

Μεταβολικοί ρυθμοί του κοινού χταποδιού (*Octopus vulgaris*)

Στέλιος Κατσανεβάκης¹, Νίκος Προτόπαπας¹, Σοφία Στεφανοπούλου¹, Ελεάνα Μήλιου², Μαρία Αποστολοπούλου¹, Γιώργος Βερροϊόπουλος¹

¹Τομέας Ζωολογίας – Θαλάσσιας Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Πανεπιστημιούπολη, 157 84 Αθήνα. e-mail: stelios@katsanevakis.com

²Εργαστήριο Εφηρμοσμένης Υδροβιολογίας, Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Βοτανικός, 118 55 Αθήνα. e-mail: elenmi@aua.gr

ABSTRACT

Stelios Katsanevakis, Nikos Protopapas, Sofia Stephanopoulou, Helen Miliou, Maria Apostolopoulou, George Verriopoulos: Metabolic rates of the common octopus (*Octopus vulgaris*).

The combined effects of temperature (T) and body mass (M) on the routine oxygen consumption rate (R) and ammonia excretion rate (U) in *O. vulgaris* were quantified. The experiments were conducted in a closed seawater system. The following predictive equations were evaluated:

$$R(\mu\text{mol} / \text{hr}) = e^{25.24 - 6952.8/T_a} \cdot M^{0.901} \quad \text{at temperatures between } 13\text{-}28^\circ\text{C} \quad \text{and}$$

$$U(\mu\text{mol} / \text{hr}) = e^{14.77 - 4324.7/T_a} \cdot M^{0.896} \quad \text{at temperatures between } 15.5\text{-}26^\circ\text{C} \quad (T_a \text{ is degrees Kelvin}$$

and M in gram). O/N ratios showed that *O. vulgaris* has a protein-dominated metabolism. No significant relationship between the O/N ratio and body mass or temperature was found. For other octopod species, the dependence of metabolic rate on temperature does not differ with that for *O. vulgaris*. The effect of temperature on the specific dynamic action (SDA) of the common octopus, *Octopus vulgaris*, was evaluated, by measuring the temporal pattern of oxygen consumption rates of octopuses, after feeding, at two constant temperatures, 20°C and 28°C. At 20°C, the relative increase in the oxygen consumption rate after feeding (relative SDA) was significantly greater than at 28°C. The peak of the relative SDA occurred 1hr after feeding, and it was 64% at 20°C and 42% at 28°C. However, the SDA absolute peak, SDA duration (9.5h) and SDA magnitude (the integrated postprandial increase in oxygen uptake) did not differ significantly between the two temperatures, indicating that the energetic cost of feeding was the same at both temperatures.

Keywords: allometric scaling law, ammonia excretion rate, metabolism, *Octopus vulgaris*, oxygen consumption rate, specific dynamic action, temperature

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το είδος *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797), κοινό χταπόδι (common octopus), είναι από τα πιο μελετημένα Κεφαλόποδα. Σημαντική έρευνα έχει γίνει στη βιολογία, φυσιολογία και συμπεριφορά του είδους (Mangold 1983). Τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονο ενδιαφέρον για την εκτροφή του είδους και σημαντικά βήματα έχουν γίνει προς αυτή την κατεύθυνση (Vas-Pirez *et al.* 2004). Η εκτροφή του *O. vulgaris* έχει εμπορικό ενδιαφέρον λόγω των υψηλών ρυθμών αύξησης, της καλής μετατρεψιμότητας της τροφής αλλά και της υψηλής του τιμής. Ωστόσο, τα χαμηλά ποσοστά επιβίωσης των προνυμφών παραμένουν το σημαντικότερο εμπόδιο για την εκτροφή του είδους.

Για τον υπολογισμό του ενεργειακού ισοζυγίου του χταποδιού, είναι απαραίτητος ο υπολογισμός των ρυθμών κατανάλωσης οξυγόνου R και απέκκρισης αμμωνίας U σε σχέση με τη σωματική μάζα M και τη θερμοκρασία T , ωστόσο δεν υπάρχει δημοσιευμένη μελέτη που να δίνει τις σχέσεις R (ή U) = $f(M, T)$. Στην παρούσα εργασία υπολογίζονται οι εν λόγω σχέσεις αναδρομής όσον αφορά στον 'συνήθη' μεταβολισμό του χταποδιού. Επίσης, γίνεται μέτρηση της 'ειδικής δυναμικής δράσης' (SDA), δηλαδή της αύξησης του αναπνευστικού ρυθμού λόγω της διατροφής, που οφείλεται στο σύνολο των μηχανικών, φυσιολογικών και βιοχημικών διαδικασιών που συνιστούν τη διατροφή.

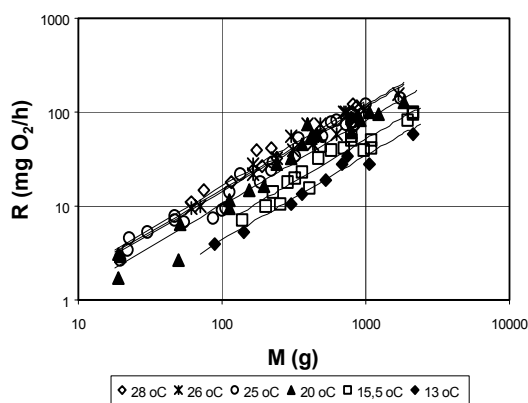
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η συλλογή των πειραματοζώων έγινε με αυτόνομη και ελεύθερη κατάδυση στον Σαρωνικό Κόλπο από τον Απρίλιο 2000 έως τον Ιούνιο 2003. Τα πειραματόζωα μεταφέρθηκαν στα δύο κλειστά κυκλώματα θαλασσινού νερού του Τομέα Ζωολογίας – Θαλάσσιας Βιολογίας, τα οποία περιγράφονται αναλυτικά από τον Κατσανεβάκη (2004). Τα πειράματα έγιναν σε 6 θερμοκρασίες για την εκτίμηση του $R=f(M,T)$, σε 4 θερμοκρασίες για την εκτίμηση του $U=f'(M,T)$, και σε 2 θερμοκρασίες για την εκτίμηση του SDA. Σε κάθε περίπτωση, για να αποφευχθεί το θερμικό στρες και μεγάλοι χρόνοι εγκλιματισμού, η θερμοκρασία των πειραμάτων δεν διέφερε πάνω από 2 °C από την εκάστοτε επιφανειακή θερμοκρασία της θάλασσας. Υπήρχε φωτοπερίοδος 12L:12D και η αλατότητα του νερού ήταν σταθερή στα 38.5 psu. Το pH κυμάνθηκε μεταξύ 7.7 και 8.1. Οι μέσες και μέγιστες τιμές αντίστοιχα των συγκεντρώσεων της αμμωνίας ήταν 2.9 και 6.5 $\mu\text{mol l}^{-1}$, των νιτρωδών 1.2 και 2.9 $\mu\text{mol l}^{-1}$, των νιτρικών 5.1 και 7.4 mmol l^{-1} και των φωσφορικών 0.17 και 0.25 mmol l^{-1} .

Στα πειράματα για τη μέτρηση των R και U σε σχέση με τη μάζα και τη θερμοκρασία, τα χταπόδια ταΐζονταν την προηγούμενη το μεσημέρι και η μέτρηση γινόταν την επόμενη το πρωί, μετά από παρέλευση περίπου 18 ωρών. Σε κάθε πειραματοζώο, οι μεταβολικοί ρυθμοί μετρήθηκαν 3 φορές σε διαδοχικές μέρες και ελήφθη ο μέσος όρος των μετρήσεων. Συνολικά εκτιμήθηκαν 108 τιμές για το R και 68 τιμές για το U σε διαφορετικές συνθήκες M , T . Για την εκτίμηση του SDA γινόταν επαναλαμβανόμενη μέτρηση του R , πριν το τάισμα και αμέσως μετά το τάισμα για περίπου ένα 24ωρο, ενώ ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν πειραματοζώα που μετρήθηκαν με την ίδια ακριβώς διαδικασία αλλά χωρίς να ταϊστούν. Συνολικά έγιναν 34 μετρήσεις στις δύο θερμοκρασίες.

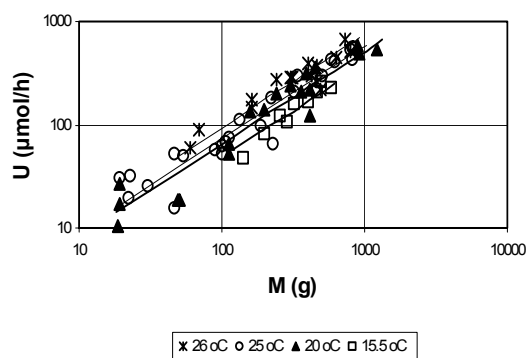
Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων, γινόταν απομόνωση του ενυδρείου στο οποίο βρίσκονταν το εκάστοτε χταπόδι. Η εκτίμηση του R γινόταν με καταγραφή της μείωσης της συγκέντρωσης του οξυγόνου με πολαρογραφικό ηλεκτρόδιο (Cellox 325, WTW) για 2.5 ώρες. Η εκτίμηση του ρυθμού έκκρισης αμμωνίας γινόταν με λήψη δειγμάτων νερού κατά την έναρξη του πειράματος και μετά από 2.5 ώρες και ανάλυσή τους ως προς τη συγκέντρωση αμμωνίας με τη μέθοδο των Liddicoat *et al.* (1975).

Η εξάρτηση των μεταβολικών ρυθμών από τη μάζα δίνεται από έναν αλλομετρικό νόμο κλίμακας της μορφής $Y = Y_0 M^b \Leftrightarrow \log Y = a + b \log M$, όπου $Y = R$ ή U (Bertalanffy 1957). Οι κανονικοποιημένοι ως προς τη μάζα μεταβολικοί ρυθμοί $R_0 = R/M^{b_R}$ και



Εικ. 1: Μετρήσεις του ρυθμού κατανάλωσης οξυγόνου (R) σε σχέση με τη σωματική μάζα (M) και τη θερμοκρασία (T)

Fig. 1: Results of the oxygen consumption rate (U) measurements in relation to body mass (M) and temperature (T).



Εικ. 2: Μετρήσεις του ρυθμού απέκκρισης αμμωνίας (U) σε σχέση με τη σωματική μάζα (M) και τη θερμοκρασία (T)

Fig. 2: Results of the ammonia excretion rate (U) measurements in relation to body mass (M) and temperature (T).

$U_0 = U/M^{b_U}$ επηρεάζονται από τη θερμοκρασία και η εξάρτηση αυτή προσεγγίζεται πολύ καλά από τη σχέση (Gillooly *et al.* 2001):

$$R_0 \text{ (or } U_0) = c \cdot e^{-E_i/kT_a} \Leftrightarrow \log(R_0 \text{ or } U_0) = \log c - \frac{E_i}{k} \cdot \frac{1}{T_a}$$

όπου E_i είναι η ενέργεια ενεργοποίησης, $k = 8.618 \cdot 10^{-5} \text{ eV K}^{-1}$ η σταθερά του Boltzmann και T_a η απόλυτη θερμοκρασία (σε βαθμούς K). Για κάθε άτομο χωριστά υπολογίστηκε ο λόγος O/N ως το πηλίκο $R(\mu\text{mol h}^{-1})/U(\mu\text{mol h}^{-1})$.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων των R και U δίνονται στις Εικ. 1 και Εικ. 2 αντίστοιχα. Με εφαρμογή της μεθόδου των ελαχίστων τετραγώνων στα λογαριθμισμένα δεδομένα M και R (ή U), προσδιορίστηκαν οι εκθέτες των αλλομετρικών νόμων κλίμακας για κάθε θερμοκρασιακό επίπεδο χωριστά. Καθώς δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές του b_R ή του b_U μεταξύ των διαφορετικών θερμοκρασιών (ANOVA, $p=0.56$ και $p=0.35$ αντίστοιχα), υπολογίστηκαν οι κοινές κλίσεις των ευθειών αναδρομής: $b_R = 0.901 \pm 0.019$ και $b_U = 0.896 \pm 0.036$. Στη συνέχεια υπολογίστηκαν οι ευθείες αναδρομής μεταξύ των κανονικοποιημένων μεταβολικών ρυθμών και της θερμοκρασίας και προσδιορίστηκαν οι ενέργειες ενεργοποίησης $E_{i(R)} = 0.599 \pm 0.07 \text{ eV}$ και $E_{i(U)} = 0.373 \pm 0.160 \text{ eV}$, καθώς και οι εξισώσεις που δίνουν την συνδυασμένη επίδραση της σωματικής μάζας και της θερμοκρασίας στους μεταβολικούς ρυθμούς:

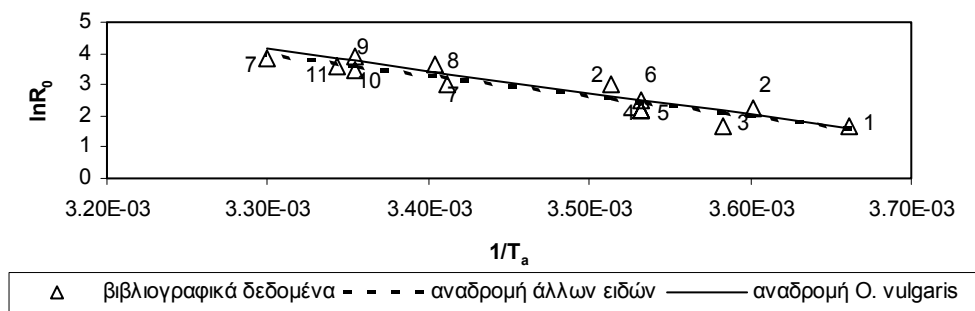
$$R(\text{mg} / \text{hr}) = R_0 \cdot M^b = e^{21.80 - 6952.8/T_a} \cdot M^{0.901} \Leftrightarrow$$

$$R(\mu\text{mol} / \text{hr}) = 31.25 \cdot e^{21.80 - 6952.8/T_a} \cdot M^{0.901} = e^{25.24 - 6952.8/T_a} \cdot M^{0.901}$$

$$\text{και } U(\mu\text{mol} / \text{hr}) = U_0 \cdot M^b = e^{14.77 - 4324.7/T_a} \cdot M^{0.896}$$

όπου η μάζα είναι σε g και η θερμοκρασία σε K. Η εξίσωση για το R ισχύει στο θερμοκρασιακό εύρος 13-28°C (286.1-301.1K) και η εξίσωση για το U στο εύρος 15.5-26°C (288.6-299.1K). Ο λόγος O/N δεν βρέθηκε να συσχετίζεται με τη θερμοκρασία ή τη σωματική μάζα (multiple regression, $p=0.66$, $R^2=1.3\%$), άρα θεωρήθηκε σταθερός. Οι μετρούμενες τιμές O/N κυμάνθηκαν μεταξύ 3 και 15 και είχαν μέση τιμή (\pm τυπική απόκλιση) = 5.5 ± 2.4 . Από τις τιμές αυτές προκύπτει ότι στο χταπόδι κυριαρχεί ο πρωτεϊνικός καταβολισμός (Mayzaud and Conover 1988).

Για να συγκριθεί η τιμή του $E_i(R)$ που εκτιμήθηκε στην παρούσα εργασία, με δεδομένα



Εικ. 3: Κανονικοποιημένοι ρυθμοί κατανάλωσης οξυγόνου (για μάζα 350 g, με $b_R=0.901$) συναρτήσεως του $1/T_a$ για διάφορα είδη χταποδιών. Δίνεται η ευθεία αναδρομής των δεδομένων της βιβλιογραφίας και η αντίστοιχη για το *O. vulgaris* της παρούσας εργασίας. 1. *Paraledone charcotti* (Daly and Peck 2000), 2. *Eledone cirrhosa* (Daly and Peck 2000), 3. *Octopus californicus* (Seibel and Childress 2000), 4. *Octopus bimaculoides* (Seibel and Childress 2000), 5. *Octopus micropyrsus* (Seibel and Childress 2000), 6. *Octopus dofleini* (O'Dor and Wells 1987), 7. *Octopus briareus* (Borer and Lane 1971), 8. *Octopus vulgaris* (Wells *et al.* 1983), 9. *Octopus cyanea* (Van Heukelem 1976), 10. *Octopus maya* (Segawa and Hanlon 1988), 11. *Octopus cyanea* (Maginniss and Wells 1969).

για άλλα είδη χταποδιών, υπολογίστηκε η ευθεία αναδρομής που προσαρμόζεται σε ζεύγη τιμών $[1/T_{as}, \ln R_0]$ χρησιμοποιώντας δεδομένα από τη βιβλιογραφία (Εικ. 3). Από την κλίση της ευθείας αναδρομής υπολογίστηκε η αντίστοιχη ενέργεια ενεργοποίησης $E_i = 0.56 \pm 0.13$ eV (95% διάστημα εμπιστοσύνης), που είναι στατιστικά ίση με την τιμή για το *O. vulgaris*. Προκύπτει, λοιπόν, ότι οι μεταβολικοί ρυθμοί των διαφόρων ειδών χταποδιών εξαρτώνται με παρόμοιο τρόπο από τη θερμοκρασία. Άρα, οι σχέσεις για την εξάρτηση του μεταβολικού ρυθμού του *O. vulgaris* από τη θερμοκρασία, που αναφέρονται στην παρούσα εργασία, μπορούν (σε μια πρώτη προσέγγιση) να γενικευτούν και για τα υπόλοιπα είδη χταποδιών.

Και στις 2 θερμοκρασίες του πειράματος για τη μέτρηση της ειδικής δυναμικής δράσης (20 και 28 °C), το μέγιστο του σχετικού SDA εμφανίστηκε κατά την πρώτη ώρα μετά το τάισμα και ήταν 64% στους 20 °C και 42% στους 28 °C. Το σχετικό SDA στους 20 °C ήταν σημαντικά μεγαλύτερο από εκείνο στους 28 °C ($n=5$, $t=4.75$, $p=0.0045$). Και στις 2 θερμοκρασίες η διάρκεια του SDA είναι περίπου 9.5 hr, ενώ το μέγεθος του SDA (ολοκλήρωμα της αύξησης του R καθ'όλη τη διάρκεια του SDA) δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο θερμοκρασιών ($t=1.67$, $p=0.11$), υποδεικνύοντας ότι το ενεργειακό κόστος της διατροφής ήταν το ίδιο και στις δύο θερμοκρασίες. Η μικρή διάρκεια του SDA είναι ενδεικτική της ικανότητας του *O. vulgaris* να πέπτει και να αφομοιώνει γρήγορα και αποδοτικά την τροφή του.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Bertalanffy von L., 1957. Quantitative laws in metabolism and growth. *Quarterly Review of Biology*, 32: 217-231
- Borer K.T. & C.E. Lane, 1971. Oxygen requirements of *Octopus briareus* Robson at different temperatures and oxygen concentrations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 7:263-269
- Daly H.I. & L.S. Peck, 2000. Energy balance and cold adaptation in the octopus *Paraleledone charcoti*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 245: 197-214
- Gillooly J.F., J.H. Brown, G.B. West, V.M. Savage & E.L. Charnov, 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science*, 293: 2248-2251
- Κατσανεβάκης Σ., 2004. Οικολογία του *Octopus vulgaris*. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 100 p.
- 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*. New York: Academic, pp 335-364
- Mayzaud P. & R.J. Conover, 1988. O/N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology-Progress Series*, 45: 289-302
- O'Dor R.K. & M.J. Wells, 1987. Energy and nutrient flow. In: Boyle P.R., editor. *Cephalopod life cycles, vol II. Comparative reviews*. London: Academic. pp 109-133
- Segawa S. & R.T. Hanlon, 1988. Oxygen consumption and ammonia excretion rates in *Octopus maya*, *Loligo forbesi* and *Lolliguncula brevis* (Mollusca, Cephalopoda). *Marine Behavior and Physiology*, 13: 389-400
- Seibel B.A. & J.J. Childress, 2000. Metabolism of benthic octopods (Cephalopoda) as a function of habitat depth and oxygen concentration. *Deep-Sea Research*, 47:1247-1260
- Van Heukelem W.F., 1976. Growth, bioenergetics and life-span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. PhD dissertation, University of Hawaii, Honolulu
- Vas-Pirez P., P. Seixas & A. Barbosa, 2004. Aquaculture potential of the common octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797): a review. *Aquaculture*, 238: 221-238
- Wells M.J., R.K. O'Dor, K. Mangold & J. Wells, 1983. Diurnal changes in activity and metabolic rate in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology*, 9: 275-287