BPR	Event	<b>Belly presentation</b>	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 E., 1994
47	GIN	Event	<b>Genital inspection</b>	Includes one dolphin inspecting the genital region of a second while producing a burst pulsed sound. No physical contact is	Dudzinski K.M., Thomas J.A. & Douaze E.,

				observed.	2002
48	ERE	Event	<b>Erection</b>	Male showing penis out genital slit.	Slooten E., 1994
49	GRD	Event	<b>Genital rub on dolphins</b>	Genital rubs (on conspecifics).	Herzing D.L. & Johnson C.M., 1997
50	FMO	Event	<b>Fin/Fluke mount</b>	Slowly progressing animals often swam with the tip of the dorsal fin or flukes of one dolphin inserted into the genital slit of its partner.	Saayman G:S., Tayler C.K. & Bower D., 1973
51	PIN	Event	<b>Penis insertion</b>	Penis inserted into blow hole/anus of other (male or female).	Ostman J.S.O. & Folkens P.A., 1996
52	MAA	Event	<b>Mate attempts</b>	When the male clasped the female with his flippers and making pelvic thrusts attempted to intromit his erect penis into the vagina.	Saayman G:S., Tayler C.K. & Bower D., 1973
53	MAT	Event	<b>Mate</b>	Ventral contact between two dolphins, intromission observed.	Slooten E., 1994
<b>5. AERIAL BEHAVIOUR</b>					
54	QLE	Event	<b>Quasi-leaps</b>	The beak was entering the water while the tail had not yet emerged but the middle of the body was clearly above the water's surface.	Hui C.A., 1989
55	VSL	Event	<b>Ventral slap</b>	A dolphin raises itself out of the water to at least the dorsal fin or leaps clear of the water and then	Connor R.C., 1990

				slaps its belly on the water surface. May be light or hard.	
<b>56</b>	SSL	Event	<b>Side slap</b>	The dolphin comes out of the water and returns back to water on its side. Very often, only half or two-thirds of the body length is out of the water; the tail usually remains underwater.	Bel'kovich V.M., Ivanova E.E., Yefremenkova O.V., Kozarovitsky L.B. & Kharitonov S.P., 1991
<b>57</b>	DSL	Event	<b>Dorsal slap</b>	The foresection is elevated above the surface with the ventrum uppermost and dropped backward, landing noisily on the dorsum. Occasionally, the animal will emerge in a dorsal or lateral position and rotate on the long axis before dropping back. The end of the tailstock may be kicked out from under the body before landing.	Müller, M. H., Weaver, A. & Candelon, N., 1998
<b>58</b>	HSL	Event	<b>Head slap</b>	A dolphin, on its side or belly-up, raises its head out of the water and slaps the side of its head or the rostrum on the water surface. May be light or hard.	Connor R.C., 1990
<b>59</b>	PSL	Event	<b>Pectoral fin slap</b>	Slapping the pectoral fin on the water surface.	Mann J. & Smuts B., 1999
<b>60</b>	TSL	Event	<b>Tail slap</b>	Flukes raised above the surface and ventral/dorsal side slapped	Shane S.H., 1990

				downward, usually making a loud, percussive sound.	
<b>6. BUBBLE RELATED BEHAVIOUR</b>					
<b>61</b>	BUB	Event	<b>Bubble</b>	Dolphins [...] expel air from their blowholes, generating large, amorphous bubbles that rise quickly to the surface.	Marten K., Shariff K., Psarakos S. & White D. J., 1996
<b>62</b>	BUR	Event	<b>Bubble ring</b>	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.	Marten K., Shariff K., Psarakos S. & White D. J., 1996
<b>63</b>	BUS	Event	<b>Bubble stream</b>	The animals also produced a column of small air bubbles coming from their blow holes (they were either blown all at once or gradually).	Delfour F. & Aulagnier S., 1997
<b>64</b>	BMO	Event	<b>Bubble mouth</b>	The animal emits air from its mouth to yield necklaces of bubbles, which they would pass through or bite.	Marten K., Shariff K., Psarakos S. & White D. J., 1996
<b>65</b>	BIN	State	<b>Bubble interest</b>	Dolphin shows interest for the air bubbles [...] and/or follows them to the water surface.	Pace D.S., 2000

66	BCN	State	<b>Bubble contact</b>	Dolphin bites/passes through/pushes the bubbles (derived from the ring ropture) of the ring.	Pace D.S., 2000
<b>7. PLAY BEHAVIOUR</b>					
67	PLO	State	<b>Object playing</b>	Transporting an object by using the outside of the beak, the flippers or the melon, passing and slightly touching an object, balancing/dribbling/catching/throwing and catching/pushing or pulling an object with 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 J. & von Fersen L., 1995
68	WAS	State	<b>Water spraying</b>	The subject 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.	Martinez D.R. & Klinghammer E., 1978

Oltre al catalogo comportamentale è stato prodotto un archivio video a supporto della descrizione di ciascun modulo.

Non è stato possibile creare per tutti i display comportamentali il relativo video in quanto i due beluga, soggetti di studio, non hanno esibito tutti i comportamenti del catalogo durante il periodo di osservazione. Oltre a questi 17 moduli mancanti, per altri comportamenti, invece, il materiale video non è stato sufficiente per la produzione del filmato a causa della scarsa visibilità presente all'interno della vasca soprattutto nelle zone più lontane dall'acrilico.



In sintesi, sono stati prodotti 32 filmati, corrispondenti al 47% dei moduli comportamentali totali.

In figura 4.1 è riportato un esempio di come si presenta il modulo comportamentale “open and close mouth” affiancato dal relativo video.


27	OMT	Event	<b>Open and close mouth</b>	Brief opening and closing of mouth.	Ostman J.S.O. & Folkens P.A., 1996	
----	-----	-------	-----------------------------	-------------------------------------	---	---



Fig. 4.1 Esempio di modulo comportamentale (open and close mouth) con relativo video e storyboard del filmato.

## 4.2 ANALISI QUANTITATIVA DEL COMPORTAMENTO

Il secondo obiettivo di questa tesi, rivolto allo studio quantitativo del comportamento dei due esemplari di beluga, mantenuti presso l'Oceanografic di Valencia, ha richiesto un'analisi di tipo statistico di quanto osservato nelle sessioni di campionamento.

Al fine di definire il repertorio comportamentale dei soggetti, sono state considerate oggetto di studio tutte le unità presenti nel catalogo comportamentale ed sono state elaborate delle tabelle, organizzate sul modello esposto nel paragrafo 4.1.

Nel caso l'unità comportamentale fosse un *evento*, è stata analizzata la sua frequenza oraria, se era uno *stato* oltre alla frequenza è stata calcolata la durata oraria in minuti.

I dati così ottenuti per i due soggetti analizzati sono stati messi a confronto e per ognuno è stata quantificata la media giornaliera di ciascuna attività, il suo andamento nelle tre fasce orarie durante le quali è stata suddivisa la giornata (Tab. 4.2) e l'andamento rispetto alle 12 settimane di campionamento (Tab. 4.3 Kairo, Tab. 4.4 Yulka).

Da un punto di vista generale, si può vedere innanzitutto come il numero maggiore di comportamenti esibiti lo manifesti Yulka, l'esemplare femminile che è anche l'individuo più giovane, la quale ha esibito ben 50 dei 68 display comportamentali analizzati (ossia il 73,53%).

Kairo invece, il più anziano e di sesso maschile, ne compie solo 37 su 68 (54,41%).

L'analisi dettagliata dei singoli display è presentata nei successivi paragrafi, dove saranno descritte una per una le 7 categorie principali previste nel catalogo.

Tab. 4.2 Valori medi di frequenza oraria e durata oraria dei vari comportamenti nelle tre fasce giornaliere.

		Unità comportamentale	tipo	KAIRO									YULKA							
				Media giornaliera		Fascia A		Fascia B		Fascia C		Media giornaliera		Fascia A		Fascia B		Fascia C		
				freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	freq/h	dur/h (min)	
LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR	1	Directional swim	State	22,27	8,96	31,49	10,35	12,89	7,01	23,09	9,50	32,44	10,01	34,63	10,51	38,20	11,88	25,33	7,90	
	2	Belly up swim	State	5,46	1,43	6,83	1,64	0,85	0,14	8,67	2,39	13,74	3,25	22,65	5,59	3,88	0,73	13,92	3,24	
	3	Side swim	State	3,55	0,56	5,67	0,99	1,37	0,20	3,80	0,54	10,86	2,24	13,94	2,60	5,88	1,14	12,31	2,86	
	4	Swim preferred-trip	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,79	11,57	5,34	8,03	1,94	8,52	6,75	17,60	
	5	Swim random	State	2,38	0,56	3,24	0,92	1,61	0,26	2,37	0,52	7,60	2,45	5,16	1,43	15,90	5,42	2,67	0,84	
	6	Rest	State	23,88	47,71	23,91	45,50	28,43	51,55	19,87	46,19	17,68	13,67	20,04	11,29	15,65	13,31	17,22	16,24	

Vertical stand	7	Vertical stand	State	0,02	0,00	0,03	0,01	0,00	0,00	0,03	0,00	2,12	0,85	3,90	1,48	1,34	0,33	1,11	0,70	
	8	Lie	State	0,16	0,18	0,12	0,02	0,03	0,01	0,33	0,49	15,75	10,25	18,49	13,31	22,81	13,64	7,00	4,39	
	9	Head thrust	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	10	Spy hop	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,00	-	0,00	-	0,03	-	
	11	Fluke out	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	
	12	Sink	State	0,04	0,01	0,12	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01	0,09	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	
	13	Exploratory behaviour	State	0,32	0,08	0,28	0,05	0,06	0,01	0,61	0,18	0,81	0,24	0,94	0,20	0,29	0,10	1,14	0,39	
	14	Tank rub	Event	3,07	-	0,00	-	0,38	-	8,39	-	48,62	-	59,19	-	29,87	-	55,00	-	
	15	Roll	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,16	-	0,23	-	0,13	-	0,11	-	
	16	Stop	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,00	-	0,03	-	0,00	-	
	17	Ventral arch	Event	0,21	-	0,47	-	0,03	-	0,17	-	0,18	-	0,35	-	0,16	-	0,03	-	
	18	Dorsal arch	Event	0,04	-	0,03	-	0,06	-	0,03	-	0,03	-	0,06	-	0,00	-	0,03	-	
	19	Side arch	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,00	-	0,00	-	0,03	-	
	20	Flexion	Event	0,54	-	0,84	-	0,41	-	0,41	-	0,02	-	0,00	-	0,00	-	0,06	-	
	21	Jerk	Event	1,45	-	1,03	-	1,55	-	1,73	-	1,91	-	2,11	-	1,53	-	2,06	-	
	22	Pectoral jerk	Event	1,15	-	0,34	-	2,81	-	0,33	-	0,03	-	0,03	-	0,03	-	0,03	-	
	23	Tail jerk	Event	4,43	-	2,78	-	7,74	-	2,89	-	0,12	-	0,09	-	0,25	-	0,03	-	
	24	Head jerk	Event	1,13	-	0,87	-	1,64	-	0,91	-	0,09	-	0,03	-	0,19	-	0,06	-	
	25	Nodding	Event	0,73	-	1,43	-	0,06	-	0,77	-	1,67	-	2,82	-	1,18	-	1,03	-	
	26	Directed look	Event	50,54	-	43,18	-	77,99	-	32,06	-	35,43	-	32,98	-	51,08	-	24,08	-	
	27	Open and close mouth	Event	6,02	-	9,35	-	1,29	-	7,38	-	18,54	-	35,04	-	13,96	-	6,92	-	
	28	Melon	Event	2,52	-	6,24	-	0,50	-	1,21	-	12,88	-	23,74	-	9,80	-	5,31	-	
	SOCIAL BEHAVIOUR	29	Approach	Event	4,41	-	8,39	-	2,81	-	2,26	-	4,47	-	0,62	-	13,55	-	0,19	-
		30	Leave	Event	1,15	-	2,37	-	0,32	-	0,83	-	3,46	-	4,28	-	5,06	-	1,28	-
		31	Contact +	Event	0,08	-	0,16	-	0,09	-	0,00	-	0,84	-	0,00	-	2,70	-	0,00	-
		32	Contact -	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	4,71	-	0,12	-	15,08	-	0,00	-
		33	Rubbing +	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
		34	Rubbing -	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
35		Mouthing	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,06	0,56	0,00	0,00	6,65	1,82	0,00	0,00	
36		Nibbling	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	
37		Belly to belly swim	State	0,21	0,05	0,56	0,13	0,00	0,00	0,03	0,01	0,15	0,05	0,44	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	
38		Beak-genital propulsion	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
AGGRESSIVE/ SUBMISSIVE BEHAVIOUR	39	Direct open mouth	Event	0,27	-	0,31	-	0,47	-	0,06	-	0,25	-	0,32	-	0,29	-	0,14	-	
	40	Jaw clap	Event	4,86	-	2,84	-	10,31	-	1,65	-	0,15	-	0,00	-	0,48	-	0,00	-	
	41	Chase	State	0,63	0,23	0,84	0,28	0,82	0,39	0,28	0,05	0,72	0,17	0,00	0,00	2,32	0,54	0,00	0,00	
	42	Push	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
	43	Body slam	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	
	44	Bite	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	
	45	Rostrum hit	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	
	46	Tail hit	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	
	47	Flinch	Event	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	0,00	0,91	0,00	0,57	0,00	0,22	0,00	
SEXUAL BEHAVIOUR	48	Belly presentation	Event	0,91	-	2,62	-	0,03	-	0,25	-	1,27	-	3,29	-	0,19	-	0,31	-	

	49	Genital inspection	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	50	Erection	Event	0,07	-	0,00	-	0,00	-	0,19	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	51	Genital rub on dolphins	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	52	Fin/Fluke mount	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	53	Penis insertion	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	54	Mate attempts	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	55	Mate	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
AERIAL BEHAVIOUR	56	Quasi-leaps	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,04	-	0,00	-	0,13	-	0,00	-
	57	Ventral slap	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	58	Side slap	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,03	-	0,00	-	0,00	-
	59	Dorsal slap	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-
	60	Head slap	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,06	-	0,12	-	0,06	-	0,00	-
	61	Pectoral fin slap	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,00	-	0,03	-	0,00	-
	62	Tail slap	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,01	-	0,00	-	0,03	-	0,00	-
BUBBLE RELATED BEHAVIOUR	63	Bubble	Event	0,26	-	0,28	-	0,18	-	0,33	-	1,58	-	1,20	-	2,74	-	0,92	-
	64	Bubble ring	Event	0,43	-	0,25	-	0,03	-	0,99	-	0,71	-	1,38	-	0,29	-	0,44	-
	65	Bubble stream	Event	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	0,20	-	0,44	-	0,16	-	0,00	-
	66	Bubble mouth	Event	0,79	-	0,94	-	0,15	-	1,27	-	1,57	-	3,32	-	0,25	-	1,06	-
	67	Bubble interest	State	0,04	0,01	0,03	0,00	0,00	0,00	0,08	0,02	0,12	0,01	0,32	0,03	0,00	0,00	0,03	0,00
	68	Bubble contact	State	0,32	0,05	0,47	0,05	0,06	0,00	0,44	0,09	0,92	0,14	2,35	0,35	0,06	0,01	0,31	0,05
PLAY BEHAVIOUR	69	Object playing	State	0,16	0,10	0,12	0,03	0,23	0,24	0,14	0,03	10,22	4,12	12,59	5,01	2,96	1,24	14,33	5,80
	70	Water spraying	State	0,22	0,00	0,00	0,00	0,64	0,00	0,03	0,00	0,46	0,00	0,35	0,00	0,67	0,00	0,39	0,00

Tab. 4.3 Valori medi di frequenza oraria e durata oraria dei vari comportamenti di Kairo nelle dodici settimane di campionamento.

			KAIRO																								
			frequenza/h												durata/h												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
LOCOMOTORY & POSTURAL BEHAVIOUR	1	Directional swim	State	35,33	21,50	37,98	24,55	55,69	6,17	26,09	6,52	18,32	15,13	15,68	11,09	10,43	16,91	8,64	12,92	11,73	4,52	7,03	5,61	6,03	10,97	3,91	9,16
	2	Belly up swim	State	8,68	4,18	9,06	6,85	16,93	1,32	4,87	0,25	4,50	2,14	6,23	2,33	1,96	1,67	1,68	2,77	2,77	1,01	1,07	0,14	0,97	1,09	1,15	1,13
	3	Side swim	State	9,53	2,79	7,17	1,87	11,78	0,11	3,99	0,00	1,65	0,50	3,67	1,00	1,07	0,86	0,95	0,53	1,41	0,08	0,64	0,00	0,29	0,15	0,47	0,43
	4	Swim preferred-trip	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	Swim random	State	0,61	1,99	6,16	4,49	9,20	0,44	2,62	0,25	2,08	0,76	0,78	0,33	0,07	0,81	0,97	1,71	1,27	0,19	0,38	0,11	0,84	0,22	0,09	0,15
	6	Rest	State	33,49	16,92	42,64	21,18	47,10	8,81	24,34	7,38	29,40	12,48	33,36	11,31	46,14	39,05	47,41	40,54	42,39	54,14	49,01	53,85	48,70	47,28	54,10	49,09
	7	Vertical stand	State	0,00	0,00	0,00	0,00	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

8	Lie	State	0,1 2	0,1 0	0,0 0	0,3 7	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	1,3 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	1,9 5	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0
9	Head thrust	State	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0
10	Spy hop	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	Fluke out	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	Sink	State	0,0 0	0,1 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,1 1	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 1	0,0 0	0,0 2	0,0 0	0,0 3	0,0 0	0,0 1	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 1
13	Exploratory behaviour	State	0,3 7	0,7 0	0,6 3	0,5 0	0,3 7	0,2 2	0,1 2	0,0 0	0,8 8	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 4	0,1 6	0,0 9	0,0 8	0,0 5	0,0 5	0,1 0	0,0 0	0,4 5	0,0 0	0,0 0	0,0 0
14	Tank rub	Event	0,1 2	0,4 0	3,1 4	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,7 4	30, 83	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	Roll	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	Stop	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	Ventral arch	Event	0,4 9	0,7 0	0,2 5	0,2 5	0,2 5	0,0 0	0,5 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	Dorsal arch	Event	0,2 4	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 3	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	Side arch	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	Flexion	Event	0,6 1	2,0 9	0,6 3	2,2 4	0,3 7	0,0 0	0,1 2	0,1 2	0,1 1	0,0 0	0,1 1	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	Jerk	Event	0,6 1	0,0 0	0,3 8	1,0 0	1,7 2	2,0 9	5,2 4	1,3 5	1,8 7	0,3 8	1,5 6	1,4 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	Pectoral jerk	Event	0,4 9	1,4 9	1,0 1	3,6 1	0,6 1	1,9 8	0,5 0	0,1 2	0,7 7	0,5 0	0,5 6	1,5 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23	Tail jerk	Event	2,3 2	3,3 8	3,7 7	5,3 6	4,6 6	3,4 1	7,7 4	3,9 4	5,6 0	2,6 5	5,4 5	3,7 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	Head jerk	Event	0,6 1	0,2 0	0,2 5	3,1 2	1,4 7	0,3 3	2,8 7	0,4 9	1,4 3	0,5 0	1,7 8	0,7 8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	Nodding	Event	0,4 9	0,8 0	0,0 0	5,4 8	0,0 0	0,8 8	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,1 3	0,0 0	1,1 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26	Directed look	Event	22, 98	77, 04	34, 21	87, 11	33, 49	58, 25	31, 21	40, 47	34, 56	48, 65	49, 94	72, 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27	Open and close mouth	Event	8,8 0	6,1 7	3,7 7	13, 21	6,2 6	7,1 6	8,7 4	0,1 2	2,1 9	3,2 8	10, 45	3,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Melon	Event	2,0 8	1,0 9	0,6 3	4,3 6	2,0 9	1,3 2	1,3 7	0,0 0	0,6 6	1,7 6	11, 46	3,3 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	Approach	Event	0,0 0	6,7 7	4,1 5	12, 09	7,2 4	4,6 3	2,6 2	1,7 2	1,9 7	5,5 5	2,3 4	3,3 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Leave	Event	0,0 0	1,0 0	0,5 0	2,7 4	1,5 9	0,5 5	3,2 5	0,3 7	0,6 6	1,7 6	0,5 6	1,2 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	Contact +	Event	0,0 0	0,4 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,3 7	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32	Contact -	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33	Rubbing +	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	Rubbing -	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35	Mouthing	State	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0
36	Nibbling	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	Belly to belly swim	State	0,0 0	1,0 0	0,0 0	0,3 7	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,5 0	0,4 4	0,1 1	0,0 0	0,3 0	0,0 0	0,0 4	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 8	0,0 2
38	Beak-genital propulsion	State	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
39	Direct open mouth	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,5 0	0,1 2	0,3 3	1,6 2	0,3 7	0,2 2	0,0 0	0,1 1	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	Jaw clap	Event	1,1 0	3,3 8	3,5 2	2,2 4	0,1 2	2,5 3	6,7 4	2,7 1	11, 52	6,5 5	14, 01	2,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	Chase	State	0,0 0	0,1 0	1,0 1	0,0 0	1,5 9	0,0 0	2,7 5	0,6 2	1,5 4	0,1 3	0,1 1	0,0 0	0,0 0	0,8 0	0,1 8	0,0 0	0,2 0	0,0 0	1,3 5	0,2 9	0,6 2	0,1 0	0,0 7	0,0 0	
42	Push	State	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	Body slam	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	Bite	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	Rostrum hit	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	Tail hit	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
47	Flinch	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48	Belly presentation	Event	0,2 4	2,3 9	0,5 0	1,9 9	1,4 7	0,3 3	0,0 0	0,0 0	0,0 0	1,6 4	1,0 0	1,2 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Genital inspection	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-





51-55	51	Genital rub on dolphins	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	52	Fin/Fluke mount	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	53	Penis insertion	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0
	54	Mate attempts	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	55	Mate	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56-62	56	Quasi-leaps	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,4 9	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	57	Ventral slap	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	58	Side slap	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	59	Dorsal slap	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	60	Head slap	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,2 4	0,0 0	0,0 0	0,5 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	61	Pectoral fin slap	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	62	Tail slap	Event	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	63	Bubble	Event	1,5 8	1,8 1	0,9 0	1,3 1	1,5 9	0,8 7	3,3 2	1,1 2	2,8 1	0,9 9	1,7 7	0,9 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
64-68	64	Bubble ring	Event	0,1 4	0,3 4	0,3 4	0,1 1	1,2 2	0,2 2	0,0 0	0,1 2	3,5 1	0,1 2	1,3 3	0,9 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	65	Bubble stream	Event	0,0 0	0,1 1	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	1,1 7	0,0 0	0,8 8	0,1 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	66	Bubble mouth	Event	0,0 0	0,1 1	0,2 2	0,8 7	0,6 1	0,7 6	0,0 0	1,2 5	4,9 1	0,8 7	4,4 2	4,3 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	67	Bubble interest	State	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,4 4	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,2 5	0,7 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	
	68	Bubble contact	State	0,0 0	0,0 0	0,1 1	0,4 4	0,1 2	0,4 4	0,0 0	0,2 5	3,2 7	0,5 0	3,9 8	1,5 3	0,0 0	0,0 0	0,0 1	0,1 5	0,0 1	0,0 7	0,0 0	0,4 5	0,3 4	0,0 8	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,0 0
69-70	69	Object playing	State	31, 11	9,6 3	8,3 1	15, 92	15, 31	3,4 9	17, 21	2,8 7	4,7 9	5,2 2	9,3 9	3,4 1	12, 54	5,1 1	2,9 5	6,0 1	4,5 8	2,0 1	7,2 5	1,4 5	1,3 1	2,7 3	3,3 2	1,8 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	70	Water spraying	State	0,2 9	0,0 0	0,0 0	0,0 0	0,1 2	0,0 0	2,4 6	0,8 7	1,2 9	0,0 0	0,1 1	0,5 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	



## 4.2.1 LOCOMOTY AND POSTURAL BEHAVIOUR

La tabella 4.2 mostra come Yulka abbia manifestato 26 comportamenti attinenti la locomozione o la postura dell'animale in acqua, mentre Kairo solo 21.

Yulka esibisce questa tipologia di comportamenti con una frequenza oraria che diminuisce nell'arco della giornata con valori che passano da 283 atti per ora al mattino a 192 atti locomotori per ora alla sera, presentando una differenza significativa tra la fascia A e la fascia B ( $p=0,001$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia A e la fascia C ( $p=0$ ,  $n=30$ ). Per quanto riguarda la durata oraria non si osservano differenze significative tra le fasce con valori medi intorno a 55 min/h.

Kairo invece è costante all'interno della giornata nel manifestare questi comportamenti sia per quanto riguarda la frequenza (circa 140 atti /h) sia per la durata oraria (circa 59 min/h); non sono presenti infatti differenze significative tra le tre fasce giornaliere.

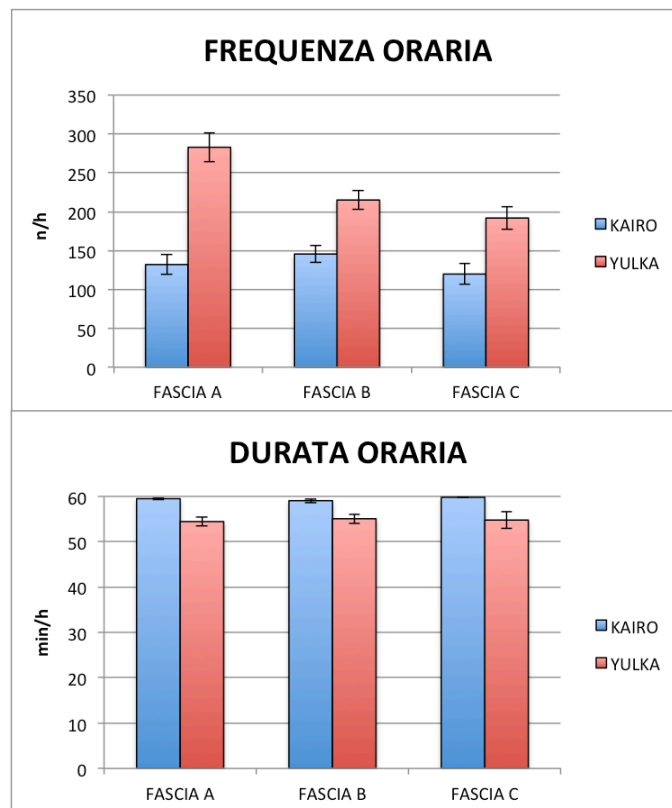


Fig. 4.2 Valori di frequenza e durata oraria di LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda invece l'andamento settimanale non si riscontrano differenze statisticamente significative nella durata dei comportamenti ma si può notare, per entrambi gli animali, un andamento simile della frequenza oraria con un picco nella settimana 5 (Yulka 315 atti per ora e Kairo 192 atti per ora) e un livello minimo in settimana 8 (118 e 61 atti per ora circa per femmina e maschio rispettivamente) (Fig. 4.3).

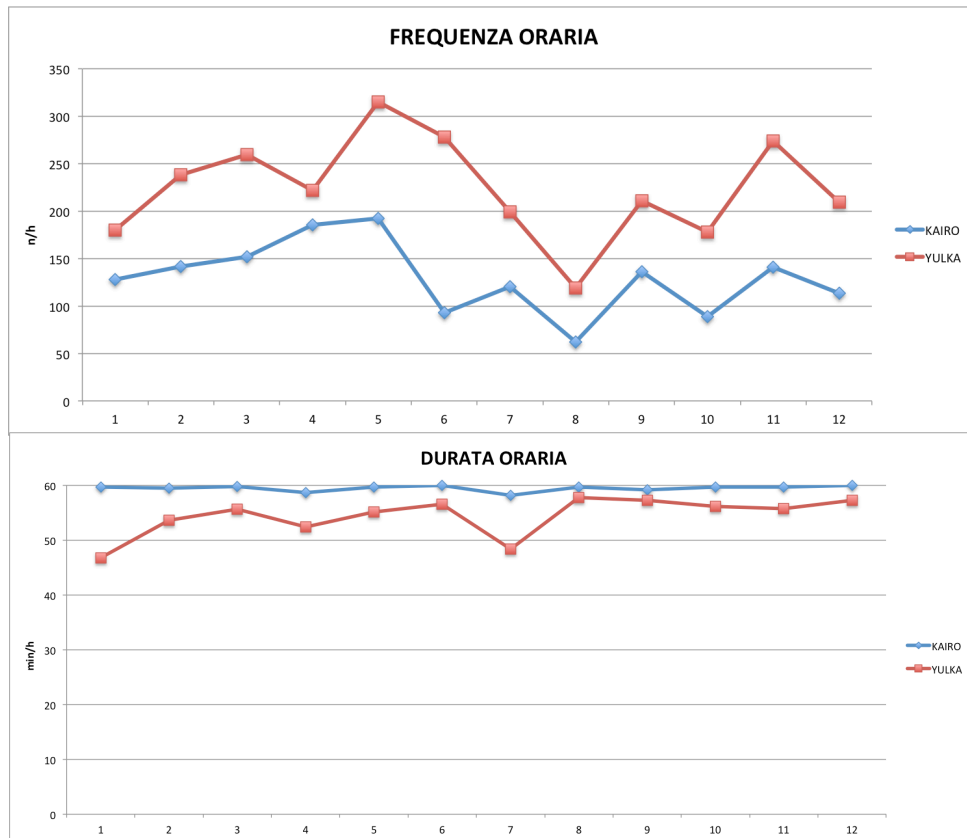


Fig. 4.3 Valori di frequenza e durata oraria di LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.

#### 4.2.1.1 STAZIONAMENTO

All'interno della categoria comportamentale LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR, abbiamo analizzato in dettaglio una sottocategoria, lo stazionamento, composta da tre moduli comportamentali: *lie*, *rest* e *vertical stand*.

Il primo presume che l'animale si trovi in posizione orizzontale e possa rimanere fermo al centro della colonna d'acqua o sul fondo; anche il secondo prevede una posizione orizzontale, ma è vincolato al fatto che l'animale rimanga in superficie; il terzo invece descrive l'animale in posizione verticale con la testa verso la superficie, oppure con la testa verso il basso.

Per Kairo i valori più alti a livello di frequenza (circa 28 atti/h) e durata oraria (circa 52min/h) sono stati registrati in fascia B; in particolare si osserva una differenza significativa tra la fascia B e la fascia C ( $p=0,025$ ,  $n=30$ ) a livello di frequenza (Fig. 4.4) e differenze significative per quanto riguarda la durata tra la fascia B e le fasce A e C ( $p=0,000$ ,  $n=30$ ;  $p=0,001$ ,  $n=30$ ) (Fig. 4.5).

Yulka, invece, staziona con una frequenza oraria che diminuisce nell'arco della giornata (Fig 4.4), prese intando una differenza significativa tra la fascia A e la fascia C ( $p\leq 0,001$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia B e la fascia C ( $p\leq 0,001$ ,  $n=30$ ); mentre per quanto riguarda la durata oraria si osservano differenze significative solo tra la fascia B e la fascia C ( $p=0,009$ ,  $n=30$ ) (Fig. 4.5).

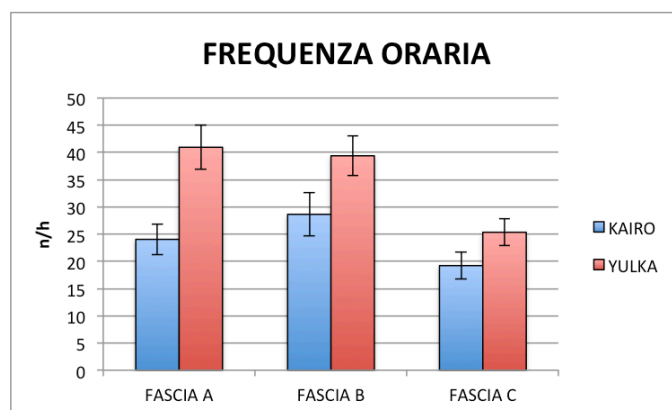


Fig. 4.4 Valori di frequenza oraria di STAZIONAMENTO nell'arco della giornata.

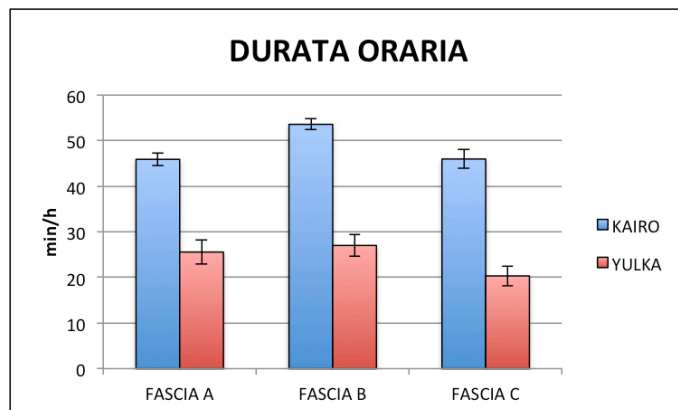


Fig. 4.5 Valori di durata oraria di STAZIONAMENTO nell'arco della giornata.

La figura 4.6 mostra la frequenza oraria dell'andamento settimanale degli stazionamenti: Kairo esibisce questi comportamenti più frequentemente in settimana 5 (circa 47 atti per ora) mentre Yulka in settimana 7 (circa 65 atti per ora). Per entrambi i beluga, l'andamento settimanale della frequenza oraria non è continuo ma presenta innalzamenti e diminuzioni di settimana in settimana. Tuttavia Yulka pare diminuire i suoi stazionamenti fino a raggiungere valori simili a quelli del maschio sul finire del periodo di studio.

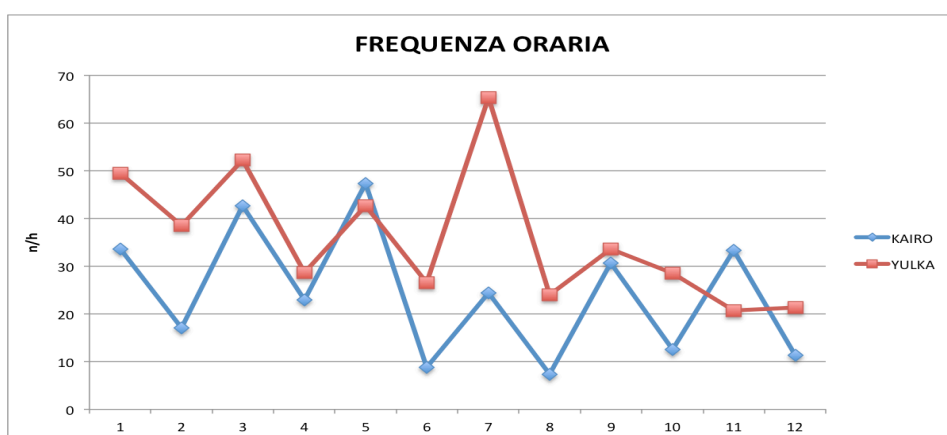


Fig. 4.6 Valori di frequenza oraria degli STAZIONAMENTI durante le dodici settimane di campionamento.

Per quanto riguarda invece la durata oraria degli stazionamenti, Kairo mostra una certa costanza nelle dodici settimane con valori che oscillano tra 49 min/h e 53 min/h mentre Yulka esibisce questi comportamenti con durata oraia maggiore in settimana otto (38 min/h circa) e durata minore in settimana undici (12 min/h) (Fig. 4.7).

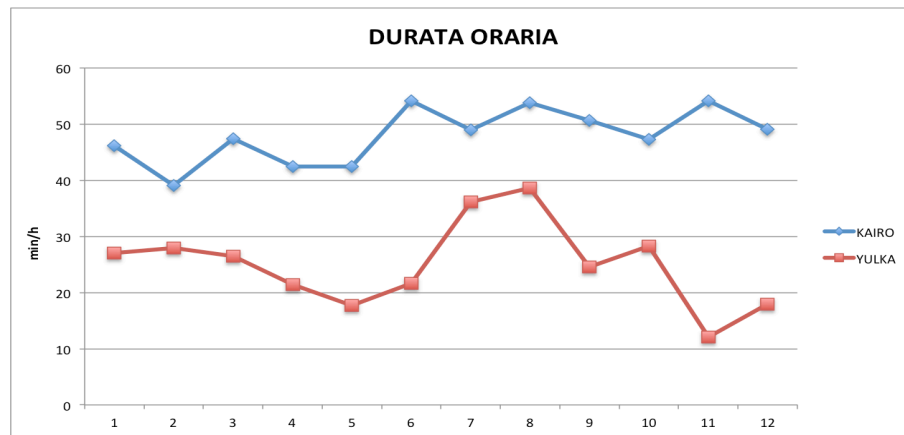


Fig. 4.7 Valori di durata oraria degli STAZIONAMENTI durante le dodici settimane di campionamento.

#### 4.2.1.2 SWIM PREFERRED-TRIP

Un comportamento che abbiamo inserito all'interno del catalogo comportamentale, e per il quale non abbiamo trovato riferimenti in bibliografia, è *swim preferred-trip*. Questo modulo, inserito all'interno della categoria dei LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR, è stato manifestato unicamente dall'individuo femminile. Yulka ha mostrato un comportamento ripetitivo, consistente in un nuoto mono-direzionale eseguito sempre su uno stesso percorso mostrato in rosso in figura 4.8. La frequenza di questo nuoto nella giornata varia da un minimo di 2 a un massimo di circa 6/7 volte in un'ora.

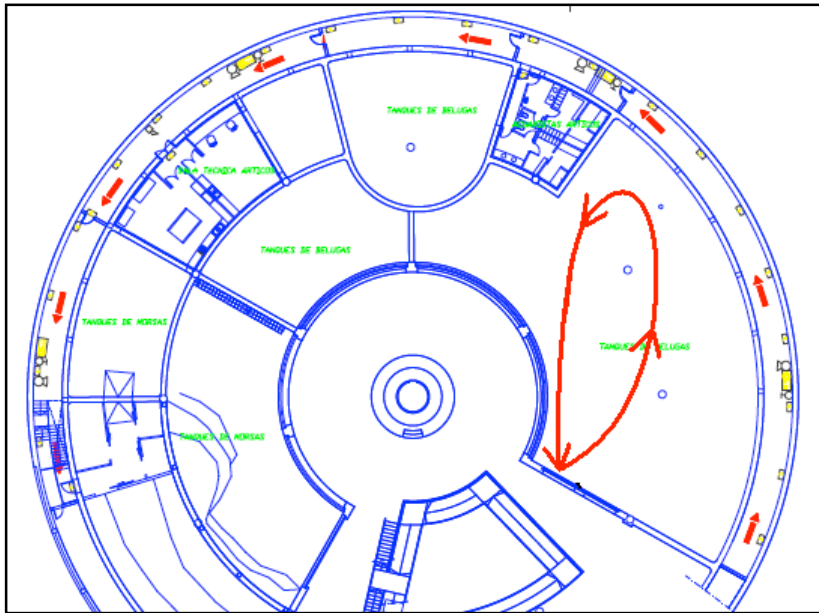


Fig. 4.8 Percorso del nuoto PREFERRED-TRIP

La figura 4.9 mostra come Yulka manifesti con minore frequenza questo comportamento in fascia B rispetto alle altre fasce ( $p=0,006$ ,  $n=30$ ;  $p=0$ ,  $n=30$ ) mentre non si osserva differenza significativa tra la fascia del mattino e quella della sera ( $p=0,344$ ,  $n=30$ ).

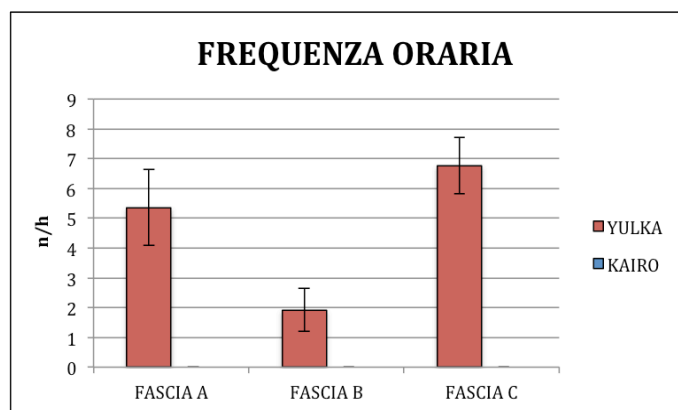


Fig. 4.9 Valori di frequenza oraria di SWIM PREFERRED-TRIP nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda invece la durata oraria, questa è simile nelle prime due fasce della giornata, circa 8-9 min/h ( $p=0,883$ ,  $n=30$ ), mentre è maggiore verso l'orario serale circa (18 min/h). Le differenze sono significative tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,003$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia B e la fascia C ( $p=0,020$ ,  $n=30$ ) (Fig. 4.10).

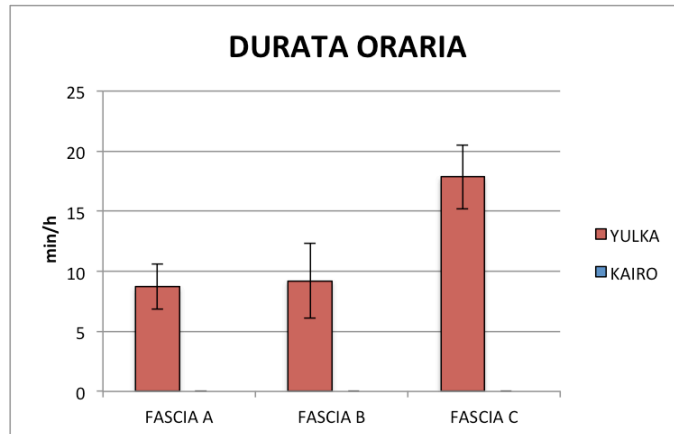


Fig. 4.10 Valori di durata oraria di SWIM PREFERRED-TRIP nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda l'andamento settimanale, Yulka esibisce con frequenza maggiore questo comportamento durante le settimane 3, 8 e 9, con valori che oscillano tra 7 e 9 atti per ora, mentre esibisce questo comportamento raramente in settimana 1, 10 e 11 (circa 1 volta per ora) (Fig. 4.11).

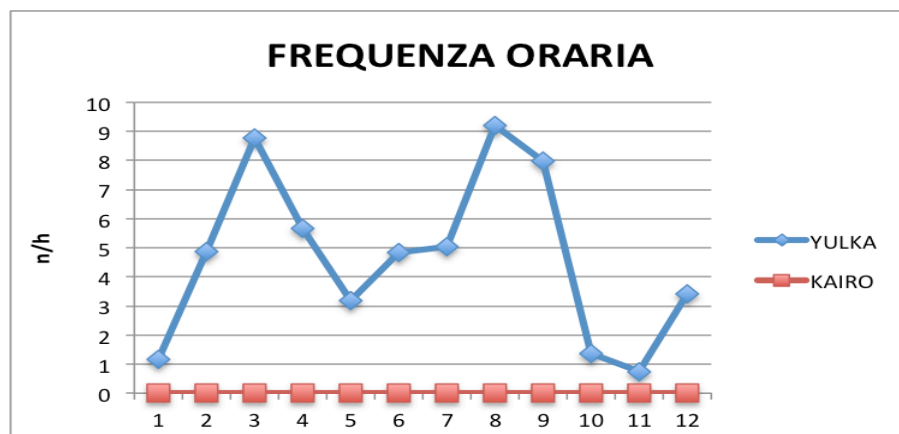


Fig. 4.11 Valori di frequenza oraria di SWIM PREFERRED-TRIP durante le dodici settimane di campionamento.

Anche per quanto riguarda la durata oraria di questo comportamento non si osserva un andamento costante. Yulka manifesta lo SWIM PREFERRED-TRIP con durata maggiore in settimana 3 (circa 25 min/h) e con durata minore in settimana 10 e 11 (circa 2 min/h), corrispondenti ai valori minimi registrati di frequenza oraria (Fig. 4.12).

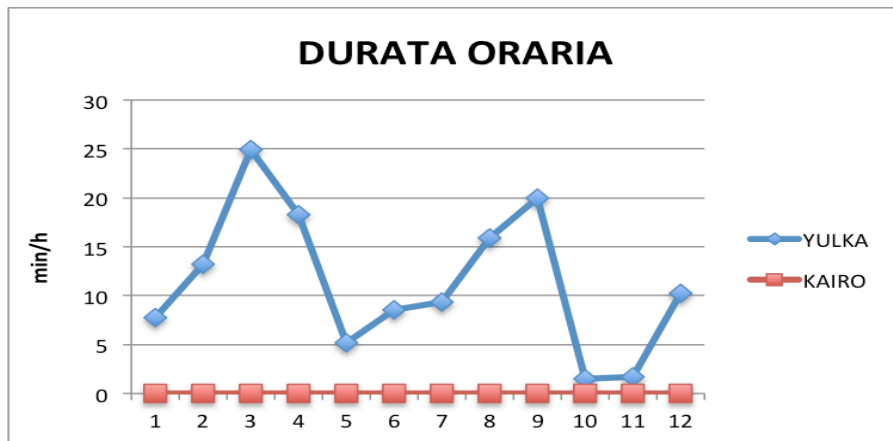


Fig. 4.12 Valori di durata oraria di SWIM PREFERRED-TRIP durante le dodici settimane di campionamento.

#### 4.2.2 SOCIAL BEHAVIOUR

All'interno di questa categoria, Kairo ha esibito 4 comportamenti (*approach, leave, contact e belly to belly swim*) mentre Yulka ne ha mostrati 5 (*approach, leave, contact, belly to belly swim e mouthing*).

Kairo esibisce con maggiore frequenza questi comportamenti nelle prime ore della giornata (circa 11 atti per ora), infatti, si osservano differenze significative tra la fascia A e la fascia B ( $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia A e la fascia C ( $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ). Per quanto riguarda la durata oraria con cui Kairo manifesta questi comportamenti, questa rimane costante all'interno della giornata con valori inferiori al minuto (Fig. 4.13).



Yulka, invece, mostra differenze significative tra tutte e tre le fasce per quanto riguarda la frequenza e la durata oraria con cui manifesta comportamenti all'interno della giornata (Fig. 4.13). Il valore di frequenza oraria maggiore si osserva in fascia B, circa 28 volte all'ora, contro i 5 e 2 atti per ora delle fasce A e C rispettivamente ( $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ;  $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ).

Si osserva differenza significativa anche tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,010$ ,  $n=30$ ), a ribadire il calo dell'esibizione di questi comportamenti dalla mattina alla sera.

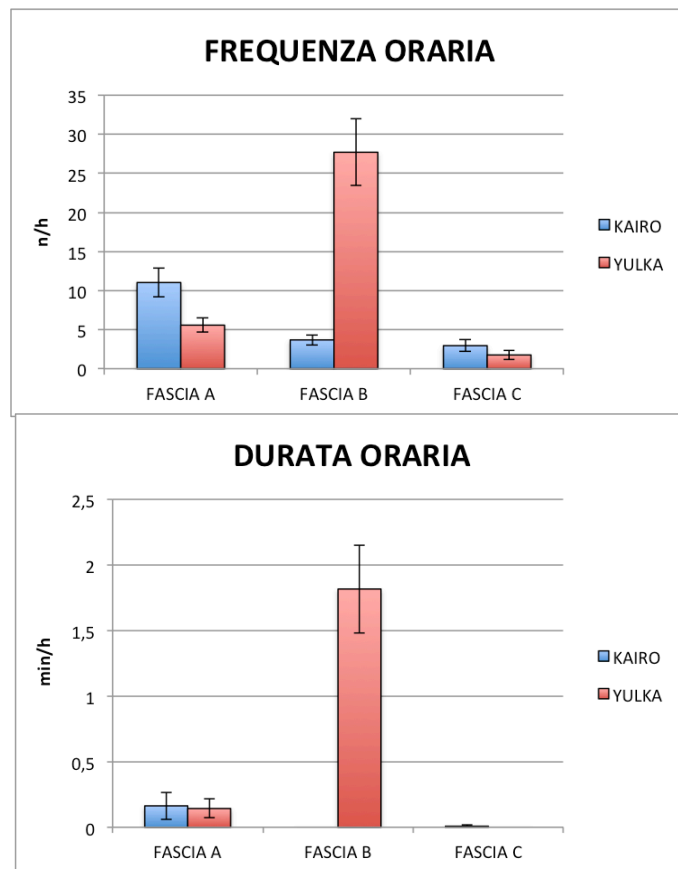


Fig. 4.13 Valori di frequenza e durata oraria di SOCIAL BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda l'andamento settimanale dei comportamenti di questa categoria si osserva lo stesso tipo di andamento per entrambi gli animali nel periodo compreso tra la settimana 1 e la settimana 5, caratterizzato da continui innalzamenti e diminuzioni (Fig. 4.14). Yulka esibisce questi comportamenti con maggiore frequenza nelle settimane 4 e 6 (32 e 34 atti per ora rispettivamente) mentre Kairo principalmente in settimana 4 (circa 15 atti per ora). Per entrambi gli animali i valori minimi di frequenza oraria sono stati osservati in settimana 1 e 8 (4-6 e 0-2 atti per ora circa per femmina e maschio rispettivamente). Per quanto riguarda la durata oraria Kairo è estremamente costante lungo le dodici settimane mentre Yulka un po' più variabile, pur mostrando valori che variano solo da 0,1 a un massimo di 1,2 min per ora. (Fig. 4.14).

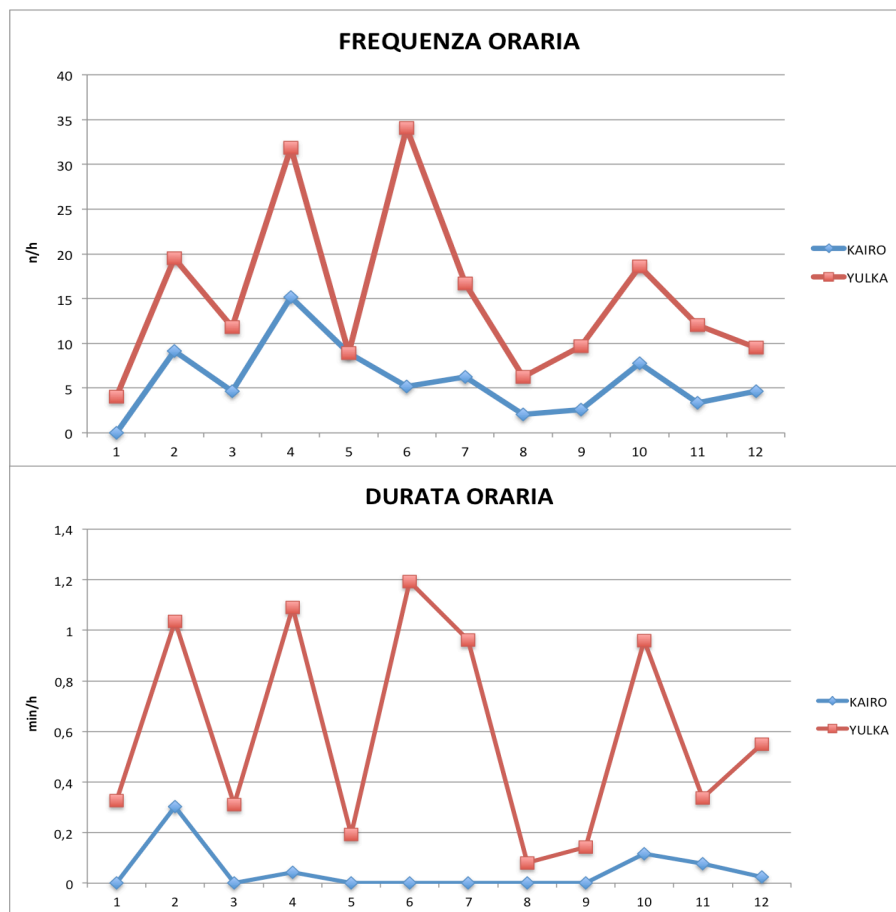


Fig. 4.14 Valori di frequenza durata oraria di SOCIAL BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.

### 4.2.3 AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR

La figura 4.15 riporta i valori di frequenza oraria dei comportamenti di questa categoria manifestati da Kairo e Yulka nelle fasce in cui è stata suddivisa la giornata.

Kairo esibisce con maggiore frequenza questi comportamenti a metà giornata circa 13 atti per ora e si osservano differenze significative tra la fascia B e la fascia A ( $p=0,001$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia B e la fascia C ( $p=0,025$ ,  $n=30$ ).

Anche Yulka manifesta maggiormente questa categoria comportamentale in fascia B (circa 3 atti per ora) ( $p=0,007$ ,  $p=0,000$ ,  $n=30$ ) ma si riscontra anche una differenza significativa tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,004$ ,  $n=30$ ).

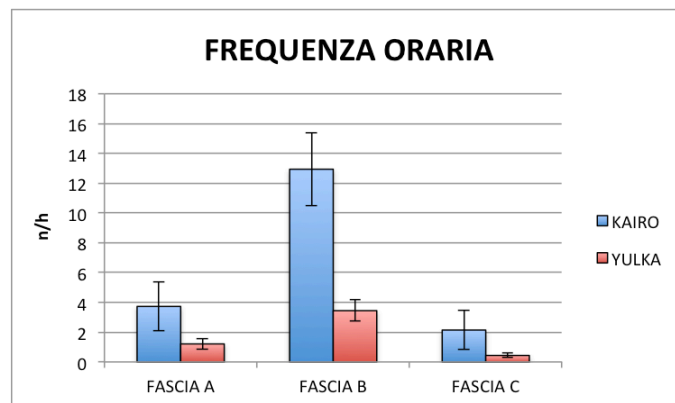


Fig. 4.15 Valori di frequenza oraria di AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

All'interno di questa categoria sono presenti due gruppi di comportamenti: 8 moduli aggressivi (*direct open mouth, jaw clap, chase, push, body slam, bite, rostrum hit, tail hit*) e un solo modulo di tipo sottomessivo (*flinch*).

In figura 4.16 è rappresentata la distribuzione in percentuale di queste due sottocategorie all'interno di ciascuna fascia giornaliera.

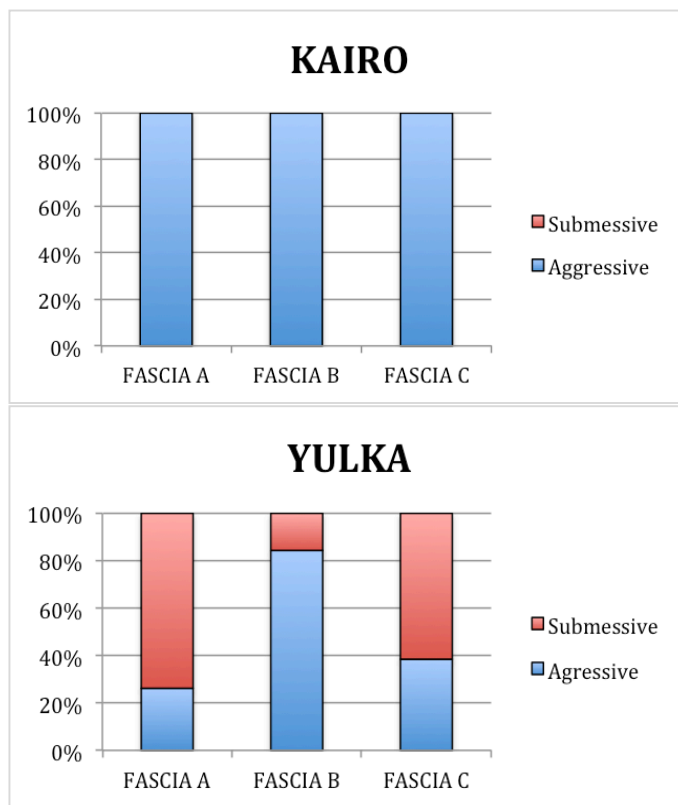


Fig 4.16 Distribuzione in percentuale dei comportamenti aggressivi e sottomessivi all'interno di ciascuna fascia giornaliera.

Come si osserva in figura 4.16 Kairo ha mostrato unicamente comportamenti aggressivi mentre Yulka ha mostrato entrambe le sottocategorie di comportamenti.

Yulka esibisce con percentuale maggiore comportamenti di sottomissione in fascia A e in fascia C, mentre in fascia B manifesta maggiormente comportamenti aggressivi.

I display appartenenti alla categoria AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR sono tutti eventi ad eccezione di un unico stato (*chase*) appartenente alla sottocategoria dei comportamenti aggressivi.

In figura 4.17 sono riportati i valori di durata oraria all'interno delle fasce in cui è stata suddivisa la giornata. Yulka manifesta questo comportamento unicamente in fascia B (circa 30 secondi per ora) mentre per Kairo non si osservano differenze significative tra le tre fasce, con valori che non superano i 30 secondi per ora.

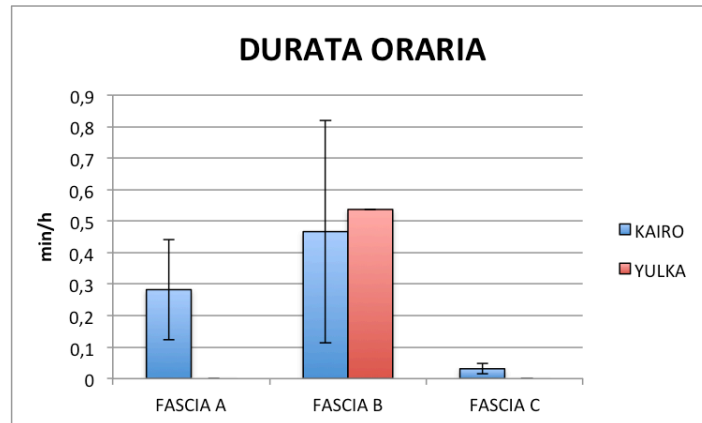


Fig. 4.17 Valori di durata oraria di AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR (*chase*) nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda la frequenza oraria di questi comportamenti si osserva una somiglianza tra i beluga nel periodo compreso tra la sesta e l'ottava settimana, con valori rispettivamente di 2,80 , 11,11 e 3,69 atti per ora per Kairo e 1,09 , 4,06 e 0,75 atti per ora per Yulka.

Per Yulka le settimane in cui comportamenti di aggressività e sottomissione sono stati effettuati con maggior frequenza sono la 4, la 7 e la 12 (circa 3/4 atti per ora); mentre per Kairo durante le settimane 7, 9 e 11 (rispettivamente 11, 13 e 14 atti per ora circa).

Per quanto riguarda la durata, Yulka mostra un andamento costante durante le dodici settimane, con valori che oscillano da 0 a 0,3 min per ora (circa 18 secondi), mentre Kairo esibisce questi comportamenti con una durata maggiore in settimana 7 e 9, con valori rispettivamente di 1,3 e 0,6 minuti per ora (Fig. 4.18).

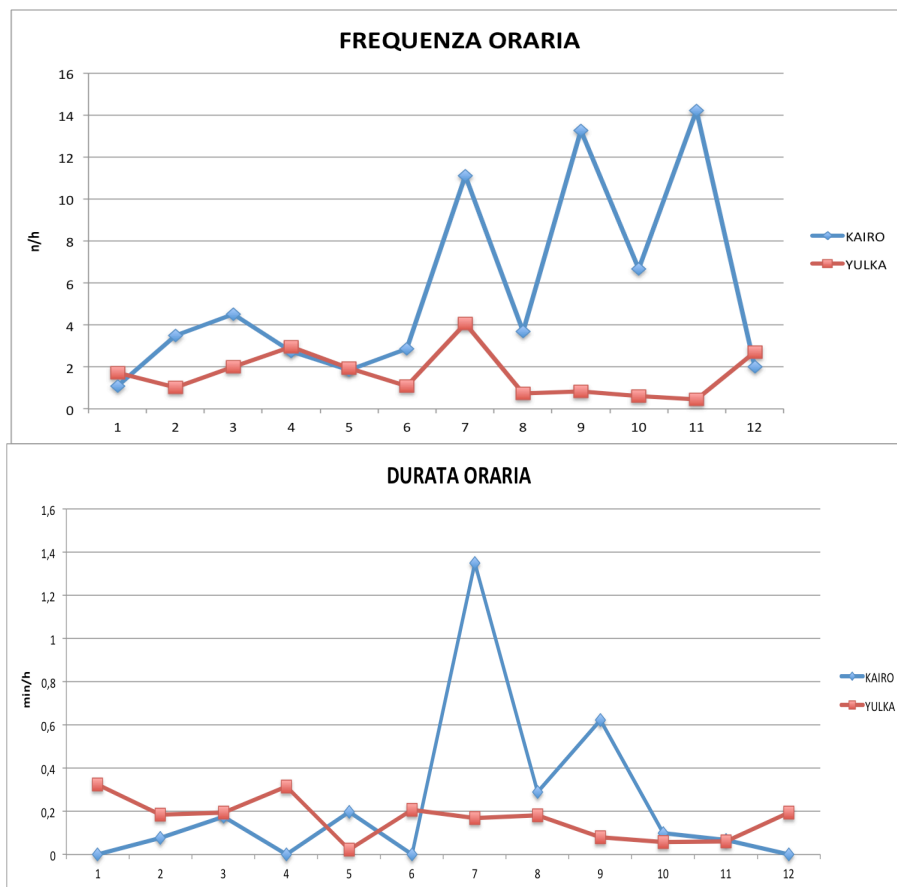


Fig. 4.18 Valori di frequenza e durata oraria di AGGRESSIVE/SUBMISSIVE BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.

#### 4.2.4 SEXUAL BEHAVIOUR

All'interno di questa categoria Kairo ha esibito 2 comportamenti, *belly presentation* e *erection* con valori nelle tre fasce orarie rispettivamente di 2,5 , 0,03 e 0 atti per ora, mentre Yulka solo 1, *belly presentaion* con valori nelle tre fasce orarie rispettivamente di 3,34 , 0,20 e 0,33 atti per ora.

L'andamento circadiano (Fig. 4.19) mostra un'analogia tra i due beluga, che presentano lo stesso andamento giornaliero con predominanza di comportamenti sessuali esibiti nella prima fascia della giornata.

Essendo questi moduli tutti degli eventi ne è stata calcolata solo la frequenza oraria.

Per Yulka si osservano differenze significative tra la fascia A e la fascia B ( $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia A e la fascia C ( $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ).

Per Kairo si osservano differenze significative tra la fascia A e la fascia B ( $p \leq 0,001$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,002$ ,  $n=30$ ).

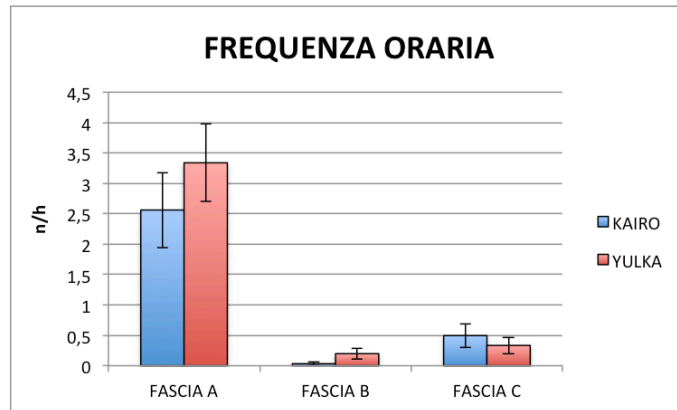


Fig. 4.19 Valori di frequenza oraria di SEXUAL BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda la frequenza oraria di questi comportamenti durante le dodici settimane si osserva una generale somiglianza tra i beluga con un primo mese caratterizzato da frequenze più elevate, un rapido decremento verso le settimane 7 e 8 e un certo rialzo sul finire del periodo soprattutto per Kairo (Fig. 4.20).

Kairo ha esibito il comportamento *erection* nelle settimane 2, 4, 7, 10, 11.

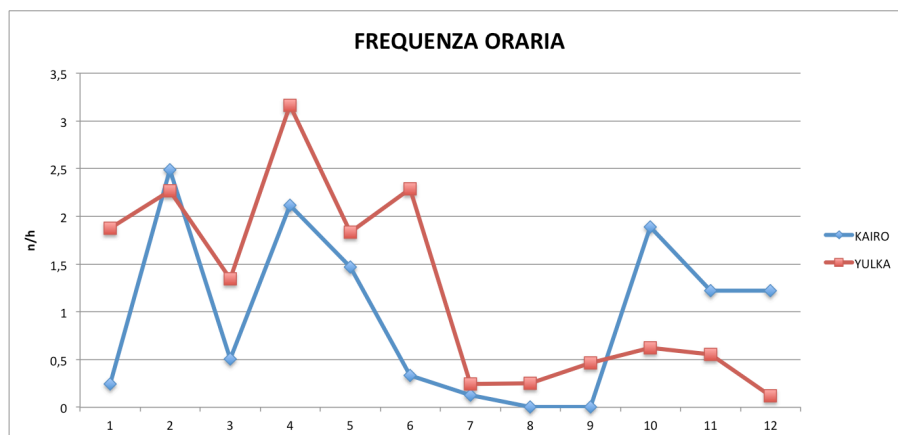


Fig. 4.20 Valori di frequenza oraria di SEXUAL BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.

#### 4.2.5 AERIAL BEHAVIOUR

Questa categoria di comportamenti è stata registrata solo in Yulka, in quanto l'individuo maschile non ha mai mostrato questo tipo di comportamenti durante tutto il periodo di osservazione.

La frequenza oraria di questa tipologia di comportamenti è risultata essere maggiore a metà giornata rispetto alla mattina ma la differenza non è risultata essere significativa ( $p=0,723$ ,  $n=30$ ) dato che i valori di frequenza oraria variano di poco nei due andamenti (0,17 e 0,26 atti per ora in fascia A e B rispettivamente). Yulka non ha mai esibito questi comportamenti nella fascia serale (Fig. 4.21). Inoltre Yulka ha esibito attività di superficie solo nella quinta e ottava settimana (Fig. 4.22).

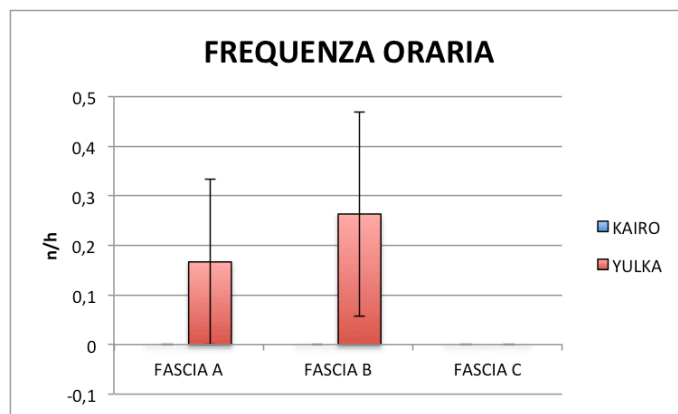


Fig. 4.21 Valori di frequenza oraria di AERIAL BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

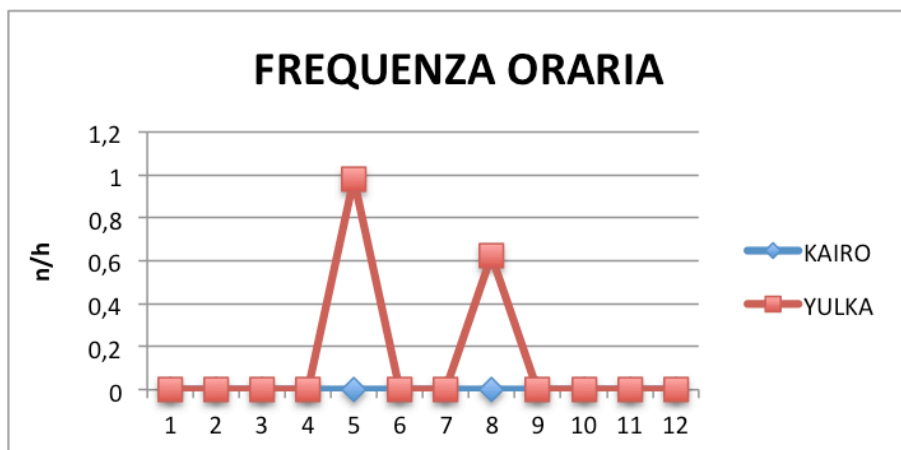


Fig. 4.22 Valori di frequenza oraria di AERIAL BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.



## 4.2.6 BUBBLE RELATED BEHAVIOUR

All'interno di questa categoria si possono distinguere tre sottocategorie: *bubble production*, *bubble interest* e *bubble contact*.

*Bubble production* comprende i comportamenti relativi alla produzione di bolle: *bubble*, *bubble ring*, *bubble stream*, *bubble mouth*; *bubble interest* si riferisce all'interesse mostrato dall'animale verso una bolla appena prodotta e *bubble contact* è relativo ad un contatto con le bolle.

La figura 4.23 mostra i valori medi della frequenza oraria con cui Kairo e Yulka manifestano comportamenti relativi a BUBBLE BEHAVIOUR.

Yulka esibisce maggiormente questi comportamenti al mattino (circa 10 atti per ora) con un calo verso la sera (circa 3 atti per ora). Si osserva differenza significativa tra la fascia A e la fascia B ( $p=0,040$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,023$ ,  $n=30$ ).

Kairo non mostra differenze significative tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,764$ ) ma esibisce questi comportamenti con minore frequenza verso metà giornata (0,46 atti per ora), mostrando differenze significative tra la fascia A e la fascia B ( $p=0,015$ ,  $n=30$ ) e tra la fascia B e la fascia C ( $p=0,027$ ,  $n=30$ ).

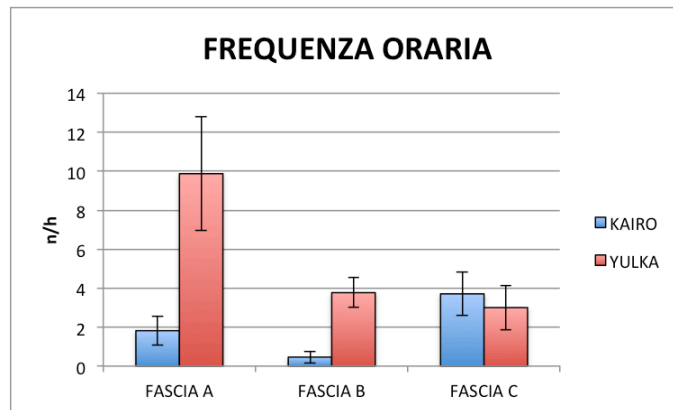


Fig. 4.23 Valori di frequenza di BUBBLE RELATED BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

In figura 4.24 è rappresentata la distribuzione in percentuale delle tre sottocategorie di questo comportamento all'interno di ogni fascia. In entrambi gli animali si osserva che la sottocategoria *bubble production* è quella in percentuale più esibita all'interno del BUBBLE BEHAVIOUR (valori sempre superiori al 70%).

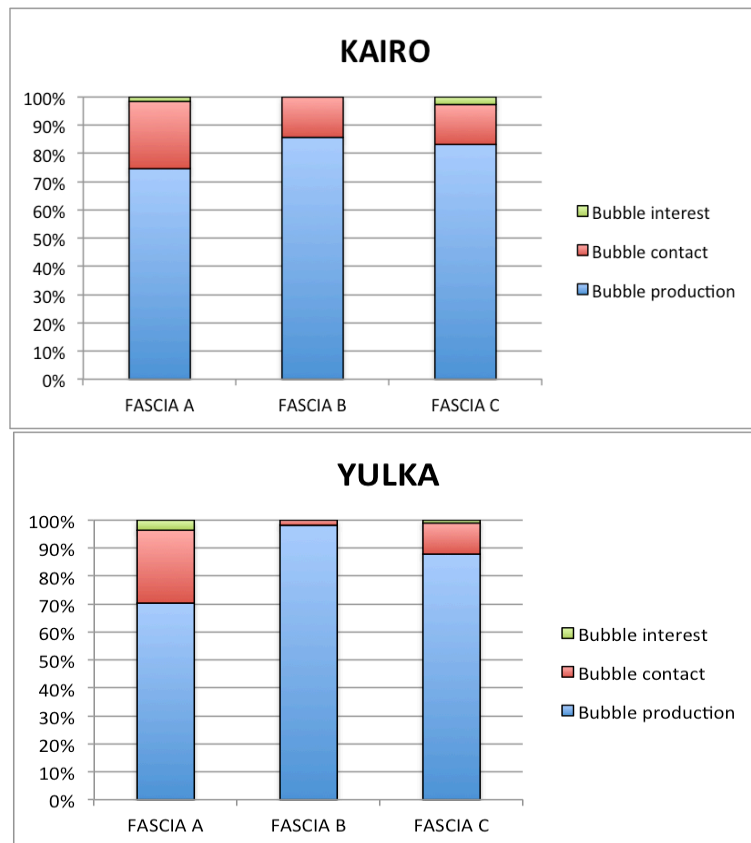


Fig. 4.24 Distribuzione in percentuale di *bubble production*, *bubble interest* e *bubble contact* all'interno di ogni fascia giornaliera.

In figura 4.25 è analizzata in dettaglio la distribuzione in percentuale dei singoli comportamenti appartenenti alla sottocategoria *bubble production*, all'interno di ciascuna fascia giornaliera.

Kairo, che non ha mai esibito *bubble stream*, in fascia A e in fascia C esibisce con maggior percentuale il comportamento *bubble mouth*, mentre in fascia B manifesta con maggior percentuale il comportamento *bubble*.

Yulka invece ha prodotto tutti e 4 i diversi tipi di bolle e come Kairo esibisce con maggior percentuale *bubble mouth* in fascia A e C mentre manifesta con maggior percentuale *bubble* in fascia B.

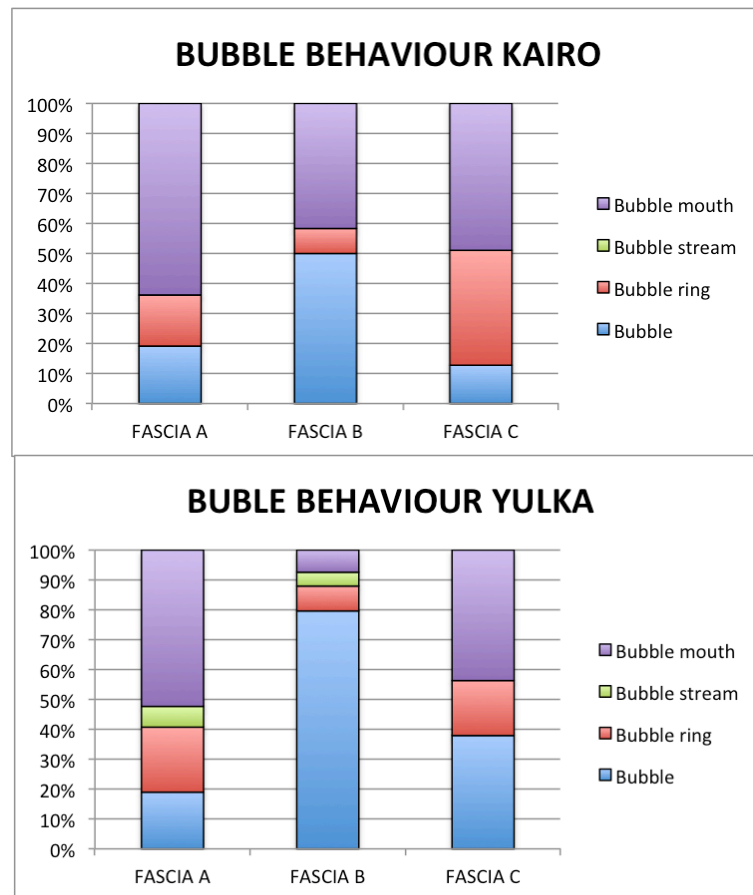


Fig. 4.25 Distribuzione in percentuale di *bubble*, *bubble ring*, *bubble stream* e *bubble mouth* in ciascuna fascia giornaliera.

Per quanto riguarda l'andamento settimanale (Fig. 4.26), si può notare che Yulka nelle prime 8 settimane ha mostrato un andamento costante della frequenza oraria di questi comportamenti, intorno a 2-3 eventi circa per ora, ed un innalzamento nelle ultime settimane fino a valori di circa 16 atti per ora.

Kairo presenta un andamento della frequenza settimanale di questi comportamenti discontinuo, con picchi in settimana 4, 5, 9 e 11 (Fig. 4.26).

Per entrambi i beluga si registrano valori di durata oraria simili in settimana 4 intorno a 0,2 min/h (circa 12 secondi). Yulka esibisce in settimana 8 il valore di durata oraria più alto corrispondente a 0,5 min/h (circa 30 secondi) (Fig. 4.26)

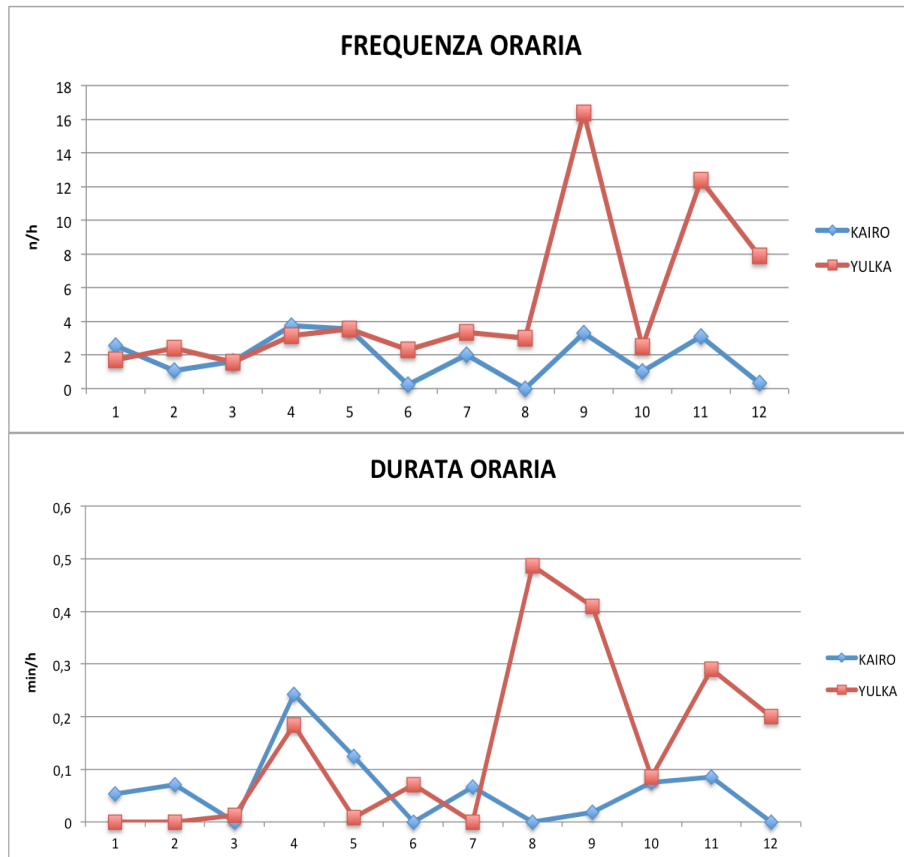


Fig. 4.26 Valori di frequenza e durata oraria di BUBBLE RELATED BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.

#### 4.2.7 PLAY BEHAVIOUR

Per quanto riguarda i comportamenti appartenenti a questa categoria abbiamo osservato un differente comportamento tra i due beluga; mentre Yulka ha sempre mostrato interesse verso gli oggetti presenti nella vasca (corde, boe, tubi, palle e nastri) interagendo con essi, Kairo ha solo osservato gli oggetti senza mai entrare in contatto con essi.

Yulka esibisce questi comportamenti con frequenza simile in fascia A e C (valori intorno a 13 atti per ora) mentre è stata osservata una differenza significativa tra la fascia A e la fascia B ( $p=0,001$ ,  $n=30$ ).

Le stesse differenze significative sono state osservate anche per quanto riguarda la durata oraria tra la fascia A e la fascia B ( $p=0,001$ ,  $n=30$ ), che presentavo valori rispettivamente di circa 5 min/h e 1 min/h.

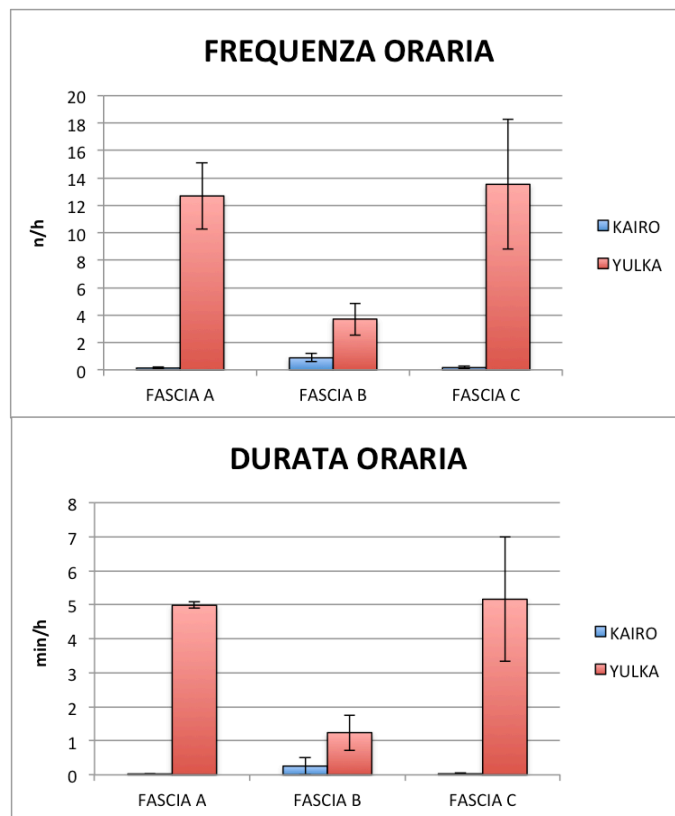


Fig. 4.27 Valori di frequenza e durata oraria (min/h) di PLAY BEHAVIOUR nell'arco della giornata.

Yulka presenta un andamento settimanale simile per la frequenza oraria e la durata oraria con valori maggiori in settimana 1 (circa 31 atti/h e 12/13 min/h) e tendenza decrescente fino ai valori minimi delle settimane finali (Fig. 4.28).

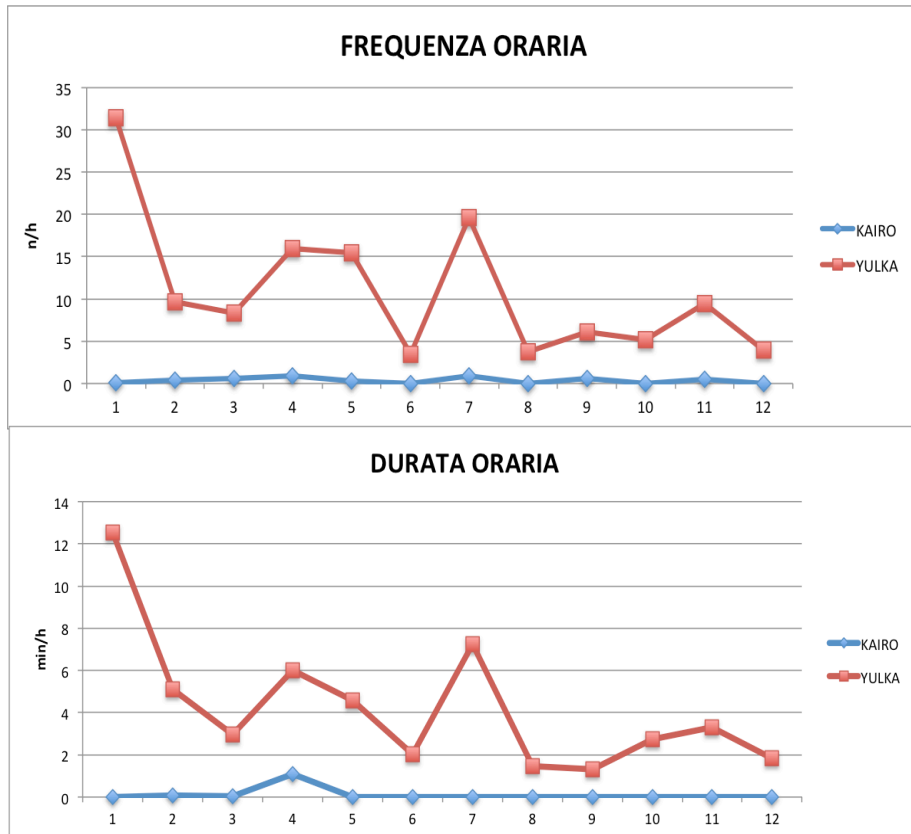


Fig. 4.28 Valori di frequenza e durata oraria di PLAY BEHAVIOUR durante le dodici settimane di campionamento.

### 4.3 ANALISI QUANTITATIVA DEI PARAMETRI RESPIRATORI

La realizzazione del punto tre degli obiettivi ha richiesto un'analisi quantitativa dei parametri respiratori.

Innanzitutto, è stata determinata la durata media in secondi dell'apnea dei due soggetti, misurata nell'arco della giornata (fig. 4.29), nelle singole fasce orarie (fig. 4.30) e nelle singole settimane (fig. 4.31). Dai risultati emerge che Kairo, l'individuo maschile e più anziano, respira più spesso di Yulka, più giovane e di sesso femminile, mostrando una durata media giornaliera dell'apnea minore ( $30,28 \pm 0,62$  secondi; range 2,29–201,58;  $n=108$ ) rispetto alla femmina ( $34,33 \pm 0,822$  secondi; range 1,2–420,71;  $n=108$ ) ( $p \leq 0,001$ ,  $n=108$ ).

I tre valori massimi di apnea registrati per Yulka sono 420,71 , 411,48 e 403,59 secondi, mentre i tre valori minimi osservati sono 1,20 , 2,30 e 2,35 secondi.

Per quanto riguarda Kairo i tre valori massimi registrati sono 196,25 , 201,52 e 201,58 mentre i valori minimi sono 2,29 , 3,63 e 3,79.

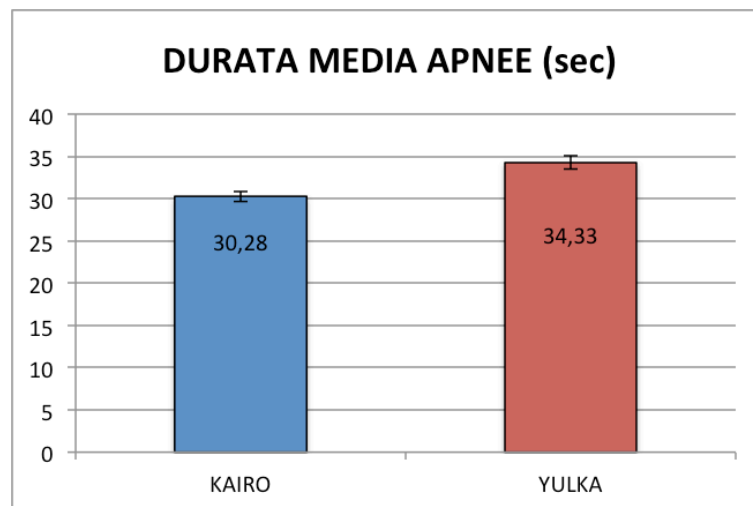


Fig. 4.29 Valore medio giornaliero della durata delle apnee.

Riguardo alle fasce orarie, entrambi i beluga presentano capacità respiratoria minime in fascia B. Yulka presenta differenze significative tra la fascia A e la fascia B ( $p \leq 0,001$ ,  $n=36$ ), tra la fascia B e la fascia C ( $p=0,011$ ,  $n=36$ ) e tra la fascia A e la fascia C ( $p=0,002$ ,  $n=36$ ). Kairo invece presenta differenze significative solo tra la fascia A e la fascia B ( $p=0,000$ ,  $n=36$ ) e tra la fascia B e la fascia C ( $p \leq 0,000$ ,  $n=36$ ).

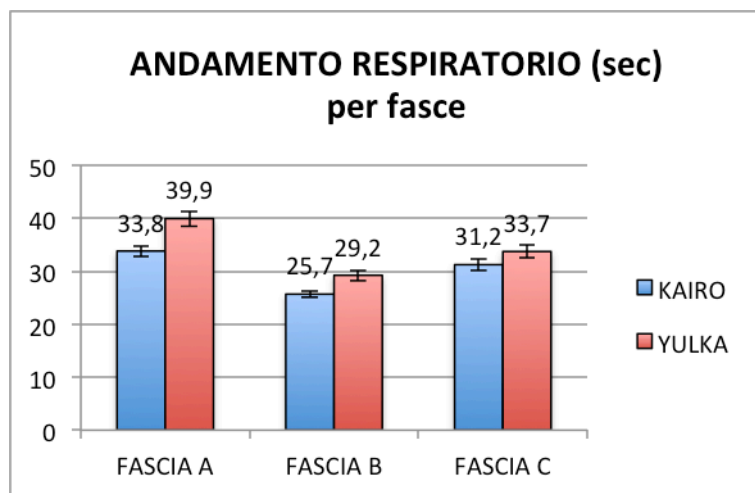


Fig. 4.30 Valori medi della durata delle apnee nell'arco della giornata.

Per quanto riguarda l'andamento settimanale entrambi i beluga mantengono costante la loro capacità respiratoria.

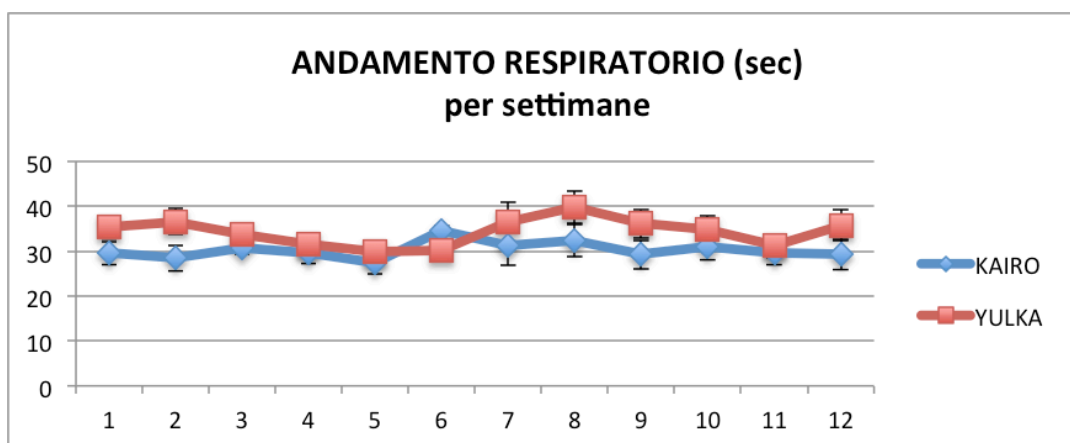


Fig. 4.31 Valori medi settimanali della durata delle apnee.



## 4.4 DOSAGGIO ORMALE

Il quarto obiettivo di questa tesi è verificare l'esistenza, nelle dodici settimane di studio, di una correlazione del livello degli ormoni (cortisolo, progesterone, testosterone) con il comportamento, approfondito fino all'analisi dei singoli moduli comportamentali e con l'attività respiratoria.

### 4.4.1 VALORI ORMONALI

Nei grafici sottostanti sono riportati i valori medi ormonali misurati per entrambi i soggetti durante le dodici settimane di campionamento.

Yulka mostra valori di cortisolo variabili in un range da 20,17 a 45,35 pg/ml, con picchi elevati nelle settimane 6 e 8 e valori minimi in settimana 4 (Fig. 4.32).

Per quanto riguarda il progesterone, si osservano valori costanti dalla terza all'ottava settimana, con valori da 42,82 pg/ml a 90,33 pg/ml, e un successivo innalzamento dei valori con un picco di 422,41 pg/ml in settimana 9 (Fig. 4.33).

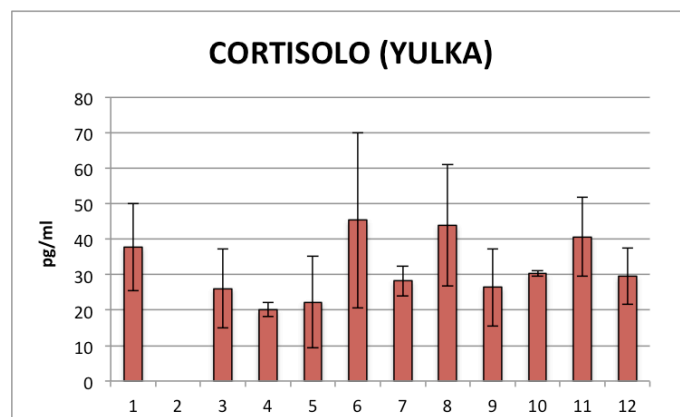


Fig. 4.32 Valori medi della concentrazione ormonale di cortisolo misurati nelle dodici settimane di campionamento. Mancano i dati della settimana 2.

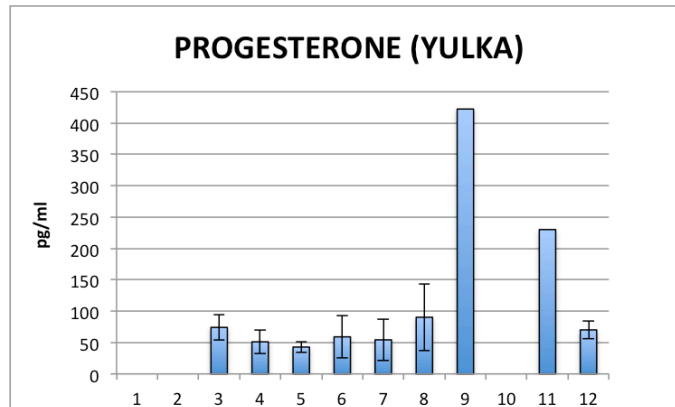


Fig. 4.33 Valori medi della concentrazione ormonale di progesterone misurati nelle dodici settimane di campionamento. Mancano i dati delle settimane 1, 2 e 10.

Per tutto il periodo di campionamento, in Kairo si osservano continui innalzamenti e diminuzioni dei valori di cortisolo, che tuttavia, raramente supera i 10 pg/ml.

In settimana 9 e 10, invece, si registrano due picchi consecutivi della concentrazione di quest'ormone, con valori di oltre 20 pg/ml (Fig. 4.34).

Per quanto riguarda i valori medi di concentrazione del testosterone nelle dodici settimane, si osserva un andamento costante tra la seconda e ottava settimana con valori tendenzialmente sotto a 5 pg/ml. Successivamente si registra un aumento con picco di 35,04 pg/ml in settimana 10 (Fig. 4.35).

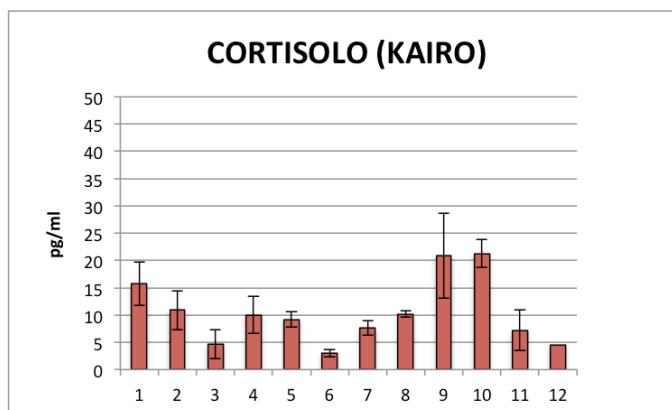


Fig. 4.34 Valori medi della concentrazione ormonale di cortisolo misurati nelle dodici settimane di campionamento.

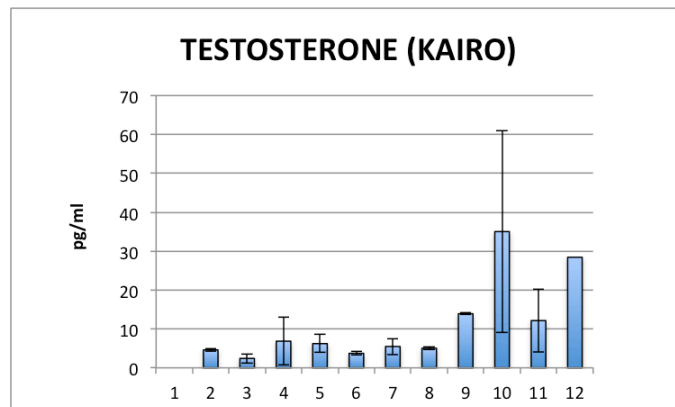


Fig. 4.35 Valori medi della concentrazione ormonale di testosterone misurati nelle dodici settimane di campionamento. Mancano i dati della settimana 1.

#### 4.4.2 CORRELAZIONE ORMONALE CON COMPORTAMENTO E ATTIVITÀ RESPIRATORIA

Attraverso il test di correlazione di Pearson non sono emerse correlazioni significative tra i valori ormonali e l'attività respiratoria mentre sono risultate statisticamente significative per almeno  $p \leq 0,05$  le correlazioni tra i valori ormonali e i comportamenti sotto elencati.

##### 4.4.2.1 CORRELAZIONE TRA COMPORTAMENTO E CORTISOLO IN YULKA

Dall'analisi di correlazione di Pearson è emersa una correlazione tra i valori di cortisolo e due comportamenti per quanto riguarda la frequenza con cui questi sono esibiti da Yulka. Si tratta di *head jerk* e di *swim random fast*.

***Head jerk***: rappresenta uno scatto laterale o verticale del rostro, spesso accompagnato dal suono di un colpo secco. Questo comportamento appartiene alla categoria dei comportamenti locomotori e posturali.

Come visibile dal grafico (fig. 4.36), si osserva che tale display è stato manifestato solamente il giorno di campionamento *a* in settimana 8 (circa 1 atto/h), corrispondente ad un valore molto alto della concentrazione di cortisolo (75,09 pg/ml). Tale relazione ha dimostrato avere una significatività  $p=0,022$  e un indice di correlazione  $r=0,422$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.37).

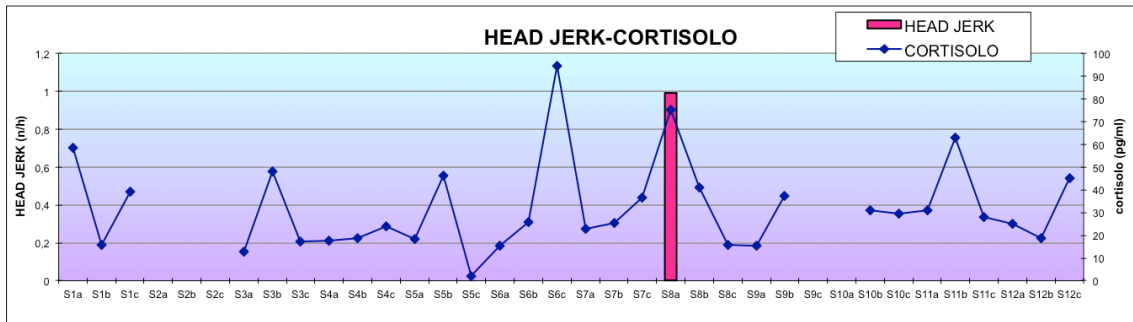


Fig. 4.36 Valori di cortisolo e frequenza oraria di *head jerk* durante i 36 giorni di campionamento.

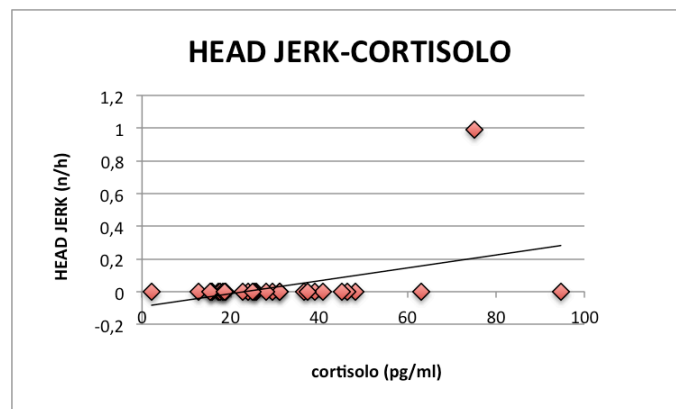


Fig. 4.37 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria di *head jerk* e la concentrazione di cortisolo.

***Swim random fast***: rappresenta un tipo di nuoto esibito con continui cambi di direzione, a volte apparendo come un comportamento transitorio tra altri stati. La correlazione con il cortisolo è stata osservata solamente quando questo comportamento è stato esibito con velocità *fast*, ossia quando il beluga nuotava con un andamento tale da far comparire pieghe cutanee sulla superficie del corpo.

Come visibile nel grafico in figura 4.38 questo comportamento è stato osservato con frequenza di circa una volta all'ora in due soli giorni di campionamento nelle settimane 6 e 10. Tale correlazione ha dimostrato avere una significatività con  $p=0,022$  e indice di correlazione  $r=0,425$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.39).

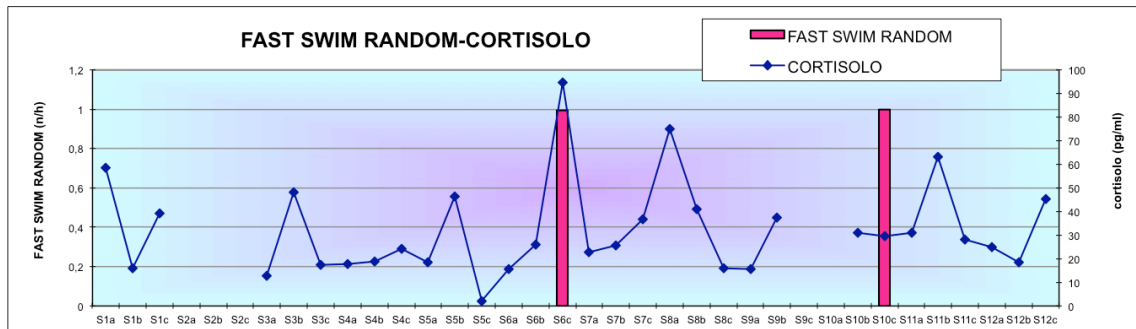


Fig. 4.38 Valori di cortisolo e frequenza oraria di *fast swim random* durante i 36 giorni di campionamento.

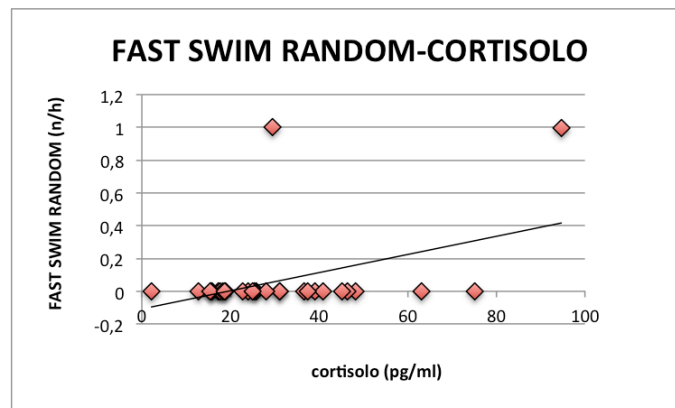


Fig. 4.39 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria di *swim random fast* e la concentrazione di cortisolo.

Per quanto riguarda invece la correlazione tra il cortisolo e la durata oraria con cui sono stati esibiti i comportamenti, è emersa una correlazione significativa tra il comportamento *rest* effettuato in vasca 2.

***Rest in Vasca2***: rappresenta un momento di arresto del nuoto che avviene in superficie con l'animale che rimane immobile e fa emergere solo lo sfiatatoio. La correlazione con il cortisolo è stata osservata solo quando questo comportamento è stato esibito in vasca 2.

Come visibile dal grafico 4.40, tale display è stato manifestato solamente in un giorno di campionamento in settimana 8 (durata pari a 0,56 min/h circa 34 secondi per ora), corrispondente ad un valore piuttosto alto della concentrazione di cortisolo (75,09 pg/ml). Tale relazione ha mostrato avere una significatività con  $p=0,022$  e indice di correlazione  $r=0,422$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.41).

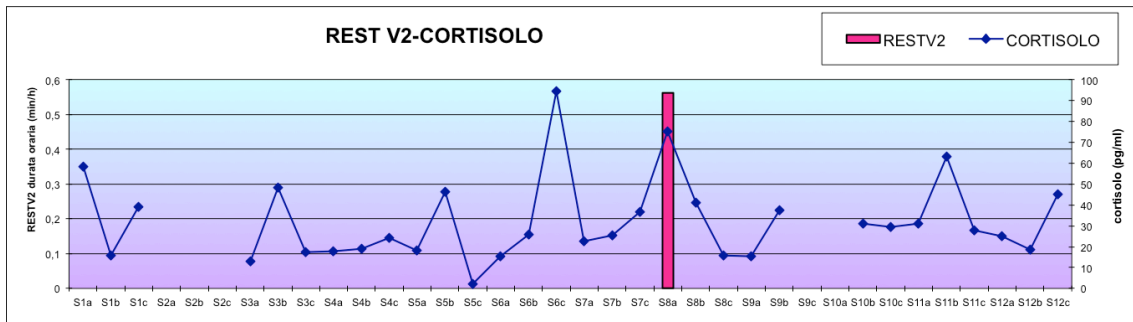


Fig. 4.40 Valori di cortisolo e durata oraria di *rest* vasca 2 durante i 36 giorni di campionamento.

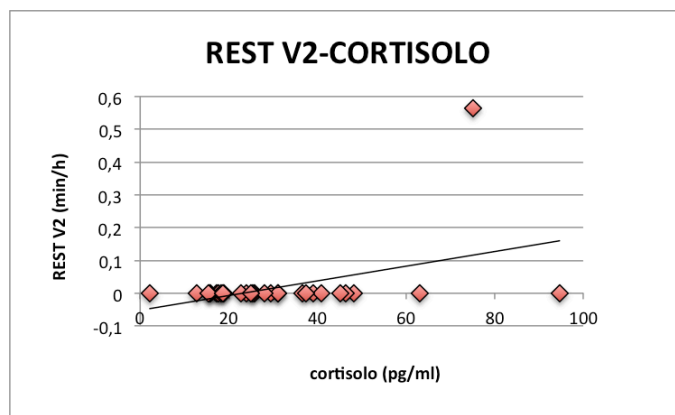


Fig. 4.41 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la durata oraria di *rest* in vasca 2 e la concentrazione di cortisolo.

#### 4.4.2.2 CORRELAZIONE TRA COMPORTAMENTO E CORTISOLO IN KAIRO

Dall'analisi di correlazione di Pearson è emersa una correlazione tra i valori di cortisolo e i seguenti comportamenti.

***Aggressive behaviour***: rappresenta l'insieme dei comportamenti aggressivi presenti nel catalogo comportamentale quali: *direct open mouth, jaw clap, chase, push, body slam, bite, rostrum hit e tail hit*.

Come si osserva dal grafico 4.42 si riscontra un netto picco nel campionamento *a* della settimana 9, sia per il cortisolo (28,68 pg/ml) sia per la frequenza della categoria dei comportamenti aggressivi (47,34 atti per ora).

Tale relazione ha mostrato avere una significatività con  $p=0,043$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,378$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.43).

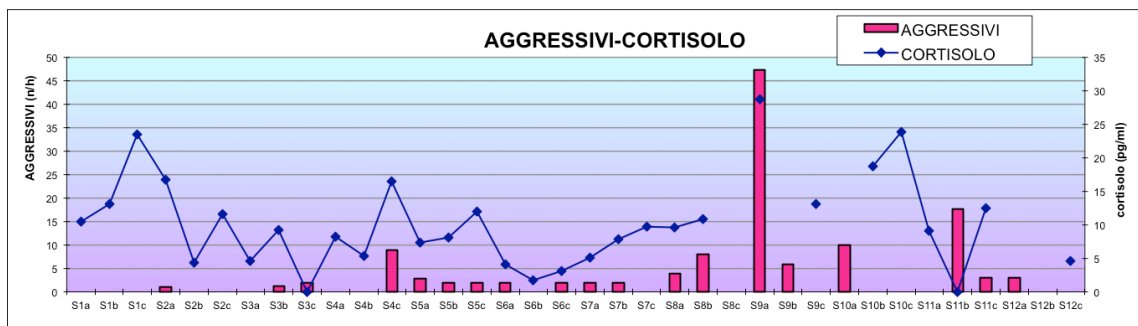


Fig. 4.42 Valori di cortisolo e frequenza oraria dei comportamenti aggressivi durante i 36 giorni di campionamento.

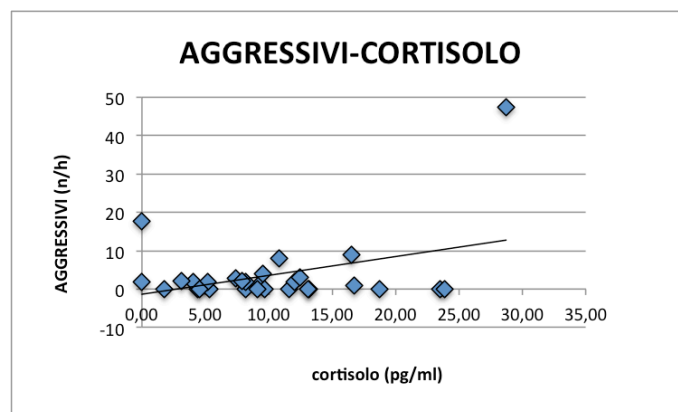


Fig. 4.43 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria dei comportamenti aggressivi e la concentrazione di cortisolo.

All'interno della categoria dei comportamenti aggressivi è stata osservata una specifica correlazione significativa con il comportamento *chase*.

**Chase:** in questo comportamento il soggetto insegue un altro individuo, orientando la testa verso la coda del delfino inseguito.

In figura 4.44 si osserva, in particolare, un aumento dei valori di cortisolo dalla settimana 6 alla settimana 9 culminante con un valore pari a 28,69 pg/ml e corrispondente ad un picco di chase che si presenta con una frequenza di circa 10 atti per ora.

Tale relazione ha mostrato avere una significatività con  $p=0,047$  e un indice di correlazione corrispondente a  $r=0,372$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.45).

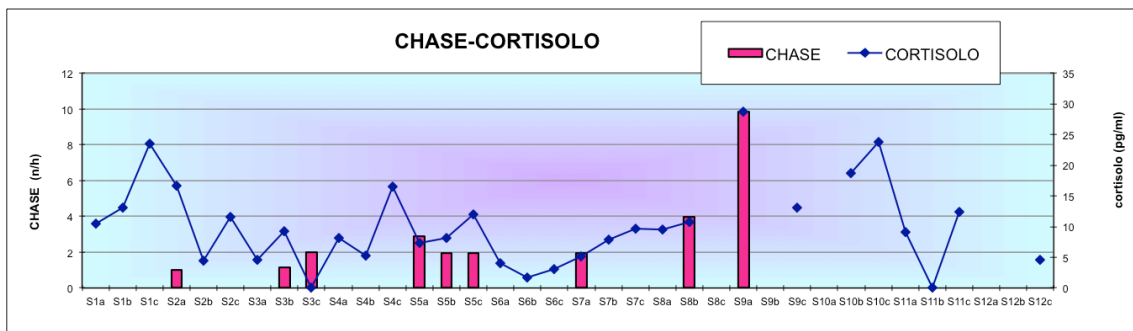


Fig. 4.44 Valori di cortisolo e frequenza oraria dei comportamenti *chase* durante i 36 giorni di campionamento.

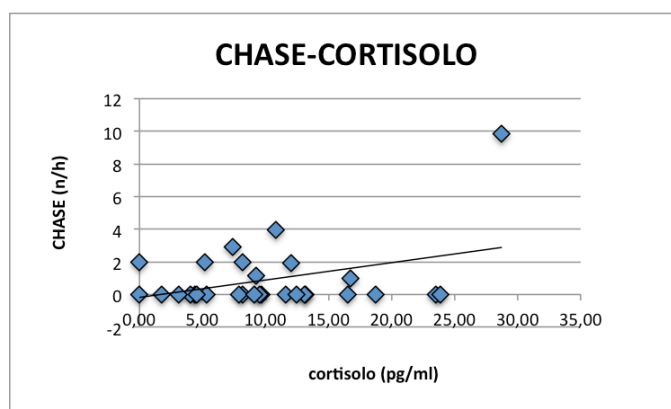


Fig. 4.45 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *chase* e la concentrazione di cortisolo.



Per quanto riguarda la durata di questo comportamento, il valore più alto è stato registrato nel campionamento *a* della settimana 9 (4,44 min/h) dove anche il cortisolo ha mostrato il suo picco massimo (28,69 pg/ml) (Fig. 4.46).

Questa relazione ha mostrato una significatività con  $p=0,010$  e indice di correlazione pari a  $r=0,470$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.47).

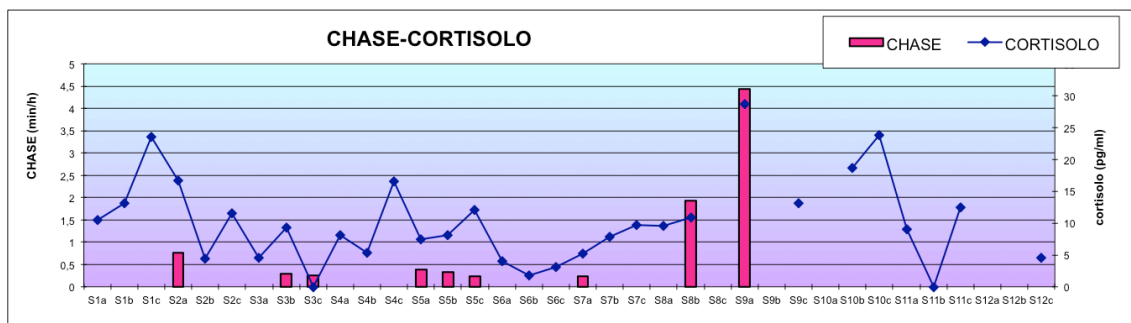


Fig. 4.46 Valori di cortisolo e durata oraria del comportamento *chase* durante i 36 giorni di campionamento.

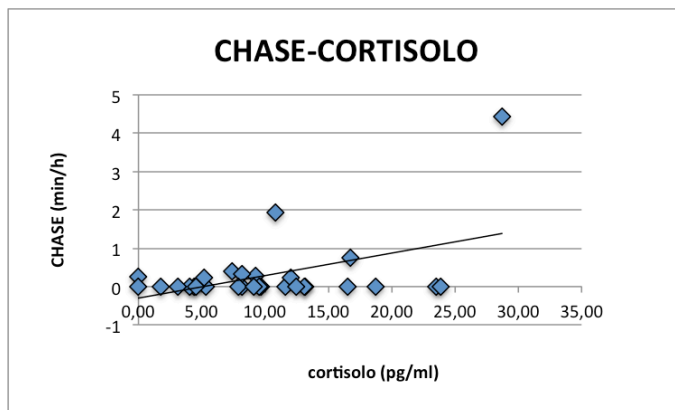


Fig. 4.47 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la durata oraria del comportamento *chase* e la concentrazione di cortisolo.

Un'ulteriore correlazione osservata riguarda la velocità *fast* con cui è stato esibito il comportamento locomotorio “*swim*”.

***Fast Swim***: la velocità *fast* rappresenta un momento di agitazione nel nuoto nel quale l'animale pinneggia con frequenza maggiore di una battuta al secondo e sulla pelle si osservano delle pieghe dovute dalla frizione dell'epidermide con l'acqua. Questo comportamento è stato esibito solo in settimana 2 e 10, e in entrambi i casi, i valori di frequenza oraria, circa 1 atto per ora, (Fig. 4.48) e di durata oraria, 0,13 min/h (circa 8 secondi per ora) e 0,25 min/h (circa 15 secondi per ora) rispettivamente (Fig.4.50), corrispondono ai due valori più alti osservati per il cortisolo (16,72 pg/ml e 23,86 pg/ml rispettivamente).

La relazione osservata tra la frequenza oraria di questo comportamento e il cortisolo è significativa per  $p=0,043$  e ha un indice di correlazione pari a  $r=0,398$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.49).

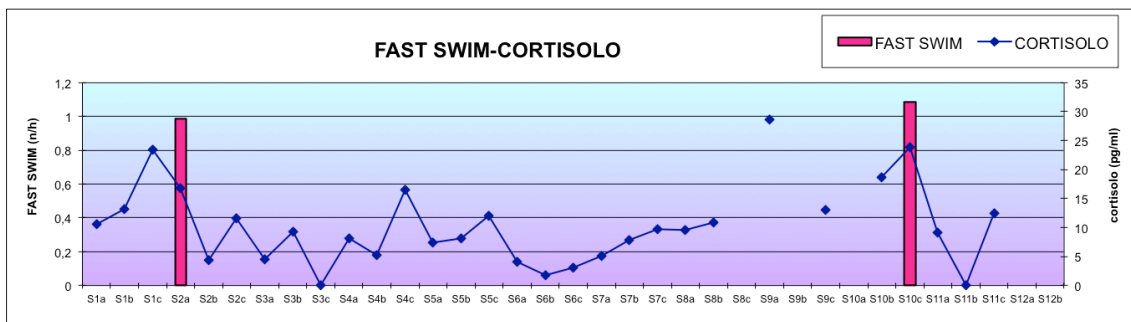


Fig. 4.48 Valori di cortisolo e frequenza oraria del comportamento *fast swim* durante i 36 giorni di campionamento.

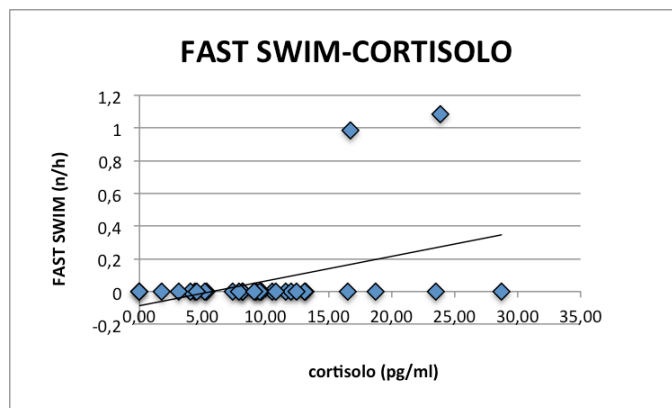


Fig. 4.49 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *fast swim* e la concentrazione di cortisolo.

La relazione tra la durata oraria del comportamento locomotorio svolto a velocità *fast* e i valori di cortisolo, ha mostrato avere una significatività con  $p=0,025$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,415$  ( $n=29$ ) (fig. 4.51).

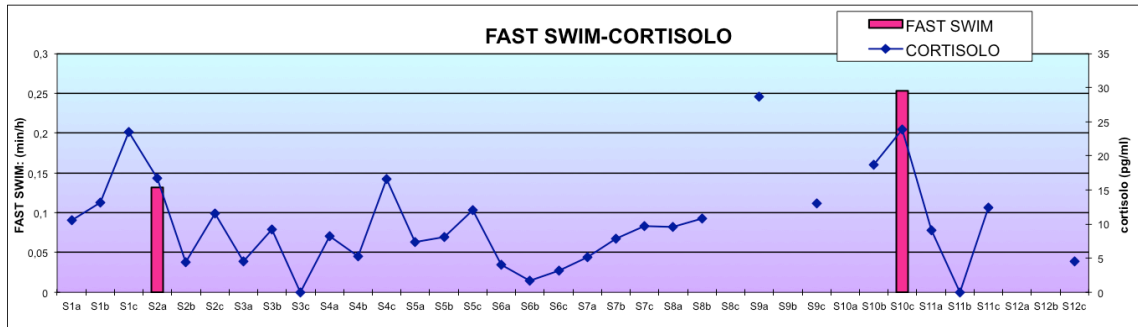


Fig. 4.50 Valori di cortisolo e durata oraria del comportamento *fast swim* durante i 36 giorni di campionamento.

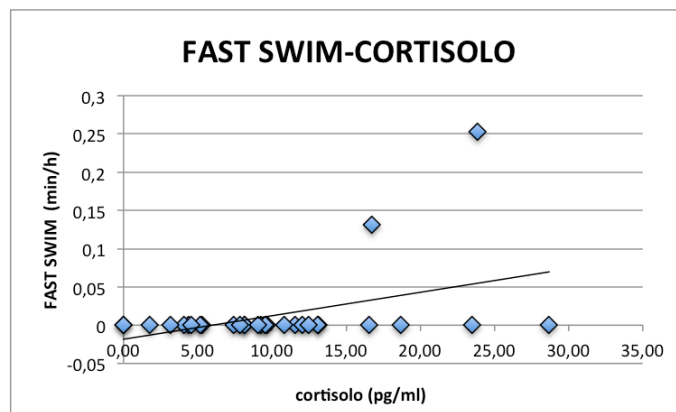


Fig. 4.51 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la durata oraria del comportamento *fast swim* e la concentrazione di cortisolo.

***Directional Swim Fast:*** un'ulteriore correlazione è stata osservata per quanto riguarda il nuoto direzionale (*directional swim*) svolto con velocità *fast* e i valori di cortisolo.

Dal grafico in figura 4.52 si osserva come questo comportamento sia stato manifestato durante il campionamento c in settimana 10 (circa un atto per ora), corrispondendo ad uno dei valori maggiori registrati per il cortisolo (23,86 pg/ml). La relazione tra la

frequenza oraria del comportamento con i valori di cortisolo ha mostrato avere significatività con  $p=0,048$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,370$  ( $n=29$ ) (Fig.4.53).

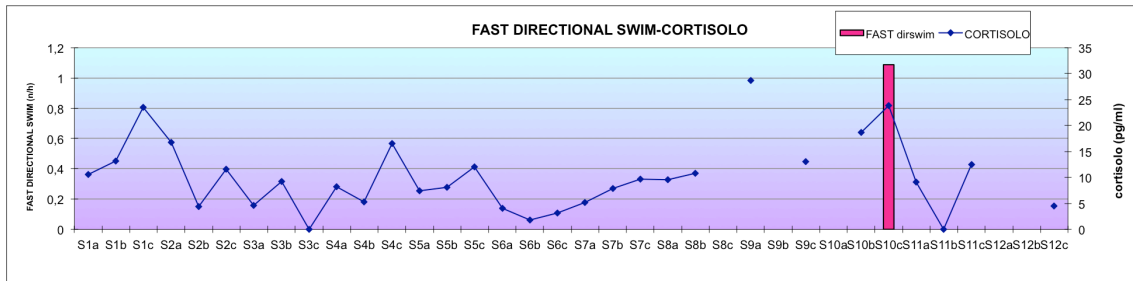


Fig. 4.52 Valori di cortisolo e frequenza oraria del comportamento *fast swim* durante i 36 giorni di campionamento.

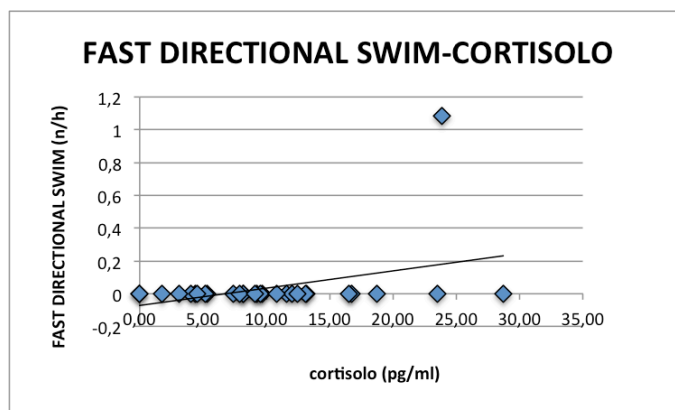


Fig. 4.53 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *fast directional swim* e la concentrazione di cortisolo.

Lo stesso andamento si osserva per quanto riguarda la durata oraria con cui questo comportamento è manifestato (0,25 min/h circa 15 secondi per ora) (Fig. 4.54). La relazione con i valori di cortisolo ha mostrato significatività con  $p=0,048$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,370$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.55).

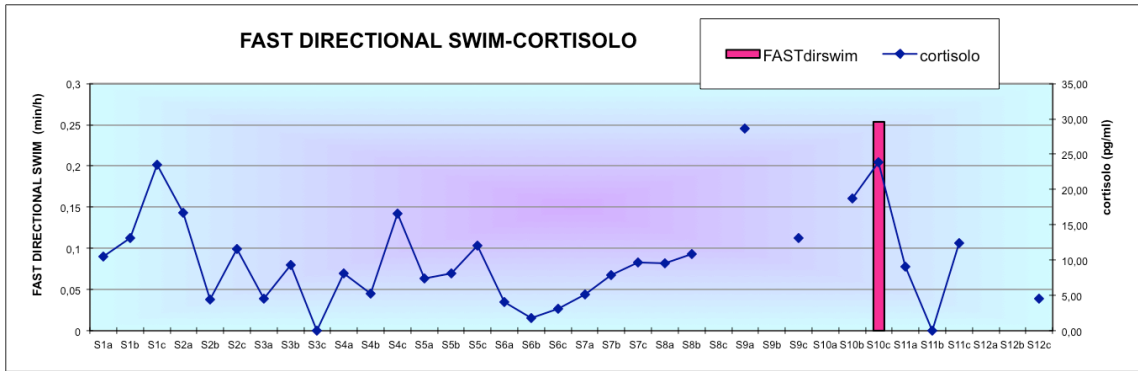


Fig. 4.54 Valori di cortisolo e durata oraria del comportamento *fast swim* durante i 36 giorni di campionamento.

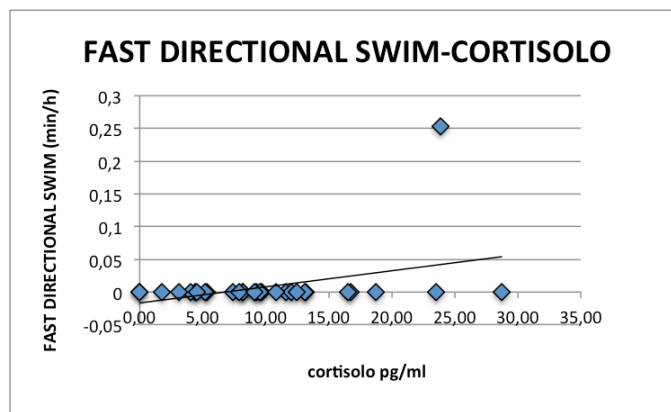


Fig. 4.55 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la durata oraria del comportamento *fast directional swim* e la concentrazione di cortisolo.

***Rest gate C:*** rappresenta un momento di arresto del nuoto che avviene in superficie, l'animale rimane immobile ed emerge solo lo sfiatatoio. La correlazione con il cortisolo è stata osservata quando questo comportamento è stato esibito di fronte al cancello C, il quale divide la vasca 2 dalla vasca 4. Dal grafico 4.56 si osserva come questo comportamento sia stato esibito solo nelle settimane 8 e 9. In quest'ultima, in particolare, si registra il picco massimo di cortisolo (28,69 pg/ml). La relazione ha

mostrato una significatività con  $p=0,018$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,436$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.57).

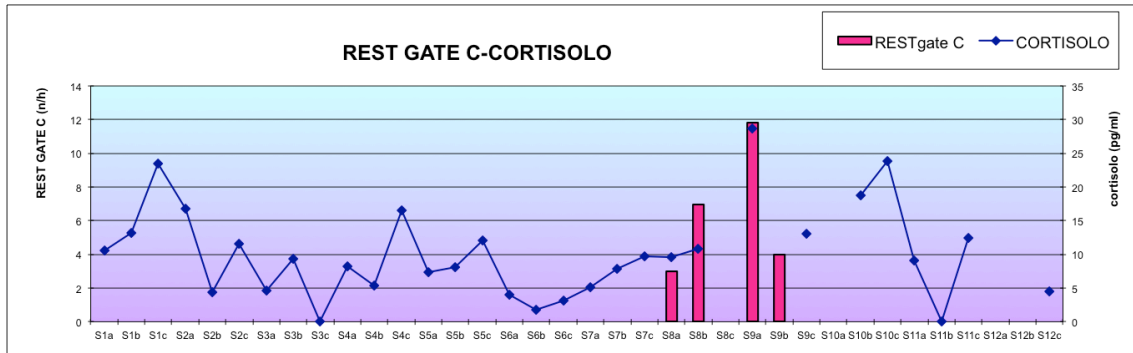


Fig. 4.56 Valori di cortisolo e frequenza oraria del comportamento *rest gate C* durante i 36 giorni di campionamento.

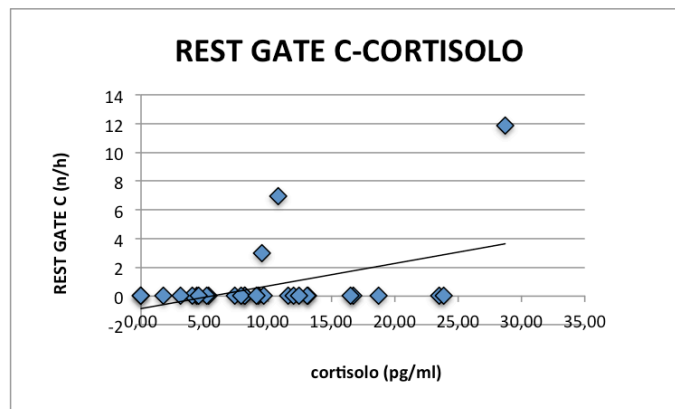


Fig. 4.57 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *rest gate C* e la concentrazione di cortisolo.

Lo stesso andamento si osserva per quanto riguarda la durata oraria con cui questo comportamento è stato manifestato (Fig. 4.58). La relazione con i valori di cortisolo ha mostrato significatività con  $p=0,029$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,405$  ( $n=29$ ) (Fig.4.59).

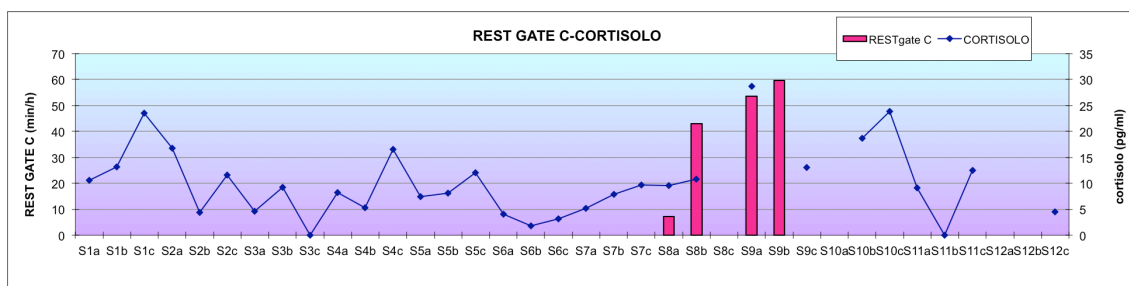


Fig. 4.58 Valori di cortisolo e durata oraria del comportamento *rest gate C* durante i 36 giorni di campionamento.

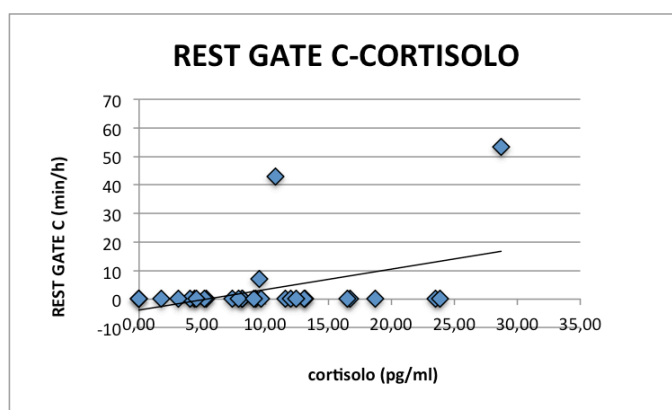


Fig. 4.59 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la durata oraria del comportamento *rest gate C* e la concentrazione di cortisolo.

***Locomotory And Postural Behaviour***: questa categoria comprende tutti i comportamenti che riguardano le attività locomotorie o posturali dell'animale nella colonna d'acqua.

Dal grafico 4.60 si osserva un andamento inverso tra i valori di cortisolo e la frequenza oraria dei comportamenti locomotori. Infatti, mentre i valori del comportamento aumentano, le concentrazioni del cortisolo diminuiscono, con un picco massimo di quest'ultimo pari a 28,69 pg/ml registrato proprio in corrispondenza di un valore inusualmente basso dei locomotori (55,56 min/h).

La relazione è risultata essere significativa per un valore di  $p=0,005$  e presentare un indice di correlazione pari a  $r= - 0,503$  ( $n=29$ ) (Fig. 4.61).

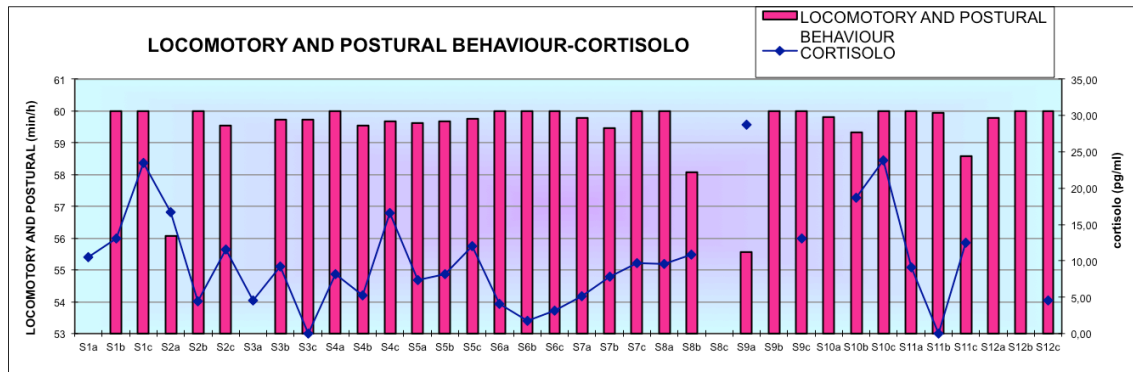


Fig. 4.60 Valori di cortisolo e durata oraria della categoria LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR durante i 36 giorni di campionamento.

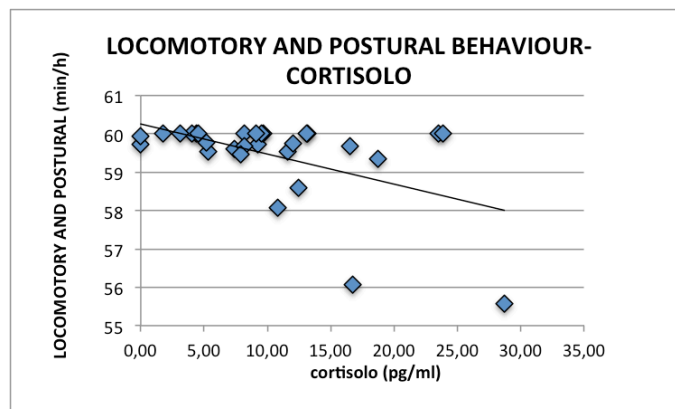


Fig. 4.61 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la durata oraria del comportamento LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR e la concentrazione di cortisolo.



#### 4.4.2.3 CORRELAZIONE TRA COMPORTAMENTO E PROGESTERONE IN YULKA

Dall'analisi di correlazione di Pearson è emersa una correlazione tra i valori di cortisolo e due tipologie di comportamenti per quanto riguarda la frequenza con cui questi sono esibiti da Yulka: BUBBLE RELATED BEHAVIOUR e LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR. Per quanto riguarda la correlazione con la durata oraria dei comportamenti, essa è stata osservata solo con il comportamento *rest* effettuato nel settore 2 della vasca 1.

**Bubble Related Behaviour**: rappresenta tutti i comportamenti che riguardano la produzione di bolle e l'interazione con esse.

Dal grafico 4.62 si osserva come i valori di frequenza subiscano un innalzamento in particolare nelle settimane 8 e 9. Questo andamento è simile anche per i valori di progesterone misurati in quei giorni. Un ulteriore innalzamento dei valori del comportamento si osserva in settimana 11.

Questa relazione ha mostrato avere una significatività con  $p \leq 0,001$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,723$  ( $n=22$ ) (Fig. 4.63).

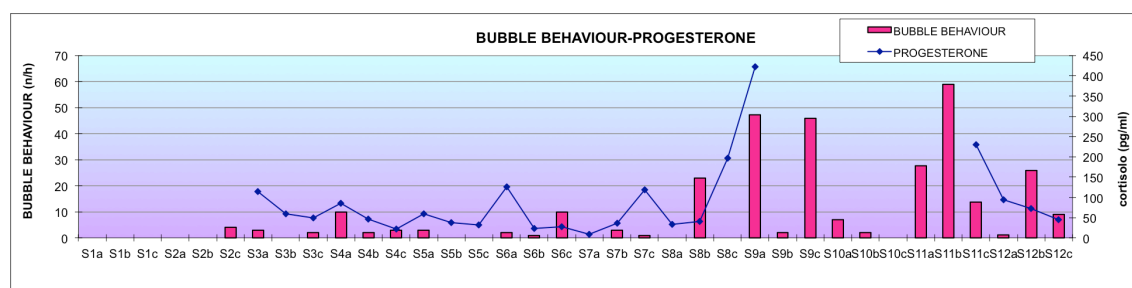


Fig. 4.62 Valori di progesterone e frequenza oraria della categoria BUBBLE RELATED BEHAVIOUR durante i 36 giorni di campionamento.

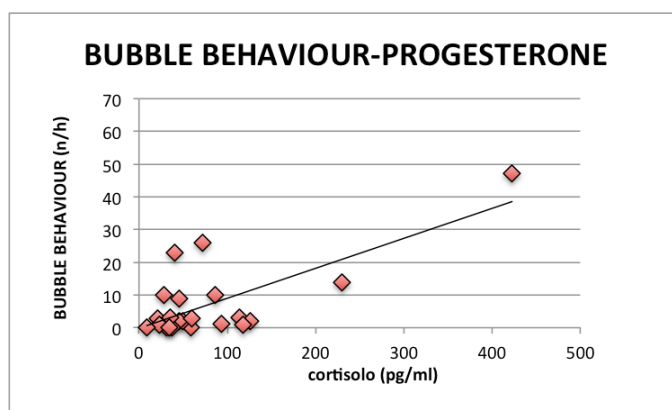


Fig. 4.63 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento BUBBLE RELATED BEHAVIOUR e la concentrazione di progesterone.

In particolare sono state osservate correlazioni significative tra i valori di progesterone e i seguenti comportamenti riguardanti il BUBBLE RELATED BEHAVIOUR: *bubble mouth*, *bubble ring*, *bubble stream* e *bubble contact*.

**Bubble Mouth:** questo comportamento si riferisce alla produzione di bolle mediante la bocca.

Questo comportamento mostra, pur con valori più bassi, lo stesso andamento illustrato per la categoria BUBBLE BEHAVIOUR. Analoga è pure la sua relazione con i valori di progesterone (Fig. 4.64). La relazione ha mostrato di avere una significatività con  $p=0,004$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,592$  ( $n=22$ ) (Fig.4.65).

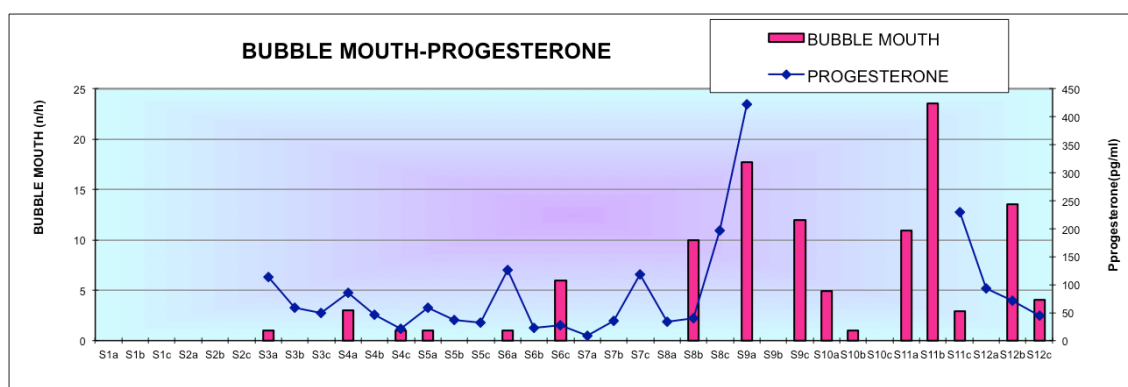


Fig. 4.64 Valori di progesterone e frequenza oraria del comportamento *bubble mouth* durante i 36 giorni di campionamento.

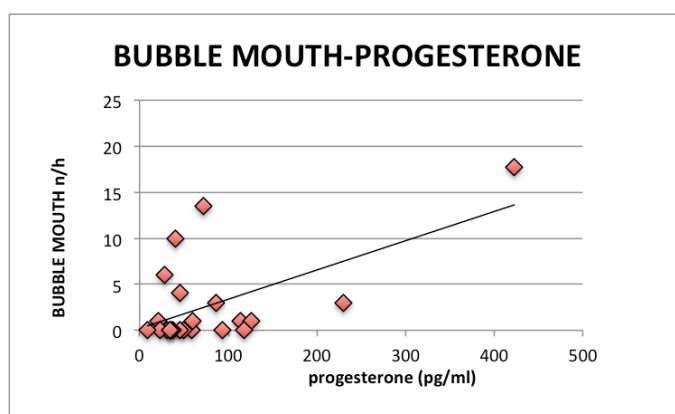


Fig. 4.65 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *bubble mouth* e la concentrazione di progesterone.

***Bubble Ring***: rappresenta la produzione di un tipo particolare di bolle a forma di anello emesse dallo sfiatatoio.

Come mostra il grafico 4.66, i valori di frequenza oraria con cui questo comportamento si manifesta risultano positivamente correlati con le concentrazioni di progesterone.

In particolare, è evidente un picco dei valori di progesterone (422,41 pg/ml) corrispondente ad un picco dei valori di frequenza oraria di questo comportamento (8,84 atti per ora). La relazione è risultata essere significativa per un valore corrispondente a  $p \leq 0,001$  e possedere un indice di correlazione pari a  $r = 0,796$  ( $n = 22$ ) (Fig.67).

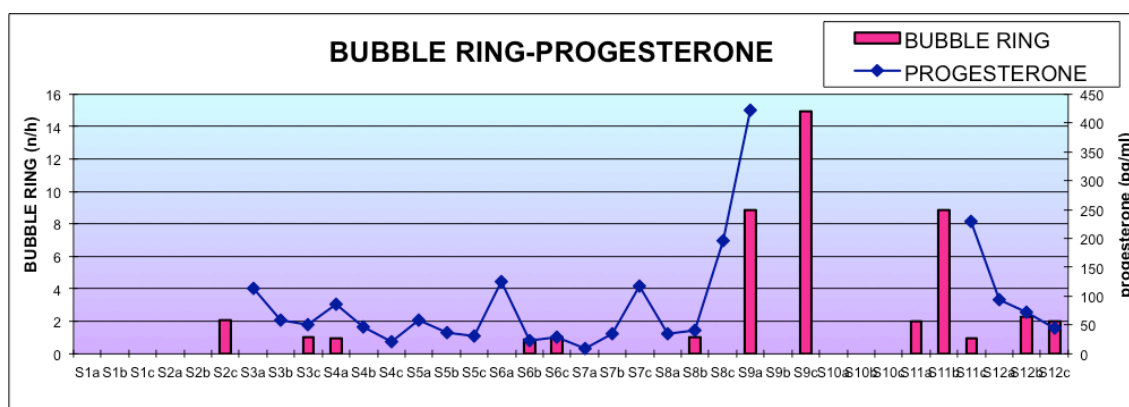


Fig. 4.66 Valori di progesterone e frequenza oraria del comportamento *bubble ring* durante i 36 giorni di campionamento.

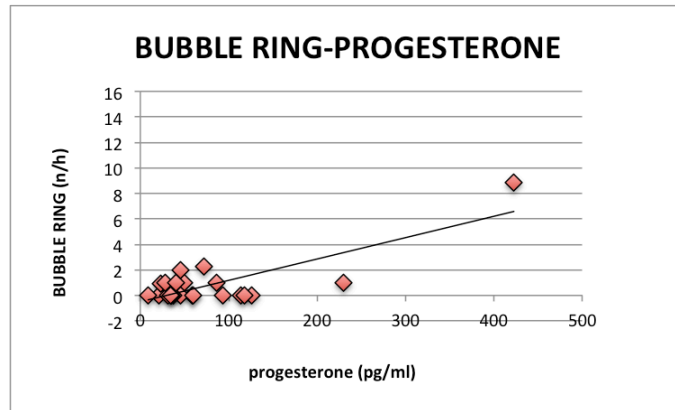


Fig. 4.67 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *bubble ring* e la concentrazione di progesterone.

***Bubble Stream:*** si tratta della produzione di una scia di bollicine emesse dallo sfiatatoio.

Dal grafico 4.68 si osserva, in particolare, che questo comportamento è stato esibito con un picco in settimana 9 (quasi 7 volte in un'ora) esattamente quando si rileva la concentrazione massima di progesterone (422,41 pg/ml).

La relazione ha mostrato di avere significatività  $p \leq 0,001$  e indice di correlazione corrispondente a  $r = 0,889$  ( $n = 22$ ) (Fig. 4.69).

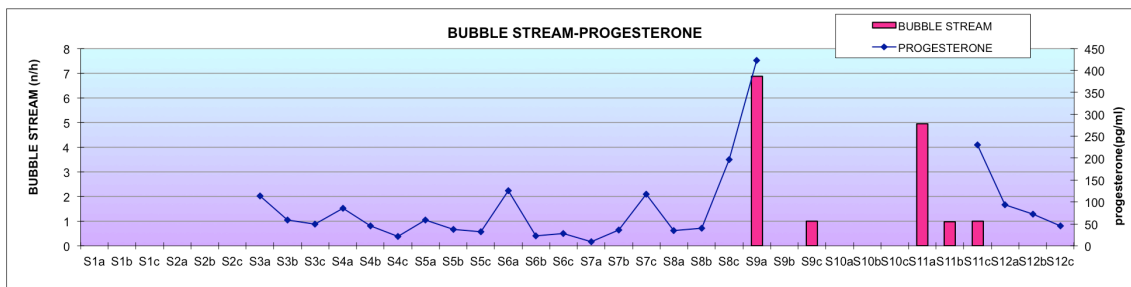


Fig. 4.68 Valori di progesterone e frequenza oraria del comportamento *bubble stream* durante i 36 giorni di campionamento.

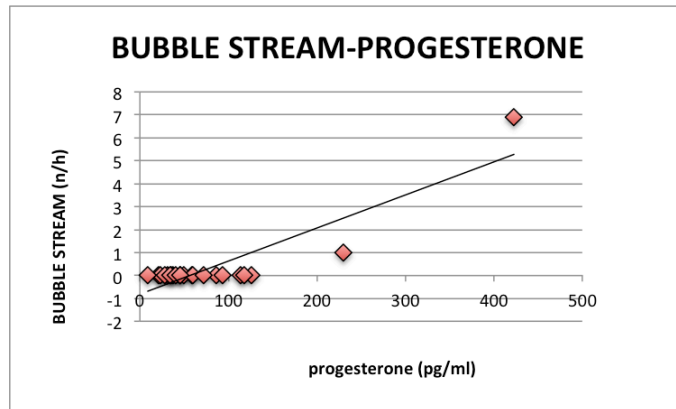


Fig. 4.69 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *bubble stream* e la concentrazione di progesterone.

***Bubble Contact***: rappresenta il comportamento di interazione con le bolle attraverso il contatto. Nella figura 4.70 si osserva un innalzamento dei valori di tale comportamento dalla settimana 8 in avanti, in maniera analoga a quanto fanno le concentrazioni di progesterone. Tale relazione ha mostrato significatività con  $p=0,003$  e indice di correlazione pari a  $r=0,609$  (Fig. 4.71).

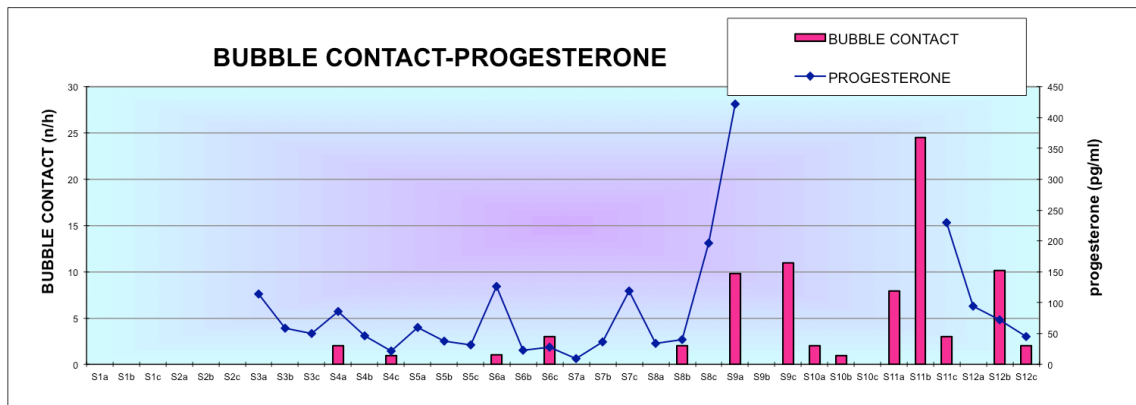


Fig. 4.70 Valori di progesterone e frequenza oraria del comportamento *bubble contact* durante i 36 giorni di campionamento.

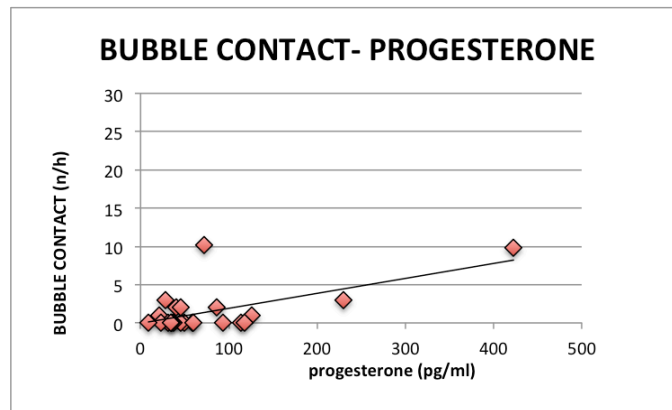


Fig. 4.71 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *bubble contact* e la concentrazione di progesterone.

All'interno della categoria LOCOMOTORY AND POSTURAL BEHAVIOUR sono state osservate correlazioni significative tra i valori di progesterone e i valori di frequenza oraria dei comportamenti *swim belly up* e *directional swim*.

***Directional Swim***: rappresenta il comportamento locomotorio del nuoto direzionale, con il ventre rivolto verso il fondale della vasca.

Nel grafico 4.72 si osservano continue oscillazioni di questo comportamento durante le dodici settimane, con il valore massimo di frequenza oraria pari a 68,79 atti per ora raggiunto in settimana 5. Il progesterone raggiunge, invece, il suo culmine in settimana 9. Tuttavia, la relazione tra i valori di frequenza oraria di questo comportamento e i valori di progesterone è risultata essere significativa per  $p=0,043$  e presentare un indice di correlazione corrispondente a  $r=0,434$  ( $n=22$ ) (Fig.4.73).

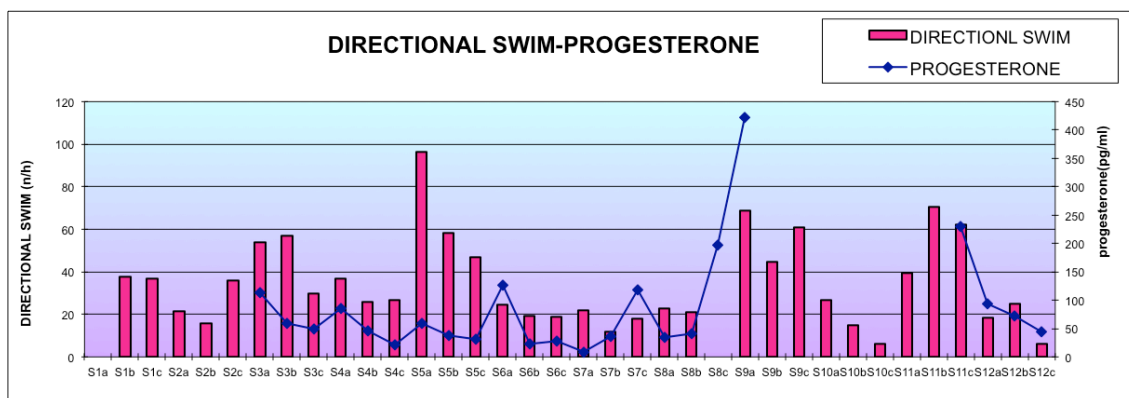


Fig. 4.72 Valori di progesterone e frequenza oraria del comportamento *directional swim* durante i 36 giorni di campionamento.

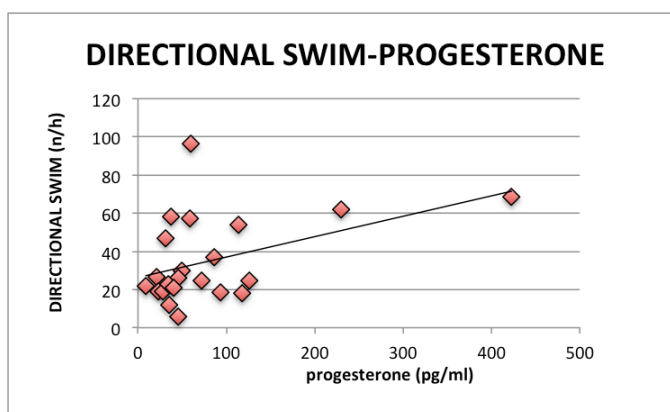


Fig. 4.73 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *directional swim* e la concentrazione di progesterone.

***Swim Belly Up:*** rappresenta il comportamento locomotorio del nuoto eseguito con il ventre rivolto verso la superficie dell'acqua e il dorso rivolto verso il fondo della vasca. Come è visibile dal grafico si osserva un innalzamento della frequenza oraria di questo comportamento in settimana 9 proprio quando si manifesta il picco massimo di progesterone.

Tale relazione ha mostrato avere significatività con  $p=0,026$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,434$  ( $n=22$ ) (Fig.4.75).

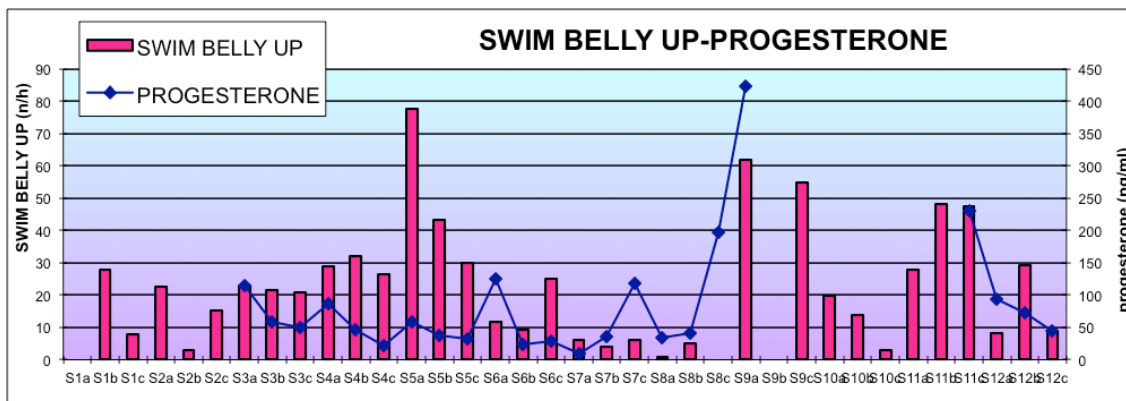


Fig. 4.74 Valori di progesterone e frequenza oraria del comportamento *swim belly up* durante i 36 giorni di campionamento.

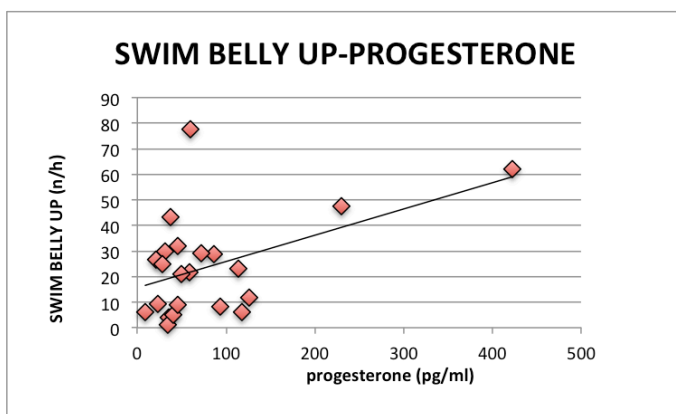


Fig. 4.75 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *swim belly-up* e la concentrazione di progesterone.

***Rest Vasca 1 settore 2:*** rappresenta un momento di arresto del nuoto che avviene in superficie, l'animale rimane immobile ed emerge solo lo sfiatatoio. È stata osservata una correlazione significativa tra i valori di progesterone e la durata oraria (5 min/h) di questo comportamento quando è stato esibito nel settore 2 della vasca 1.

Come visibile nel grafico 4.76 si osserva un picco dei valori di progesterone in settimana 9 corrispondente al più alto valore della durata oraria di questo comportamento (circa 5 min/h).

Tale relazione ha mostrato di avere significatività con  $p=0,004$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,588$  ( $n=22$ ) (Fig. 4.77).



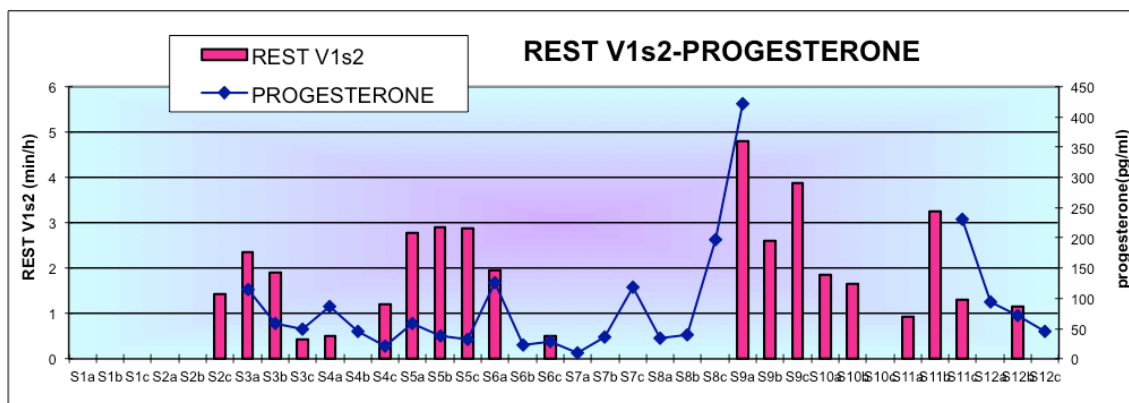


Fig. 4.76 Valori di progesterone e durata oraria del comportamento *rest vasca 1 settore 2* durante i 36 giorni di campionamento.

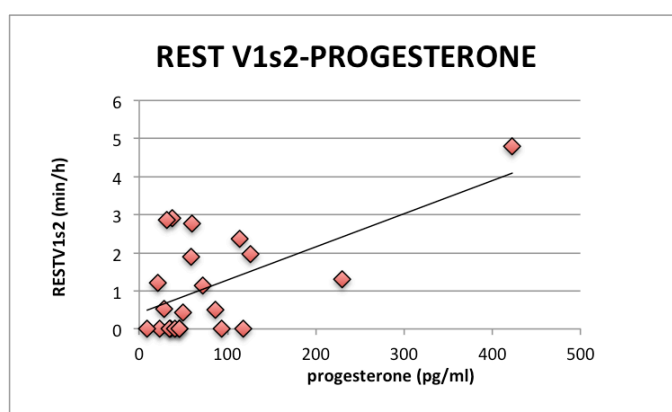


Fig. 4.77 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *swim belly-up* e la concentrazione di progesterone.

#### 4.4.2.4 CORRELAZIONE TRA COMPORTAMENTO E TESTOSTERONE IN KAIRO

Attraverso l'analisi di correlazione di Pearson è emersa una correlazione significativa tra i valori dell'ormone testosterone e la durata oraria di un comportamento appartenente alla categoria SOCIAL BEHAVIOUR.

***Belly to Belly***: questo comportamento sociale si osserva quando un individuo nuota con il ventre rivolto verso quello di un altro soggetto.

Nel grafico 4.78 si può osservare un picco dei valori di testosterone (61,07 pg/ml) nel campionamento *b* della settimana 10 a cui corrisponde uno dei valori più alti di durata oraria con cui questo comportamento è stato manifestato (0,66 min/h circa 40 secondi per ora).

Tale relazione ha dimostrato avere significatività con  $p= 0,047$  e indice di correlazione corrispondente a  $r=0,392$  ( $n=26$ ) (Fig.4.79).

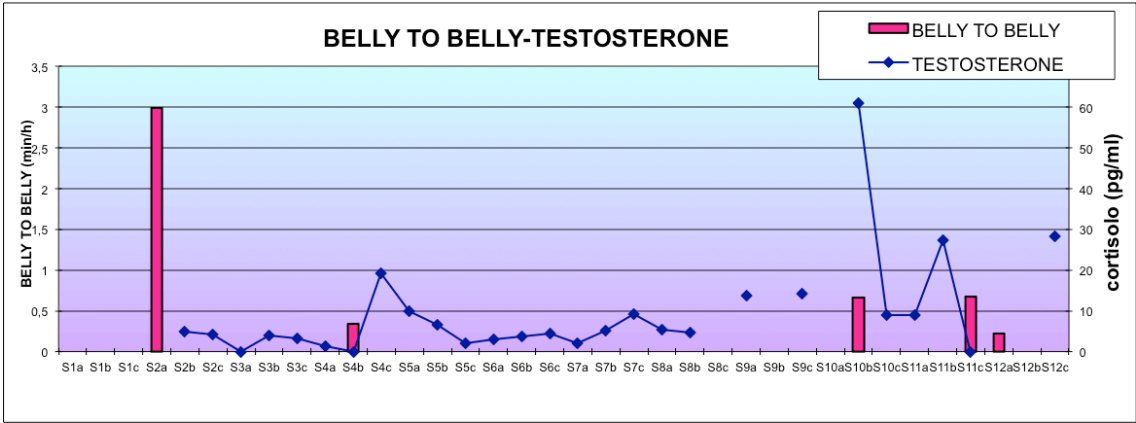


Fig. 4.78 Valori di testosterone e durata oraria del comportamento *belly to belly* durante i 36 giorni di campionamento.

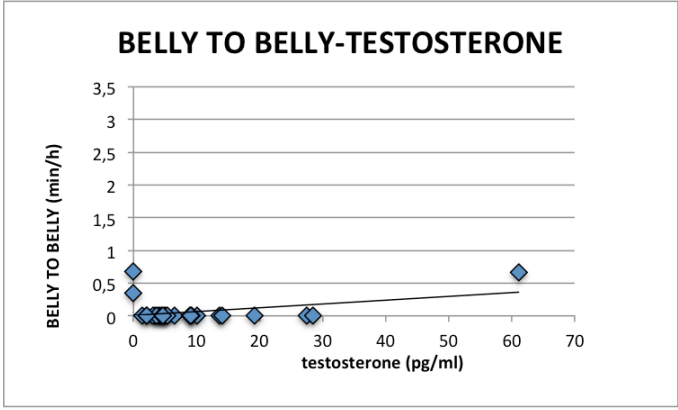


Fig. 4.79 Grafico a dispersione che mostra la relazione tra la frequenza oraria del comportamento *belly to belly* e la concentrazione di testosterone.

## 5. DISCUSSIONE E CONCLUSIONE

Il primo obiettivo di questa tesi è stata la costruzione di un catalogo comportamentale per *Delphinapterus leucas*. L'etogramma, infatti, è una componente fondamentale della ricerca etologica, che non può prescindere dalla descrizione, classificazione e misurazione del comportamento (Mainardi, 1997). L'etogramma, inoltre, costituisce la base scientifica grazie alla quale si può formulare un'ipotesi con una pretesa di universalità (Lorenz, 1960). Compito fondamentale di un catalogo comportamentale è assicurarsi che l'osservatore identifichi e registri un comportamento come lo stesso ogni volta che si manifesta (Lehner, 1996).

In questo contesto si è inserita la costruzione del catalogo comportamentale per beluga presentato nel paragrafo 4.1.

Attraverso una minuziosa ricerca bibliografica e attraverso l'unificazione delle differenti definizioni fornite da diversi Autori, sono stati identificati 66 moduli comportamentali, ciascuno caratterizzato dalla propria definizione e citazione bibliografica. In seguito al periodo di campionamento presso l'Oceanografico di Valencia, il catalogo comportamentale è stato integrato con due nuovi moduli comportamentali (*tail jerk* e *swim preferred-trip*) per i quali non sono state riscontrate corrispondenze in letteratura riguardo al beluga.

Il catalogo, composto così da 68 comportamenti, è stato suddiviso in 7 categorie comportamentali generali, che includono al proprio interno unità con simili finalità funzionali. Una difficoltà riscontrata in questa fase è stata quella di incasellare i comportamenti in una sola categoria, in quanto alcuni di questi, a seconda delle differenti situazioni e a seconda del soggetto, potevano essere compresi in più categorie. Ne è un esempio *water spit*, comportamento che si riferisce ad un getto d'acqua spruzzato dal beluga sulla superficie. In letteratura questo comportamento è classificato all'interno della categoria PLAY BEHAVIOUR ma a seguito delle osservazioni in campo è parso che tra i due animali ci fosse una differenza della finalità con cui questo comportamento è stato manifestato. Mentre Yulka esibiva il comportamento in un ambito giocoso caratterizzato anche, ad esempio, dall'interazione con oggetti, Kairo esibiva tale comportamento in concomitanza con comportamenti aggressivi o di minaccia verso un altro soggetto.

Per favorire il riconoscimento dei 68 moduli comportamentali, il catalogo comportamentale è stato completato da un archivio video.

In pratica per ciascun comportamento si è cercato di realizzare, con le immagini registrate durante i campionamenti comportamentali, un filmato descrittivo della durata di 30 secondi circa. In questo modo grazie al supporto delle immagini annesse a ciascuna definizione, è possibile identificare un comportamento in modo assolutamente univoco, analizzandolo nel dettaglio e magari a velocità ridotta, attraverso la visione della sua sequenza ideale.

Attraverso la consultazione dell'archivio video si può riconoscere, una volta sul campo, con immediatezza un comportamento quando lo si osserva, a prescindere dalla chiarezza e comprensibilità della descrizione presente nel catalogo comportamentale.

Il secondo obiettivo di questa tesi ha riguardato la quantificazione del comportamento di Kairo e Yulka, così come previsto nel catalogo, nell'arco della giornata e nel corso delle 12 settimane di studio.

In generale dai risultati ottenuti si riscontrano differenze tra i due individui, soprattutto per quanto riguarda l'andamento delle attività all'interno della giornata.

Yulka presenta, infatti, una diminuzione della frequenza con cui manifesta i comportamenti dalla mattina alla sera, in particolare nelle attività di tipo locomotorio, sociale, sessuale e legato alle bolle.

Questo pattern rispecchia l'osservazione di molti studi su varie specie di Cetacei, nei quali si evidenzia come in natura (Tayler and Saayman, 1972; Yablokov et al., 1974; Pryor and Kang Shallenberger, 1991; Braeger, 1993), o anche in cattività (Caldwell and Caldwell, 1972; Slijper, 1976; Ray et al., 1986), gli animali siano più attivi la mattina e nel primo pomeriggio rispetto alle ore serali.

Dal punto di vista fisiologico, nelle prime ore della giornata avviene la ripresa delle attività e il cortisolo in circolazione è più elevato. Ciò rende l'animale generalmente più reattivo agli stimoli esterni.

Per Kairo, invece, è stato riscontrato un calo della frequenza con cui manifesta i comportamenti solo per quanto riguarda attività sociali di tipo affiliativo e sessuale.

Questa differenza tra i due esemplari può essere dovuta alla differenza di età, ad una variabilità intrinseca tra gli esseri viventi, oppure al fatto che i due beluga provengano

da due diverse popolazioni naturali, Kairo dal mare di Ochotsk e Yulka dal mar Bianco, che presentano differenze a livello genetico che potrebbero riflettersi sui comportamenti (Matishov and Ognjetov, 2001).

Come sottolineato prima, con il passaggio da 2-3 atti per ora a meno di un atto per ora, per entrambi gli individui è stata osservata una diminuzione significativa ( $p \leq 0,005$ ) nelle frequenze con cui sono stati manifestati comportamenti sessuali tra la fascia del mattino e le altre fasce giornaliere. Questa osservazione può essere dovuta, non solo alla generale maggior attività degli animali nelle prime ore della giornata, ma anche al fatto che ad inizio giornata i beluga si trovano da soli in vasca. A partire dalla seconda fascia sono presenti, infatti, più esemplari di foca vitulina ed inizia anche ad affluire pubblico.

Per quanto riguarda le attività della categoria AERIAL BEHAVIOUR, poco manifestate durante il periodo di campionamento, si osserva uno stretto parallelismo con quanto avviene in natura dove il nuoto degli esemplari di *Delphinapterus leucas* è raramente caratterizzato da acrobazie aeree (O'Corry-Crowe, 2009). I beluga hanno un corpo più tozzo e meno agile dei delfini oceanici, con pettorali più grandi ed ingombranti ed una dorsale inesistente. Queste caratteristiche fisiche potrebbero rappresentare una limitazione al compimento di salti completi fuori dall'acqua. Inoltre, il fatto che vivano in ambienti artici ha favorito lo sviluppo di adattamenti, come ad esempio lo spesso strato di pannicolo adiposo che nei beluga costituisce fino al 40% della loro massa corporea totale (Sergeant and Brodie, 1969), che potrebbero costituire un impedimento nella loro agilità. Ancora, i beluga in natura sfruttano anche ambienti con basse profondità in cui non c'è spazio a sufficienza per compiere acrobazie aeree, per cui questi comportamenti potrebbero essere diminuiti di importanza nel corso dell'evoluzione.

In particolare, solo Yulka ha esibito comportamenti di questo tipo e solamente 13 volte su 108 ore di registrazione, concentrati durante le settimane 5 e 8, Kairo, invece, l'individuo più anziano, non ha mai eseguito salti o mezzi salti. Probabilmente con il raggiungimento di un'età più avanzata la tendenza a manifestarli può cessare del tutto.

Questa differenza tra aspetti si riscontra anche per quanto riguarda la categoria PLAY BEHAVIOUR. Ogni giorno, infatti, all'interno della vasca erano presenti uno o più oggetti con i quali i beluga potevano interagire (boe, corde, palloni, sfere e nastri).

Dalle osservazioni è emerso che Yulka ha mostrato più interesse per quest'attività mentre Kairo ha solo osservato i vari oggetti senza mai entrarne in contatto. In particolare, l'esemplare femminile ha manifestato una grande varietà di display, mostrando di essere molto curiosa e abile nel manipolare oggetti, ad esempio trasportandoli con il rostro o con le pinne anteriori.

In letteratura comportamenti riconducibili ad attività di gioco sembrerebbero comportare benefici sia a breve che a lungo termine e forse è per questo motivo che non si osservano diminuzioni nel manifestare questa attività dalle prime ore del mattino a quelle serali.

Dallo studio è emerso che alcuni comportamenti sono stati manifestati maggiormente in fascia B, ossia nelle ore tra le 11 e le 16, da entrambi gli animali. Si tratta dei comportamenti aggressivi la cui frequenza oraria è risultata essere significativamente maggiore ( $p \leq 0,005$ ) a metà giornata piuttosto che nelle altre ore.

Kairo arriva a frequenze di oltre 10 eventi per ora contro i 2-3 delle altre fasce mentre Yulka da 1-2 eventi raddoppia e manifesta 4 aggressivi per ora in fascia B.

Questo risultato può essere dovuto al fatto che durante la fascia B tutte e quattro le vasche erano in comunicazione e che beluga foche potessero interagire.

Mentre Kairo è stato osservato manifestare comportamenti solo di tipo aggressivo nei confronti delle foche, Yulka invece ha manifestato anche comportamenti sociali nei loro confronti. Questa osservazione potrebbe indicare un comportamento di tipo territoriale da parte di Kairo, l'esemplare maschile, che probabilmente avverte la presenza delle foche all'interno della vasca come una minaccia.

Questa situazione potrebbe essere dovuta anche al fatto che le foche sono state introdotte circa cinque anni dopo l'arrivo dei beluga presso questa struttura e al fatto che inizialmente Kairo e Yulka sono stati mantenuti per un periodo di acclimatazione nelle vasche 2, 3 e 4, dove ora invece sono presenti le foche.

Questa situazione nella quale foche e beluga possono interagire potrebbe aver influenzato anche l'attività relativa al gioco, per quanto riguarda Yulka, che risulta mostrare frequenze minori ( $p \leq 0,005$ ) in fascia B rispetto alle altre fasce giornaliere.

L'osservazione circa una maggiore manifestazione di comportamenti sociali affiliativi in fascia B (il picco arriva in Yulka a più di 25 interazioni per ora contro le 3-5 della

mattina e della sera) insieme al risultato appena illustrato, relativo al gioco, potrebbe indicare che Yulka preferisce svolgere nella fascia di metà giornata, attività di tipo sociale in cui può interagire anche con altri soggetti di altre specie, piuttosto che attività riguardanti il gioco, che ha sempre manifestato esibire in modo solitario.

Nel corso della giornata un altro risultato interessante riguarda la produzione di bolle e l'interazione con esse esibite da Kairo.

Questa attività è risultata essere simile tra le prime ore del mattino e quelle serali (frequenza di circa 2-3 atti /h) mentre è risultata significativamente minore in fascia B (al massimo 1 volta/h).

In letteratura i comportamenti riguardanti la produzione di bolle sono stati identificati anche come attività di tipo giocoso, soprattutto la produzione di bolle di forma più complessa (Marten *et al.*, 1996) come quelle prodotte con la bocca o a forma di anello. In Kairo questi comportamenti sono stati manifestati con percentuale elevata soprattutto in fascia C, ad indicare che Kairo preferisce esibire questa attività rispetto all'interazione con gli oggetti, che non è stata quasi mai esibita, in un contesto di comportamenti con finalità ludiche.

A seguito della osservazione e quantificazione del comportamento *swim preferred-trip*, inserito nel catalogo comportamentale successivamente al periodo di osservazione, è emerso che solo l'esemplare femminile ha manifestato questo genere di attività.

Si tratta di un comportamento ripetitivo, in quanto l'animale percorre lo stesso tragitto durante la locomozione in maniere continua e reiterata.

In letteratura questo comportamento è stato osservato in animali carnivori quali ad esempio tigri ed orsi mantenuti in cattività, che se tenuti in gabbie troppo piccole rispetto alla stazza, percorrono sempre il medesimo tragitto; l'esibizione di un comportamento stereotipato in letteratura è indicato come indice di frustrazione.

D'altra parte, la frequenza con cui Yulka ha esibito questo comportamento, è significativamente minore in fascia B (2 volte per ora rispetto alle 5-6 volte delle altre fasce), come se la presenza delle foche potrebbe essere una presenza positiva e stimolante per Yulka.

Tuttavia, risultano significative le differenze riscontrate nell'arco della giornata per quanto riguarda la durata oraria di questa attività, che alla sera risulta pari a 18 min/h quando nelle altre ore è solo della metà.

Per approfondire questo risultato si potrebbe condurre uno studio valutando la concentrazione ormonale del cortisolo nell'arco della giornata. Questo ormone è, infatti, indice di situazioni stressanti e di disagio dell'animale e indagando la sua concentrazione nelle ore serali, in cui il *preferred-trip* è condotto per una durata maggiore, si potrebbe valutare lo stato di benessere dell'animale.

Il terzo obiettivo di questa tesi riguarda lo studio dell'attività respiratoria dei due individui di *Delphinapterus leucas*. Dai risultati è emerso che Yulka, l'individuo femminile e più giovane, effettua in media apnee più lunghe ( $34,33 \pm 0,822$  secondi) rispetto a Kairo ( $30,28 \pm 0,62$  secondi). Questa osservazione può essere dovuta alla differenza di età tra i due individui, insieme alla tipologia di comportamenti esibita che, come visto nei precedenti paragrafi, è diversificata tra i due individui.

I valori massimi di apnea registrati sono stati effettuati da Yulka che ha compiuto immersioni fino ad una durata massima di 7 minuti (420 secondi).

Per quanto riguarda l'esemplare femminile è stato riscontrato un calo significativo ( $p=0,002$ ) dell'attività respiratoria dalla fascia del mattino alla fascia serale (con valori che passano da 39,9 secondi a 33,7 secondi), indicando forse che al termine della giornata l'animale è in generale più affaticato oltre al fatto che nelle prime ore della giornata gli animali sono più attivi rispetto alle ore serali.

Per entrambi i beluga il valore medio dell'apnea è risultato essere minore in fascia B, momento nel quale i due esemplari sono in presenza delle foche.

L'ultimo obiettivo di questa tesi si è proposto di verificare l'esistenza nelle dodici settimane di studio di una correlazione del livello degli ormoni (cortisolo, progesterone, testosterone) con il comportamento e con l'attività respiratoria.

Il monitoraggio classico di questi ormoni avviene attraverso il prelievo ematico, il quale però presenta degli svantaggi. Esso è, infatti, molto invasivo per gli animali e i risultati ottenuti possono essere alterati dallo stress da prelievo, che provoca repentine alterazioni delle concentrazioni ormonali (Buholzer *et al.*, 2001).



In questo studio è stato adottato come metodo di campionamento ormonale il prelievo dello sfiato, che ovviando a questi problemi risulta essere da questo punto di vista un metodo migliore. La procedura prevede, infatti, prelievi veloci e non invasivi, in quanto il campione da acquisire è costituito dal materiale emesso spontaneamente dallo sfiatatoio.

Questa metodologia è stata validata per quanto riguarda il dosaggio ormonale di progesterone e cortisolo da uno studio condotto da Accorsi e Tizzi *et al.* (2010) in *Tursiops truncatus*, mentre per quanto riguarda il dosaggio di testosterone, in letteratura, l'unico Autore che utilizza questa metodologia è Hogg (2004) che ne sottolinea la non invasività e attendibilità del metodo.

Dall'analisi di correlazione di Pearson sono emerse numerose correlazioni tra i valori ormonali con i comportamentale ma non con i parametri dell'attività respiratoria.

Iniziando dal cortisolo, la decisione di monitorare questo ormone è stata presa in quanto questa sostanza è quasi sempre coinvolta in situazioni di agitazione, stress, eccitazione, aggressività o disagio fisico. Il suo controllo è, dunque, importante per tenere sotto osservazione il benessere dell'animale. Esso permette, infatti, di evidenziare in maniera quantitativa l'instaurarsi e l'eventuale persistere di situazioni disagiati per gli individui.

Per quanto riguarda Yulka il cortisolo è stato osservato avere una correlazione significativa e positiva con due comportamenti: *head jerk* e *fast swim random*.

Questa relazione conferma come in situazioni di stress, quando i valori di cortisolo aumentano, l'animale manifesta comportamenti di nervosismo: *head jerk*, infatti, comporta movimenti improvvisi a scatto della testa mentre *fast swim random* rappresenta un nuoto con continui cambi direzionali e svolto a velocità elevata.

Anche per Kairo si è osservata correlazione significativa tra il cortisolo e diversi display comportamentali.

Come visto anche nell'esemplare femminile, innanzi tutto è presente una relazione positiva con la velocità elevata con cui sono svolti i comportamenti locomotori, soprattutto il nuoto direzionale. Questo risultato avvalorava ancor di più l'ipotesi che l'aumento di velocità del nuoto si manifesti in situazioni di disagio, verificate dall'aumento dei valori ormonali di cortisolo.

Nell'esemplare maschile è stata, inoltre, osservata correlazione positiva con i comportamenti aggressivi, in particolare con il display *chase* (inseguire un altro individuo).

Questo risultato potrebbe indicare che situazioni in cui l'animale mostra aggressività nei confronti di altri individui comportino l'aumento dei valori di cortisolo indicando la presenza di un fattore di stress.

Un risultato interessante è emerso dalla correlazione tra i valori di cortisolo e i valori di durata oraria con cui sono stati manifestati i comportamenti della categoria locomotoria e posturale, che è risultata essere significativa ma in maniera negativa. Questo potrebbe indicare che in situazioni in cui i valori di cortisolo aumentano, l'animale spenda meno tempo in attività di locomozione o di riposo ma trascorra più tempo in attività quali ad esempio quelle aggressive, per le quali si è osservata correlazione positiva.

Un'ulteriore correlazione verificata per Kairo è quella tra i valori di cortisolo e i valori di frequenza e durata oraria del comportamento di stazionamento in superficie (*rest*) svolto di fronte al cancello C.

I campionamenti nel quale è stato riscontrato questo comportamento corrispondono a dei giorni in cui l'esemplare Kairo era stato mantenuto all'interno della vasca 2 e gli esemplari di foca erano mantenuti all'interno della vasca 4, la quale è collegata alla vasca 2 attraverso il cancello C.

Nonostante il comportamento *rest* sia una situazione di riposo per l'animale che staziona in superficie, il fatto che questa attività sia stata svolta in prossimità del cancello C, attraverso il quale Kairo poteva osservare direttamente le foche, potrebbe indicare una situazione di monitoraggio/controllo di quella vasca, considerando soprattutto l'inclinazione di Kairo di esibire comportamenti aggressivi nei confronti di questi individui.

Le osservazioni riguardo al comportamento di Kairo manifestato nei confronti delle foche possono essere oggetto di un futuro studio riguardo l'interazione tra diverse specie, in particolare per quanto riguarda gli aspetti della territorialità e dell'aggressività in *Delphinapterus leucas*.

Riassumendo, la verifica di una correlazione tra il cortisolo e determinati display comportamentali permette di evidenziare quali comportamenti l'animale esibisca di preciso in situazioni di stress o disagio consentendo di ottenere indicazioni sul

benessere dell'animale non solo dal dosaggio ormonale ma anche dall'osservazione del comportamento dell'individuo.

Per quanto riguarda invece gli ormoni sessuali, i valori di testosterone di Kairo monitorati durante le dodici settimane di campionamento sono risultati essere significativamente correlati, in maniera positiva, con i comportamenti sociali, in particolare con il display belly to belly, per quanto riguarda la sua durata oraria.

Essendo il testosterone un ormone sessuale, il risultato osservato potrebbe comportare il fatto che quando sono presenti valori elevati di concentrazione ormonale, l'animale trascorra più tempo in attività di tipo sociale che comportano l'interazione con l'altro individuo, nel nostro caso di sesso femminile.

Il comportamento *belly to belly* riguarda una modalità di locomozione in cui il soggetto nuota con il ventre rivolto verso quello del compagno con il quale sta nuotando. La relazione che è emersa potrebbe indicare che questo tipo di comportamento non solo sia di tipo sociale ma che abbia anche una finalità di tipo sessuale, ad esempio rappresentando una sorta di corteggiamento.

Purtroppo in letteratura non sono presenti studi approfonditi riguardanti questa tipologia di comportamenti in *Delphinapterus leucas* e, dunque, le considerazioni rimangono preliminari e da approfondire.

Per quanto riguarda, invece, l'analisi della correlazione tra i valori ormonali di progesterone e il comportamento di Yulka, è emersa essere presente una correlazione positiva molto alta con la categoria comportamentale BUBBLE RELATED BEHAVIOUR, in particolare con i display comportamentali *bubble mouth* (produzione di bolle dalla bocca), *bubble ring* (produzione di bolle a forma di anello dallo sfiatatoio), *bubble stream* (produzione di una scia di bollicine dallo sfiatatoio) e *bubble contact* (interazione di tipo tattile con le bolle).

Da ricerche bibliografiche non sono emersi studi che verifichino una relazione tra la produzione di bolle, e l'interazione con esse, con valori ormonali di progesterone o con attività di tipo sessuale, tuttavia in letteratura studi comportamentali sui delfini riportano la produzione di bolle come un comportamento manifestato in occasioni di eccitazione,

sorpresa o curiosità. In alternativa le bolle possono essere una componente aggiuntiva ad un messaggio vocale quando queste sono prodotte come una scia di piccole bollicine dallo sfiatatoio (*bubble stream*).

Anche per la produzione di bolle con forme più complesse, come ad esempio quelle prodotte durante il comportamento *bubble ring*, non sono stati trovati studi in letteratura che la correlino con i valori ormonali di progesterone. In letteratura questa particolare attività è relazionata ad un contesto di tipo giocoso (Marten *et al.*, 1996).

Questo risultato necessita di un ulteriore studio per poter identificare le possibili cause della correlazione tra comportamenti riguardanti la produzione di bolle e i valori di progesterone ed inoltre è opportuno considerare che l'animale in questione è stato inserito all'interno di un programma di inseminazione artificiale che potrebbe aver avuto influenzato le concentrazioni dei valori ormonali osservati e i relativi comportamenti.

In conclusione è necessario sottolineare che lo studio svolto su pochi soggetti ed in ambiente controllato, rappresentano sicuramente dei fattori limitanti per il presente lavoro ma è altresì vero che costituisce una grande opportunità per acquisire maggiore conoscenza sulla specie *Delphinapterus leucas*, poco rappresentata in acquario (es. solo due esemplari in Europa) rispetto ad altre specie come il tursiope, e presente in natura in areali spesso di difficile accesso come le zone artiche e subartiche.

In ambiente naturale, lo svolgimento di questo progetto, sarebbe stato impossibile, poiché l'artico polare, habitat di questa specie, presenta condizioni ambientali proibitive per poter svolgere uno studio di questo genere nel quale si analizzano contemporaneamente aspetti comportamentali, fisiologici ed endocrinologici.

Il monitoraggio di questa specie in ambiente controllato ha fornito l'opportunità di osservare gli esemplari anche quando questi si muovono all'interno della colonna d'acqua, grazie agli acrilici che forniscono una visione sottomarina, in modo da poter identificare anche i comportamenti svolti in profondità che purtroppo negli esemplari in ambiente naturale sono difficili da osservare così come seguire nel tempo gli andamenti di determinati parametri in individui noti.

All'interno dell'ambiente scientifico è costantemente aperto il dibattito sulla validità degli studi svolti in ambiente controllato. Alcuni Autori sostengono che i dati raccolti in

tali condizioni siano di scarsa utilità, in quanto gli ambienti confinati e diversi dall'habitat naturale, alterano fortemente il comportamento degli animali (Mainardi, 1997). Altri invece sostengono che i modelli comportamentali osservati in ambiente controllato siano affidabili per interpretare il comportamento osservato in condizioni naturali, sottolineando, comunque, la necessità di dover riscontrare le ipotesi derivate da questi studi con le osservazioni svolte in natura e confrontando ed integrando i risultati (Mann, 2000; Lehner, 1996).

Nel nostro caso l'opportunità di poter osservare e svolgere una ricerca etologica in parallelo ad uno studio fisiologico ed endocrinologico, assume maggiore rilevanza considerando che in Europa Kairo e Yulka sono gli unici due esemplari di *Delphinapterus leucas* mantenuti in ambiente controllato.

In conclusione, considerando l'esiguo numero di lavori specifici relativi alle tematiche proposte e alla completa assenza in letteratura di dati che correlino comportamento e valori ormonali in questa specie, è importante sottolineare come questa tesi acquisti valore almeno a livello di sforzo, poiché ha cercato di misurare con un metodo innovativo e non invasivo parametri ormonali di rilevanza come cortisolo, progesterone e testosterone, di quantificare sistematicamente il comportamento dei beluga e la loro attività respiratoria e di correlare questi aspetti in maniera scientifica.

Questo approccio multidisciplinare potrebbe evidenziare, dunque, caratteristiche legate alle necessità del benessere di questa specie, senza trascurare il fatto che ciascun individuo ha le proprie peculiarità legate all'età, a situazioni fisiologiche specifiche, nonché a preferenze individuali e alla propria natura.

In conclusione i risultati osservati forniscono informazioni interessanti mentre gli spunti proposti possono rappresentare una base di partenza per ulteriori approfondimenti.

Futuri studi sono, quindi, auspicabili per accertare, confutare o consentire più ampie generalizzazioni degli esiti ottenuti e permettendo di acquisire maggiore conoscenza su *Delphinapterus leucas*.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- **Altmann, J., (1974).** Observational study of behavior: sampling methods. Behaviour 49: 227-267.
- **Barnes, L.G., (2002).** Cetacea, Overview. In: Encyclopedia of Marine Mammals. Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M., (Eds.). Academic Press, New York: 204-208.
- **Beck, B.B., (1977).** Kohler's chimpanzees – how did they really perform? Zoological Garten 47: 352-360.
- **Bel'kovich, V.M., Ivanova, E.E., Yefremenkova, O.V., Kozarovitsky, L.B., Kharitonov, S.P., (1991).** Searching and hunting behavior in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the Black Sea. In: Dolphin societies: discoveries and puzzles. Pryor K., Norris K.S., (Eds.), University of California Press, Berkeley: 38-67.
- **Bel'kovitch, V. M. and Sh'ekotov, M. N., (1993).** The belukha whale: Natural behavior and bioacoustics. Woods Hole, MA: Woods Hole Oceanographic Institute.
- **Beland, P., (1996).** The Beluga Whales of the St. Lawrence River. Sci. Am. 274: 74-81.
- **Boltunov, A. N. and Belikov, S. E., (2002).** Belugas (*Delphinapterus leucas*) of the Barents, Kara and Laptev seas. NAMMCO Scientific Publications 4: 149-168.

- **Brañger, S., (1993).** Diurnal and seasonal behavior patterns of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Mar. Mammal Sci.* 9 (4): 434–438.
- **Breazile, J.E., (1988).** The physiology of stress and its relationship to mechanisms of disease and therapeutics. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 4(3): 441-480.
- **Buholzer, L., Desportes, G., Siebert, U., Vossen., Anderson, K., Larsen., Teilmann J., Dietz R., Shephard G., (2001).** Cortisol levels in captive and wild harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) and effect of handling methods. *Proc. of the 50<sup>th</sup> Annual Conference of the European Cetacean Society, Italia, Roma* 36-369.
- **Caldwell, M.C. and Caldwell, D.F., (1972).** Behavior of marine mammals. In: *Mammals of the Sea.* Ridgway S. H. (Ed), Biology and Medecine, C.C. Thomas, Springfield: 419–465.
- **Connor, R.C. (1990).** Ethogram (Monkey Mia, Australia). WORKING PAPER FOR THE ECS WORKSHOP ON ETHOGRAMS. Lugano, Switzerland, February 1995. 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: 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.

- **Dawson, W.W., (1980).** The cetacean eye. In: Cetacean behavior: mechanisms and functions. Herman, L. M. (Ed.). John Wiley and Sons, Inc., New York: 53-100.
- **Delfour, F., Aulagnier, S., (1997).** Bubbleblow in beluga whales (*Delphinapterus leucas*): a play activity? Behav. Process 40: 183-186.
- **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, 198-201.
- **Di Paola, S., Akai, C., Kraus, B., (2007).** Experiencing belugas Action Selection for an Interactive Aquarium Exhibit. International society for Adaptive behaviour 15(1): 99-113
- **Drickamer, L.C. & Vessey, S.H., (1992).** Animal Behaviour. Wm. C. Brown Publishers, Dubuque, Iowa. 479 pp.
- **Dudzinski, K. M., Thomas, J. A., Douaze, E., (2002).** Communication. In: Encyclopedia of Marine Mammals. Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M. (Eds.). New York, Academic Press: 248-259.
- **Dudzinsky, K.M., (1996).** Communication and Behaviour in the Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*): relationships between vocal and behavioural activities. Dissertation thesis. Texas. Texas A&M University, College Station, TX: 215pp.
- **Dudzinsky, K.M., (1998).** Contact behavior and signal exchange in Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*). Aquatic mammals 24(3): 129-142.



- **Dudzinsky, K.M., Sakai, M., Masaki, K., Kogi, K., Hishii, T., Kurimoto, M., (2003).** Behavioral observation of bottlenose dolphins towards two dead conspecifics. *Aquatic mammals* 29(1): 108-116.
- **Eisner, T. and Wilson, E.O., (1975).** *Animal Behaviour: Readings from Scientific American*. Freeman, W.H. & Co., San Francisco: 339 pp.
- **Elsner, R., (2002).** Cetacean Physiology, Overview. In *Encyclopedia of Marine Mammal*. Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M. (Eds). Academic Press, San Diego: 225-228.
- **Esposti Appicino E., Bavestrello G., Tizzi R., Bavestrello G. (2005).** Etogramma di *Tursiops truncatus* (cetacea odontoceta) in ambiente controllato. Definizione ed applicazione nello studio dell'ontogenesi del comportamento. Tesi di laurea, corso di Laurea Specialistica in Biologia Marina, Facoltà di Scienze, anno accademico 2004-2005.
- **Fay, R. R., (1988).** Hearing in vertebrates: a psychophysics databook. Winnetka, IL. Hill-Fay Associates: 26-156.
- **Fordyce, R.E., (2002).** Cetacean Evolution. In: *Encyclopedia of Marine Mammals*. Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J.G.M. (Eds.). Academic Press, New York: 214-220.
- **Frost, K. J., and Lowry, L. F., (1990).** Distribution, abundance, and movements of beluga whales, *Delphinapterus leucas*, in costal waters of western Alaska. In: *Advances in Research on the Beluga Whale, Delphinapterus leucas*. Smith, T.G., St. Aubin, D.J., Geraci, J. R. (Eds). Can. Bull. Fish. Aquat. Sci. 224: 39-57.

- **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.
- **Gaskin, D.E., (1982).** *The Ecology of Whales and Dolphins.* Heinemann, London: 459 pp.
- **Griebel, U. and Peichl, L., (2003).** Colour vision in aquatic mammals—facts and open questions. *Aquatic Mammals* 29(1): 18–30.
- **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(2) 85-99.
- **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.
- **Hinde, R.A., (1975).** The concept of function. In: *Function and Evolution in Behaviour.* Baerends, G., Beer, C. & Manning, A. (Eds.). Clarendon Press, Oxford: 3-15.
- **Hoffman, H.S. and Ratner, A.M., (1973).** A reinforcement model of imprinting: implications for socialization in monkeys and man. *Psych.Rev.* 80(6): 527-544.
- **Hogg, C.J., Vickers, E.R., Roger, T.L., (2004).** Determination of testosterone in saliva and blow of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) using liquid chromatography-mass-spectrometry. *Jour. Chromatogr.* 814: 339-346
- **Hui, C.A., (1989).** Surfacing behavior and Ventilation in Free-Ranging Dolphins. *Jour. Mamm.* 70(4): 833-835.

- **Hutt, S. J., and Hutt., C., (1970).** Direct observation and measurement of behaviour. Charles C. Thomas, Springfield, IL.
- **Johnson, C.M. and Norris, K.S., (1994).** Social Behavior. In: The Hawaiian Spinner Dolphin. Norris, K.S., Würsig, B., Wells, R.S., Würsig, M. (Eds). University of California Press, Berkeley and Los Angeles: 243-286.
- **Jürimäe, J., Jürimäe, T., Purge, P., (2007).** Plasma Ghrelin is altered after maximal exercise in elite male rowers. *Exp. Bio. Med.* 232(7): 904-909.
- **Karczmarski, L., Thornton, M., Cockcroft, V.G., (1997).** Description of the selected behaviours of humpback dolphins (*Sousa chinensis*). *Aquatic mammals* 23(3): 127-133.
- **Katsumata, E., Furuta, C., Katsumata, H., Watanabe, G. and Taya, K., 2006.** Basal body temperature method for detecting ovarian cycle in the captive beluga (*Delphinapterus leucas*). *J.Reprod. Dev.* 52: 59-63.
- **Katsumata, E., Ueda, Y., Arai, K., Katsumata, H., Kishimoto, M., Watanabe, G., Taya, K., (2010).** Circulating testosterone and inhibin levels at different ages in the male beluga (*Delphinapterus leucas*). *J Vet Med Sci.* 74(3): 293-300.
- **Kelly, J.G., (1967).** Naturalistic observations and theory confirmation: an example. *Hum. Dev.* 20: 212-222.
- **Kelly, J.G., (1969).** Naturalistic observations in contrasting social environments. In: *Naturalistic Viewpoints in Psychological Research.* Willems, E.P. & Rausch, H.L. (Eds.). pp. 183-199. Holt, Rinehart and Winston, New York: 294 pp.

- **Kleinberg, S. E., Yablokov, A. V., Bel'kovich, B. M., and Tarasevich, M. N., (1964).** Beluga (*Delphinapterus leucas*): Investigation of the Species. Academy of Science of the USSR, Moscow.
- **LeDuc, R.G., Perrin, W. F., and Dizon, A. E., (1999).** Phylogenetic relationship among the delphinid cetaceans based on full cytochrome b sequences. *Mar. Mamm. Sci.* 15: 619-648.
- **Lehner, P.N., (1996).** Handbook of ethological methods. Cambridge University Press, Cambridge: 672 pp.
- **Lint, D. W., Clayton, J. W., Lillie, W. R., Postma, L., (1990).** Evolution and systematics of the beluga whale, *Delphinapterus leucas*, and other odontocetes: A molecular approach. In: *Advances in Research on the Beluga whale, Delphinapterus leucas*. Smith, T.G., St. Aubin, D.J., Geraci, J. R. (Eds). *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* Vol. 224: 7-22.
- **Lorenz, K., (1960).** Methods of approach to the problems of behaviour. In: *The Harvey Lectures 1958-1959*. Academic Press, New York: 60-103.
- **Lovallo, W.R., (1997).** Physiological regulation during physical and psychological stress. In *Stress and Health: Behavioral and Psychological Interactions*. Lovallo, W.R. (Ed.). Sage Publications, Thousand Oaks, CA: 55-74.
- **Mainardi, D., (1997).** Dizionario di etologia. Einaudi editore.
- **Mann, J. and Smuts, B., (1999).** Behavioral developments in wild bottlenose dolphin newborns (*Tursiops sp.*). Reprinted from: *Behaviour* 136: 5. Brill-P.D.B. 9000-2300 PA Leiden. The Netherlands.
- **Mann, J., (1999).** Behavioral sampling methods for cetaceans: A review and a critique. *Marine Mammal Science* 15: 102-122.

- **Mann, J., (2000).** Unrevealing animal social structure: long-term studies and observational methods. In: Cetacean Societies. Mann, J., Connor, R.C., Tyack, P.L., Whitehead, H. (Eds.). University of Chicago Press, Chicago: 45-64.
- **Marten, K., Shariff, K., Psarakos, S., White, D.J., (1996).** Ring bubbles of dolphins. *Sci. Am.* 275(2): 82-87.
- **Martin, A. R., Smith, T. G., Cox, O. P., (1998).** Dive form and function in belugas *Delphinapterus leucas* of the eastern Canadian High Arctic. *Polar Biol.* 20: 218-228.
- **Martin, P. and Bateson, P., (1986).** Measuring Behaviour: An introductory Guide. Cambridge University Press, Cambridge: 222 pp.
- **Martinez, D.R. and Klinghammer, E., (1978).** A partial ethogram of the killer whale (*Orcinus orca* L.). *Carnivore* 3: 13-27.
- **Matishov, G.G. and Ognetrov, G.N., (2001).** White whale (*Delphinapterus leucas*) of the Russia Arctic seas: biology, ecology, protection and exploitation of resources. Publications Section, CAC plc (Ed.). Marand A. G., Spain, Madrid: 302pp.
- **McFarland, D., (1976).** How animal behaviour became a science. *New Science* 72.1027: 376-379.
- **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.

- **Motta, M. and Degli Esposti, A., (1981).** A computer program for mathematical treatment of data in radio immuno assay. *Comput. Prog. Biomed.* 13:121-129.
- **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): 89-104.
- **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): 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. and Lien, J., (1994).** Behaviour patterns of two Atlantic white-sided dolphins, (*Lagenorhynchus acutus*). *Aquatic Mammals* 20(1): 1-10.
- **Notarbartolo di Sciara, G., Demma, M., (1994).** Guida dei mammiferi marini del Mediterraneo. Franco Muzzio & C. Editore, Padova: 262 pp.
- **O’Corry-Crowe, G. M. (2009).** Beluga whales. In: *Encyclopedia of marine mammals*. Perrin, W.F., Würsig, B., Thewissen, J. G. M. (Eds.). Academic Press, San Diego, Calif.: 108-112.
- **Ortiz, R.M. and Worthy, G.A., (2000).** Effect of capture on adrenal steroid and vasopressin concentration in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 125(3): 317-324.
- **Ostman J.S.O. & Folkens P.A. (1996).** A vocabulary to describe cetacean behavior. University of California, Santa Cruz: 26 pp.

- **Ostman, J.S.O. and Folkens, P.A., (1996).** A vocabulary to describe cetacean behavior. University of California, Santa Cruz: 26 pp.
- **Pace D. S. (2009).** I cetacei del Mediterraneo e la loro conservazione. In: Atti del 35° seminario sulla Evoluzione biologica e i grandi problemi della biologia. La biodiversità. Accademia Nazionale dei Lincei: 51-85.
- **Pace, D.S., (2000).** Fluke-made bubble rings as toys in bottlenose dolphin calves (*Tursiops truncatus*). Aquatic mammals 26(1): 57-64.
- **Poli, A. and Fabbri, E., (2012).** Fisiologia degli animali marini. EdiSES (Ed): 512pp.
- **Pryor, K. and Kang Shallenberger, I., (1991).** Social structure in spotted dolphins (*Stella attenuata*) in the Tuna Purse Seine Fishery in the Eastern Tropical Pacific. In: Dolphin societies. Pryor, K. and Norris, K.S (Eds). University California Press, Berkeley: 161–198.
- **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: 537-544.
- **Randall, D., Burggren, W., French, K., (1999).** Fisiologia Animale, meccanismi e adattamenti. Zanichelli (Ed): 944pp.
- **Ray, R.D., Carlson, M.L. and Carlson, M.A., (1986).** Behavioral and respiratory synchronization quantified in a pair of captive killer whales. In: Behavioral biology of killer whales. Ray R.D. (Ed). Academic Press, New York, pp. 187–209.
- **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(1): 39-45.

- **Richard, P. R., Martin, A. R., Orr, J. R., (1997).** Study of summer and fall movements and dive behaviour of Beaufort Sea belugas, using satellite telemetry: 1992-1995. Environ. Stud. Res. Funds 134: 38pp.
- **Richardson, W.J., (1995).** Marine mammal hearing. In: Marine mammals and noise. Richardson, W.J., Greene, C.R., Malme, C.I., Thomson, D.H. (Eds.). Academic Press, San Diego, Calif.: 205-240.
- **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.
- **Sackett, G.P., (1978).** Measurement in observational research. In: Observing Behaviour. Vol. 2. Data collection and Analyses Methods. Sackett, G.P. (Ed.). University Park Press, Baltimore, MD: 25-45.
- **Samuels, A. and Gifford, T., (1997).** A quantitative assessment of dominance relations among bottlenose dolphins. Marine Mammal Science 14(1): 70-99.
- **Samuels, A. and Gifford, T., (1997).** A quantitative assessment of dominance relations among bottlenose dolphins. Mar. Mamm. Sci. 14(1): 70-99.
- **Sangalang, G.B. and Freeman, H.C., (1976).** Steroids in the plasma of the gray seal (*Halichoerus grypus*). Gen. Comp. Endocrinol. 29: 419-422.
- **Schmitt, T.L., St. Aubin, D.J., Schaefer, A.M., Dunn, J.L., (2010).** Baseline, diurnal variation, and stress-induced changes of stress hormones in three captive beluga whales, *Delphinapterus leucas*. Mar. Mammal. Sci. 26(3): 635-647.
- **Seaman, G. A., Lowry, L. Frost, K. J., (1982).** Foods of belukha whales (*Delphinapterus leucas*) in Western Alaska. Cetology 44: 1-19.



- **Sekiguchi, Y. and Kohshima, S., (2003).** Resting behavior of captive bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *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: 1-20.
- **Sergeant, D.E. and Brodie D.F., (1969).** Body size in white whales, *Delphinapterus leucas*. *Journal of fisheries. Research Board of Canada* 26(10): 2561-80.
- **Shane, S.H., (1990).** Behavior and ecology of the bottlenose dolphin at Sanibel Island, Florida. In: *The bottlenose dolphin*. Latherwood, S., Reeves, R.R. (Eds), Academic press: 245-265.
- **Sherwood, L., Klandorf, H., Yancey, P., (2006).** *Fisiologia degli animali, dai geni agli organismi*. Zanichelli (Ed).
- **Slijper, B.E., (1976).** *Whales and dolphins*. Springer, Berlin: 171 pp.
- **Slooten, E., (1994).** Behavior of the Hector's dolphin: classifying behaviour by sequence analysis. *Journal of Mammalogy* 75(4): 956-964.
- **Smith T. G., St. Aubin, D. J., Hammil, M. O., (1992).** Rubbing behaviour of belugas, *Delphinapterus leucas*, in a High Arctic estuary. *Can. J. Zool.* 70: 2405-2409.
- **Smith, T. G., St. Aubin, D. J., Geraci, J. R., (1990).** Seasonal epidermal molt in beluga whales, *Delphinapterus leucas*, in the Canadian high Arctic. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 51: 1653-1666.

- **St. Aubin, D. J., Smith, T. G., Geraci, J. R., (1990).** Seasonal epidermal motl in beluga whales, *Delphinapterus leucas*. *Can. J. Zool.* 68: 359-367.
- **St. Aubin, D.J. and Dierauf, L.A, (2001).** Stress and Marine Mammals. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine, 2<sup>nd</sup> (ed).* Dierauf L.A., Gulland F.M.D, (Eds). CRC Press, Boca Ranton: 253-269.
- **St. Aubin, D.J., (2001).** Endocrinology. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine, 2<sup>nd</sup> (ed).* Dierauf, L.A., Gulland. F.M.D, (Eds). CRC Press, Boca Ranton: 165-192.
- **St. Aubin, D.J., Ridgway, S.H., Wells, R.S., Rhinehart, H., (1996).** Dolphin thyroid and adrenal hormones: circulating levels in wild and semidomesticated *Tursiops truncatus*, and influence of sex, age, and season. *Mar. Mammal. Sci.* 12(1): 1-13.
- **Suydam, R. S., Lowry, L. F., Frost, K. J., O’Corry-Crowe, G. M., Pikok D., Jr., (2001).** Satellite tracking of eastern Chukchi Sea beluga whales in the Artic Ocean. *Artic* 54: 237-43.
- **Sylvestre, J.P., (1985).** Some observations on the behavior of two Orinco Dolphins (*Inia geoffrensis humboldtiana*), (Pilleri and Gihl 1977), in captivity, at Duisburg Zoo. *Aquatic mammals* 11(2): 58-65.
- **Tamanini, C., Giordano, N., Chiesa, F., Seren E., (1983).** Plasma cortisol variations induced in the stallion by mating. *Acta Endocrinologica* 102: 447-450.
- **Tavolga, M.C. and Essapian, F.S., (1957).** The behavior of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*): mating, pregnancy, parturition and mother-infant behavior. *Zoologica* 42(1): 11-31.
- **Tayler, C.K. and Saayman, G.S., (1972).** The social organization and

behaviour of dolphins (*Tursiops truncatus*) and baboons (*Papio ursinus*): some comparisons and assessments. *Ann. Cape Provincial Mus. (Nat. Hist.)* 9 (2): 11–49.

- **Thomson, C.A. and Geraci, J.R., (1986).** Cortisol, aldosterone, and leucocytes in the stress response of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 43: 1010-1016.
- **Tinbergen, N., (1963).** On aims and methods of ethology. *Z. Teirsyichol.Bieh.* 20: 410-433.
- **Tizzi, R., Accorsi, P.A., Azzali M., (2010).** Non-invasive Multidisciplinary Approach to the Study of Reproduction and Calf Development in Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*): The Rimini Delfinario Experience. *International Journal of Comparative Psychology* 23: 734-776.
- **Turl, C. W., (1990).** Echolocation abilities of the beluga, *Delphinapterus leucas*: A review and comparison with the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences* 224: 119–28.
- **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.
- **Yablokov, A.V., Bel'kovich, V.M. and Borisov, V.I., (1974).** Behavior. In: Report U.S. Department Commerce National Technical Information Service, Whales and Dolphins, part 2., Arlington :352–376.

## RINGRAZIAMENTI

*Innanzitutto vorrei ringraziare la Professoressa Elena Fabbri per avermi dato l'opportunità di svolgere questo progetto, avermi seguito con tanta pazienza e consigliata in tutto questo periodo.*

*Un ringraziamento speciale a Raffaella Tizzi, che è stata una guida fondamentale e un supporto per poter svolgere questa ricerca al meglio. Mi hai fornito gli strumenti e le conoscenze grazie alle quali sono riuscita a portare a termine questa tesi, incoraggiandomi in tutto il mio percorso.*

*Ringrazio il Professor Pier Attilio Accorsi per tutto il supporto tecnico, statistico e per avermi dato l'opportunità di lavorare in laboratorio imparando nuove tecniche di analisi.*

*Un grazie di cuore a tutta la mia famiglia, il mio sostegno e la mia "casa". Per avermi aiutato a realizzare questo sogno che in realtà è tutta "colpa" dei sogni notturni di papà! Grazie Mamma e grazie Papà, siete sempre stati al mio fianco, incoraggiandomi, spronandomi e credendo in me. Grazie Chiara perché tu fai sempre la parte della sorella maggiore e questo per me vuol dire molto.*

*Un enorme grazie va a Gabriella, la mente di questo progetto; senza la tua costante volontà e impegno non ce l'avremmo mai fatta. Grazie per tutto l'aiuto che mi hai dato, per mille telefonate che ci siamo fatte, per i pranzi a casa tua, per avermi ospitato e per tutti i bei momenti passati insieme. Per avermi insegnato lo spagnolo e per essere stata un'amica in tutti questi mesi.*

*Un grazie a tutte le persone che hanno partecipato al progetto in sede spagnola: Esteban, Silvia, Dario, Felipe, Ivan, a tutti gli addestratori e addestratici dell'Artico e a tutto lo staff dell'Oceanografico di Valencia per averci accolto e offerto questa grande*

*opportunità. Un grazie speciale va anche a Kairo e Yulka che con i loro sguardi curiosi e la loro presenza hanno reso meno pesanti tutte le ore di osservazioni.*

*Ringrazio tutti i miei compagni di corso, con i quali ho trascorso questi due anni in allegria e compagnia. E come non ringraziare Monica, Mattia, Ennio, Andrea, Lucia e Giulia (ormai sei praticamente una biologa marina pure tu!) per tutti i bei momenti passati insieme, per le serate e per tutte le piadine che ci siamo mangiate! Siete come una seconda famiglia per me qui in Romagna!*

*LUCIA GRAZIE! (non potevo occupare due pagine) veramente di cuore ti ringrazio per tutto l'aiuto, il supporto, i passaggi in macchina, la spesa, le pause alle macchinette e per la tua amicizia.*

*Grazie a tutti i miei amici di vecchia data, Irene, Lollo, Elena e Cristina per esserci sempre stati anche a distanza e per avermi sempre fatto sorridere e pensare che la vera amicizia dura anche se seguiamo percorsi diversi.*

*Infine un grazie di cuore è per Marcello che mi ha sempre capita e tranquillizzata in tutti quei momenti in cui ne avevo bisogno. Grazie per essere al mio fianco nonostante la distanza e per essere il mio migliore amico e compagno.*