

Ημερήσια διακύμανση των ρυθμών κατανάλωσης οξυγόνου και απέκκρισης αμμωνίας στο κοινό χταπόδι

Δήμητρα Πέτζα, Στέλιος Κατσανεβάκης, Γιώργος Βερροϊόπουλος

Τομέας Ζωολογίας-Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, ΕΚΠΑ

Πανεπιστημιούπολη, Αθήνα 157 84

E-mail: gverriop@biol.uoa.gr/skatsan@biol.uoa.gr

ABSTRACT

Dimitra Petza, Stelios Katsanevakis, George Verriopoulos: Diurnal variation of oxygen consumption and ammonia excretion rates of the common octopus (*Octopus vulgaris*).

Oxygen consumption rate (R) and ammonia excretion rate (U) of the common octopus, *Octopus vulgaris* were studied during 24-hour periods. The experimental study was carried out in a closed seawater system, under steady conditions (20°C temperature, 38.5±0.2 psu salinity, 7.8-8.1 pH). Octopuses were fed *ad libitum* once per day with frozen anchovy. The rise and fall of oxygen consumption and ammonia excretion, which followed the meals, were monitored in a 24-hour basis. In particular, ammonia excretion peak (6 hours after feeding) followed the one of oxygen consumption (1hour after feeding). The values of oxygen per nitrogen (O:N) ratio indicated a protein-dominated metabolism for *O. vulgaris*.

Keywords: *Octopus vulgaris*, oxygen consumption rate, ammonia excretion rate, O:N ratios.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797), κοινό χταπόδι (common octopus), είναι αρκετά συνηθισμένο στους ελληνικούς βυθούς και αποτελεί ένα από τα πιο μελετημένα Κεφαλόποδα. Εκτενείς μελέτες έχουν διενεργηθεί για την οικολογία (Κατσανεβάκης 2004), τη βιολογία, τη φυσιολογία, τη συμπεριφορά (Mangold 1983) και το μεταβολισμό (Wells *et al.* 1983α, 1983β) του είδους. Αρκετές έρευνες επικεντρώθηκαν στη διατροφή, τις διατροφικές συνήθειες, την αύξηση και την αναπαραγωγή του (Mangold & Boletzky 1973, Mangold 1983). Υπάρχει έντονο ενδιαφέρον τις τελευταίες δεκαετίες για την επίτευξη εντατικής εκτροφής του *O. vulgaris*.

Αρκετές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με τους παράγοντες, που επηρεάζουν τους ρυθμούς κατανάλωσης οξυγόνου και απέκκρισης αμμωνίας στο *O. vulgaris*. Συγκεκριμένα ο ρόλος της θερμοκρασίας και της μάζας στους ρυθμούς κατανάλωσης οξυγόνου και απέκκρισης αμμωνίας μελετήθηκαν από τους Katsanevakis *et al.* (2005), ενώ οι Wells *et al.* (1983α, 1983β) αναφέρθηκαν στην επίδραση της χορηγούμενης τροφής και της δραστηριότητας των ζώων στον ρυθμό κατανάλωσης οξυγόνου. Αντικείμενο της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της μεταβολής των ρυθμών κατανάλωσης οξυγόνου και απέκκρισης αμμωνίας κατά τη διάρκεια του εικοσιτετράωρου.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Έξι πειραματόζωα του *O. vulgaris* βάρους 114 έως 642 g, συλλέχθηκαν με ελεύθερη και αυτόνομη κατάδυση από το Σαρωνικό Κόλπο τον Οκτώβριο του 2003. Αμέσως μετά τη συλλογή τους τα ζώα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία, στα οποία χορηγούταν επαρκής αερισμός με φορητές αεραντλίες έως τη μεταφορά τους στο εργαστήριο, όπου τοποθετήθηκαν ξεχωριστά το καθένα σε δεξαμενές των 110 lt, συνδεδεμένες με κλειστό κύκλωμα θαλασσινού νερού, συνολικού όγκου 2000 lt. Το κλειστό κύκλωμα και το σύστημα ανακύκλωσης περιγράφονται λεπτομερειακά από τον Κατσανεβάκη (2004). Τα πειραματόζωα, πριν από τη διεξαγωγή των πειραμάτων, υποβλήθηκαν σε εγκλιματισμό για ένα μήνα, προκειμένου να προσαρμοστούν στο καινούργιο περιβάλλον και να συνηθίσουν ως τροφή τον κατεψυγμένο γάυρο (*Engraulis encrasicolus*), που τους χορηγούταν την περίοδο αυτή σε ποσότητα 3% του σωματικού τους βάρους μία φορά την ημέρα (στις 13:00).

Κατά την περίοδο διεξαγωγής των πειραμάτων, η θερμοκρασία διατηρήθηκε στους $20,0 \pm 0,5$ °C, η αλατότητα στα $38,5 \pm 0,2$ psu και το pH κυμάνθηκε μεταξύ 7,8 και 8,1. Εφαρμόστηκε φωτοπερίοδος 12h φως - 12h σκοτάδι, με περίοδο φωτός από 7:00 π.μ. έως 7:00 μ.μ. Προκειμένου να περιορισθεί το στρες, τοποθετήθηκε σε κάθε δεξαμενή από ένα πλαστικό θαλάμι, οι πλευρές των δεξαμενών καλύφθηκαν εξωτερικά με μαύρο αυτοκόλλητο κάλυμμα και δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή ώστε ο λόγος του όγκου του νερού της δεξαμενής προς το βάρος του ζώου να είναι μεγαλύτερος από 50 lt kg^{-1} .

Για κάθε πειραματόζωο πραγματοποιήθηκαν μέσα σε χρονικό διάστημα 10 ημερών, 3 εικοσιτετράωρες μετρήσεις του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου (R σε mg h^{-1}) και του ρυθμού απέκκρισης αμμωνίας (U σε $\mu\text{mole h}^{-1}$). Κάθε εικοσιτετράωρο διαιρέθηκε σε 16 διαστήματα 1h, στα οποία γίνονταν οι μετρήσεις, μεταξύ των οποίων παρεμβάλλονταν 16 διαστήματα ηρεμίας 0,5h. Στην έναρξη κάθε διαστήματος 1h η δεξαμενή του υπό πειραματισμού ζώου απομονωνόταν από το κλειστό κύκλωμα και επανασυνδεόταν στη λήξη του ίδιου διαστήματος. Τα χταπόδια ταΐζονταν καθημερινά σε κορεσμό στις 13:00, με κατεψυγμένο γαύρο (*Engraulis encrasicolus*).

Κατά τη διάρκεια των διαστημάτων 1h λαμβάνονταν από τη δεξαμενή δείγματα νερού όγκου 500ml ανά 15min και γινόταν μέτρηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου οξυγόνου, με πολαρογραφικό ηλεκτρόδιο οξυγόνου τύπου Cellox 325 WTW, συνδεδεμένο με καταγραφικό όργανο MultiLine P4, ενώ το δείγμα υποβαλλόταν σε αργή ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα. Μετά από κάθε μέτρηση το δείγμα νερού επέστρεφε αδιατάραχτο στη δεξαμενή με φυσική ροή. Στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση του οξυγόνου έπεφτε κάτω από $3,0 \text{ mg lt}^{-1}$, η μέτρηση διακοπτόταν πριν τη 1h, καθώς κάτω από τα $2,0 \text{ mg lt}^{-1}$ τα χταπόδια δείχνουν σημάδια στρες και η κατανάλωση οξυγόνου μειώνεται (Maginis & Wells 1969). Στην αρχή και το τέλος κάθε διαστήματος 1h λαμβάνονταν 3 δείγματα νερού όγκου 50 ml από κάθε δεξαμενή, σε πλαστικά δοχεία με πάμα, τα οποία καταψύχονταν αμέσως μετά τη λήψη τους. Μετά το πέρας του δεκαήμερου στα δείγματα έγινε προσδιορισμός της συγκέντρωσης της αμμωνίας, με εφαρμογή της αναλυτικής μεθόδου των Liddicoat *et al.* (1975) και υπολογίστηκε ο μέσος όρος από κάθε τριπλέτα δειγμάτων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο ρυθμός κατανάλωσης του οξυγόνου (R) εκτιμήθηκε από τη μείωση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο νερό των ενυδρείων. Όπως προκύπτει από τη βιβλιογραφία το οξυγόνο μειώνεται γραμμικά με το χρόνο (Maginniss & Wells 1969, Boucher-Rodoni & Mangold 1985), καθώς το κοινό χταπόδι είναι ρυθμιστής του αναπνευστικού του ρυθμού (metabolic regulator) μέχρι συγκέντρωσης οξυγόνου 2 mg lt^{-1} . Το (R) προσδιορίστηκε από την κλίση της ευθείας αναδρομής, που προσαρμόστηκε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων στα πειραματικά σημεία των μετρήσεων του περιεχόμενου οξυγόνου σε mg (που υπολογίστηκε πολλαπλασιάζοντας τη μετρούμενη συγκέντρωση του οξυγόνου του δείγματος με τον όγκο του ενυδρείου) στο ενυδρείο κάθε πειραματόζωου ως συνάρτηση του χρόνου (σε h), για κάθε διάστημα μέτρησης 1h.

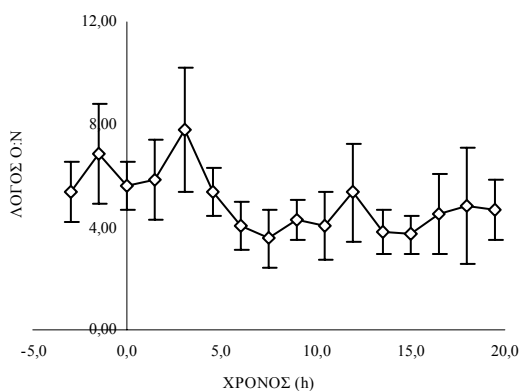
Η έκκριση της αμμωνίας στο *O. vulgaris* γίνεται γραμμικά με το χρόνο, κυρίως με διάχυση από τα βράγχια (Boucher-Rodoni & Mangold 1985). Ο ρυθμός απέκκρισης αμμωνίας (U) προσδιορίστηκε από τη διαφορά της αρχικής από την τελική συγκέντρωση αμμωνίας στο νερό της δεξαμενής, πολλαπλασιαζόμενη με τον όγκο της δεξαμενής και διαιρούμενη με το χρονικό διάστημα 1h.

Τα αποτελέσματα των R και U , για το *O. vulgaris* κατά τη διάρκεια του εικοσιτετράωρου, απεικονίζονται στην Εικ.1. Οι ρυθμοί εκφράζονται με τη μορφή R/R_0 και U/U_0 (όπου R_0 , U_0 οι ρυθμοί στο χρόνο 0) και αντιστοιχούν στο μέσο όρο των αντίστοιχων τιμών, που σημειώθηκαν στα τρία εικοσιτετράωρα και για τα έξι πειραματόζωα. Ο χρόνος μηδέν (0) αναφέρεται στο χρονικό διάστημα 12:00 με 13:00, 1h δηλαδή πριν το τάισμα των χταποδιών. Η χρησιμοποίηση των αδιάστατων λόγων R/R_0 και U/U_0 αντί των R και U είναι αναγκαία για να έχει νόημα η εξαγωγή μέσων όρων στους μεταβολικούς ρυθμούς διαφορετικών πειραματόζωων.

Το μέγιστο του R/R_0 βρέθηκε ίσο με $1,63 \pm 0,36$ κατά το χρονικό διάστημα 13:30 έως 14:30, δηλαδή στην πρώτη ώρα μετά το τάισμα. Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήγουν και οι Wells *et al.* (1983β) για χταπόδια του ίδιου είδους, που τρέφονταν με καβούρια μετά από περίοδο νηστείας, σε θερμοκρασία 19-24 °C. Η αύξηση της κατανάλωσης του οξυγόνου μετά την πρόσληψη της τροφής, συνδέεται με την επιπλέον ενέργεια, που απαιτείται, για τη μεταφορά της τροφής κατά μήκος του πεπτικού σωλήνα, την πέψη, την απορρόφηση και την μετα-μεταβολική της επεξεργασία (Jobling 1981).

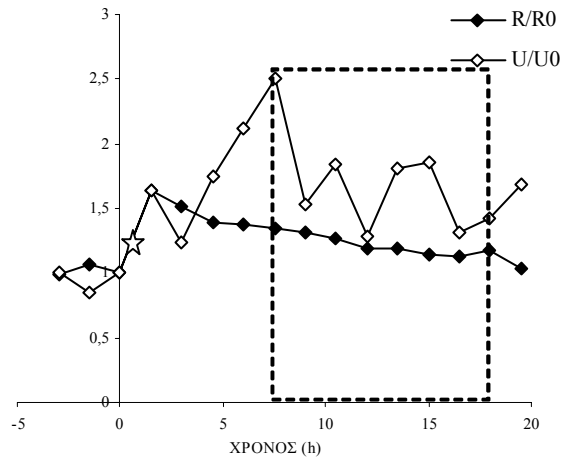
Στη συνέχεια το R/R_0 μειώνεται σταδιακά και σταθεροποιείται μετά τη χρονική στιγμή $t=15h$ έως το χρόνο $t=19,5h$, όπου σημειώνεται περαιτέρω μείωση. Αυτό πιθανότατα συνδέεται με τη μετάβαση από την περίοδο σκότους στην περίοδο φωτός (ο χρόνος $t=19,5h$ αντιστοιχεί στην περίοδο 7:30 π.μ. έως 8:30 π.μ. ενώ στις 7:00 π.μ. γινόταν η μετάβαση από το σκοτάδι στο φως), καθώς το κοινό χταπόδι *O. vulgaris* υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι δραστήριο τη νύχτα (Wells *et al.* 1983α).

Το μέγιστο $U/U_0 = 2.50 \pm 0.93$ σημειώθηκε στο χρόνο $t=7.5h$, έπεται δηλαδή κατά 6h περίπου του μέγιστου του R/R_0 . Η μη συγχρονισμένη εμφάνιση των μέγιστων των ρυθμών κατανάλωσης οξυγόνου και απέκκρισης αμμωνίας είναι φαινόμενο που συναντάται και σε άλλους ασπόνδυλους οργανισμούς, όπως στον *Jasus edwardsii*, αστακός του βράχου της Νέας Ζηλανδίας (New Zealand rock lobster) (Radford *et al.* 2004).



Εικ.2. Διακύμανση του λόγου Ο:Ν για το κοινό χταπόδι *O. vulgaris* κατά τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου. Ο χρόνος 0 αντιστοιχεί σε 1h πριν το τάισμα, δηλαδή στις 12:00 π.μ.. Οι κάθετες μπάρες αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση.

Fig.2. Oxygen nitrogen ratios variation of common *O. vulgaris* during a 24-hours period, that is to say 12:00 p.m. Time 0 represents 1h before feeding. The horizontal bars represent the standard deviation.



Εικ.1. Διακυμάνσεις του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου (R/R_0) και του ρυθμού έκκρισης αμμωνίας (U/U_0) για το κοινό χταπόδι *O. vulgaris* κατά τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου. Ο χρόνος 0 αντιστοιχεί σε 1h πριν το τάισμα, δηλαδή στις 12:00 π.μ. Το αστέρι αντιστοιχεί στη χρονική στιγμή του ταισίματος. Το κουτί αντιστοιχεί στην περίοδο σκότους.

Fig.1. Diurnal variation of oxygen consumption (R/R_0) and ammonia excretion (U/U_0) rates of the common octopus *O. vulgaris*. Time 0 represents 1h before feeding, that is to say 12:00 p.m. The star shows the feeding time. The box represents night period.

Η αύξηση του U μετά την πρόσληψη της τροφής, συνδέεται με την αφομοίωση των προϊόντων της πέψης. Ιστολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η μέγιστη απορρόφηση λαμβάνει χώρα 1½ έως 3 h μετά την χορήγηση της τροφής (Boucher-Rodoni & Mangold 1977). Αυτό επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, καθώς ο μέγιστος ρυθμός έκκρισης της αμμωνίας, η οποία αποτελεί προϊόν μεταβολισμού των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων (που προσλαμβάνονται με την τροφή) σημειώθηκε σε χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 3h από το τάισμα (6h).

Για κάθε πειραματόζωο υπολογίστηκε και ο λόγος οξυγόνο προς άζωτο (O:N), ως το πηλίκο R ($\mu\text{mol h}^{-1}$)/ U ($\mu\text{mol h}^{-1}$), ο οποίος χρησιμοποιείται ως

δείκτης για την εκτίμηση της πηγής ενέργειας του καταβολισμού. Στην Εικ.2 δίνεται συνολικά η μέση τιμή του λόγου O:N για τα έξι ζώα, κατά τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου. Η τιμή του λόγου O:N κυμάνθηκε από 3,6 έως 7,8 με μέση τιμή ίση με $5,0 \pm 1,17$. Επειδή ο λόγος O:N βρέθηκε στην περιοχή μεταξύ 3 και 15, φαίνεται ότι το κοινό χταπόδι *O. vulgaris* χαρακτηρίζεται από τον καταβολισμό πρωτεϊνών σύμφωνα με τους Mayzaud and Conover (1988), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τους Katsanevakis et al. (2005). Η μέγιστη τιμή του λόγου σημειώθηκε στη δεύτερη ώρα μετά το τάισμα, ενώ στη συνέχεια ο λόγος μειώνεται απότομα και διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα. Επειδή η τιμή του λόγου O:N εξαρτάται από τον τύπο της τροφής, είναι πιθανό κάτω από διαφορετικές διατροφικές συνθήκες να σημειώνονταν διαφορετικές τιμές του λόγου. Πράγματι, έχουν σημειωθεί υψηλές τιμές του λόγου O:N (7.19 και 14.5) για δύο άτομα του *O. vulgaris*, που τρέφονταν με ζωντανά καβούρια (Boucher-Rodoni & Mangold 1985).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Boucher-Rodoni R. & K. Mangold, 1977. Experimental study of digestion in *Octopus vulgaris* (Cephalopoda Octapoda). *Journal of Zoology London*, 183: 505-515.
- Boucher-Rodoni R. & K. Mangold, 1985. Ammonia excretion during feeding and starvation in *Octopus vulgaris*. *Marine Biology*, 86: 193-197.
- Jobling M., 1981. The influences of feeding on the metabolic rate of fishes. A short review. *Journal of Fish Biology*, 18: 385-400.
- Κατσανεβάκης Σ., 2004. Οικολογία του *Octopus vulgaris*. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 100 p.
- Katsanevakis S., S. Stephanopoulou, H. Miliou, M. Moraitou-Apostolopoulou & G. Verriopoulos, 2005. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Octopus vulgaris* Curvier (Cephalopoda) in relation to body mass and temperature. *Marine Biology*, 146: 725-732.
- Liddicoat M.I., S. Tibbits & E.I. Butler, 1975. The determination of ammonia in seawater. *Limnology and Oceanography*, 20: 131-132.
- Maginniss L.A. & M.J. Wells, 1969. The oxygen consumption of *Octopus cyanea*. *Journal of Experimental Biology*, 51: 607-613.
- Mangold K., 1983. *Octopus vulgaris*. In: Boyle P.R., editor. *Cephalopod Life Cycles*, Vol.I Species Accounts. Academic Press, London. pp. 335-364.
- Mangold K. & S. Boletzky, 1973. New data on reproductive biology and growth of *Octopus vulgaris*. *Marine Biology*, 19: 7-12.
- Mayzaud P. & R.J. Conover, 1988. O/N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology-Progress Series*, 45: 289-302.
- Radford C.A., I.D. Marsden & W. Davison, 2004. Temporal variation in the specific dynamic action of juvenile New Zealand rock lobster, *Jasus edwardsii*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part A 139: 1-9.
- Wells M.J., R.K. O'Dor, K. Mangold & J. Wells, 1983a. Diurnal changes in activity and metabolic rate in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology*, 9: 275-287.
- Wells M.J., R.K. O'Dor, K. Mangold & J. Wells, 1983b. Feeding and metabolic rate in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology*, 9: 305-317.