

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA AKVAKULTURU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

Iva Pozniak

Potrošnja kisika mlađi obične sipe *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) ovisno o
slanosti medija i prisutnosti plijena

DIPLOMSKI RAD

Dubrovnik, 2010.

SVEUČILIŠTE U DUBROVNIKU
ODJEL ZA AKVAKULTURU
DIPLOMSKI STUDIJ MARIKULTURA

Iva Pozniak

Potrošnja kisika mlađi obične sipe *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) ovisno o
slanosti medija i prisutnosti plijena

DIPLOMSKI RAD

Mentor:

dr. sc. Nikša Glavić

Dubrovnik, 2010.

Ovaj diplomski rad izrađen je pod stručnim vodstvom dr.sc. Nikše Glavića, u sklopu diplomskog studija Marikultura na Odjelu za akvakulturu Sveučilišta u Dubrovniku.

1. UVOD	1
1.1. GOSPODARSKI ZNAČAJ I UL OV SIPE <i>Sepia officinalis</i>	3
1.2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA	5
1.3. UZGOJ SIPE	6
1.4. BIOLOGIJA I EKOLOGIJA OBIČNE SIPE	8
1.4.1. OPĆENITO O ANATOMIJI	8
1.4.2. RAZMNOŽAVANJE	11
1.4.3. POTREBE ZA KISIKOM KOD SIPE	13
1.5. SVRHA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	16
2. MATERIJAL I METODE	17
2.1. PRIKUPLJANJE JAJAŠACA OBIČNE SIPE	17
2.2. LABORATORIJSKI UZGOJNI SUSTAV	19
2.3. POSTAVLJANJE POKUSA	20
2.4. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA U ZATVORENOM SUSTAVU	21
2.4.1. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE PRI AMBIJENTALNIM UVJETIMA.....	24
2.4.2. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE UZ PROMJENE SLANOSTI	24
2.4.3. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE UZ PRISUTNOST PLIJENA	25
2.5. IZRAČUN I STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	27
3. REZULTATI	30
3.1. POTROŠNJA KISIKA MLAĐI SIPE PRI AMBIJENTALNIM UVJETIMA.....	31
3.2. POTROŠNJA KISIKA MLAĐI SIPE UZ PROMJENE SLANOSTI	33
3.3. POTROŠNJA KISKA MLAĐI SIPE UZ PRISUTNOST PLIJENA	40
4. RASPRAVA	43
5. ZAKLJUČAK	49
6. LITERATURA	50

SAŽETAK

Potrošnja kisika mladi obične sipe *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) ovisno o slanosti medija i prisutnosti plijena

Mjerenje potrošnje kisika kod mladi sipe (*Sepia officinalis*) daje važne informacije o općim fiziološkim stanjima organizma, metabolizmu i prilagodbama u morskoj vodi na promijenjene uvjete okoliša. Na temelju dobivenih rezultata možemo doći do značajnih informacija potrebnih za intenzivni uzgoj sipe u svrhu znanstvenih istraživanja i marikulturnih postrojenja. Prikupljeno je 135 jajašaca sipe, postignuto je 94,074 % izvaljenje, točnije 127 jedinki mladi sipe. Jedinke su bile prosječne mase tijela 0,135 g (0,08 g – 0,17 g), temperatura je varirala od 23,9 °C do 27,9 °C. Slanost se mijenjala, od ambijentalnih 35 psu do 26 psu. Korištena je metoda mjerenja potrošnje kisika (PO₂) u zatvorenom sustavu u normoksičnim uvjetima („intermittent respirometry“). Minimalna dobivena PO₂ mladi sipe iznosila je 0,0799416 mgO₂g⁻¹h⁻¹, maksimalna PO₂ iznosila je 0,968015455 mgO₂g⁻¹h⁻¹, dok je prosječna PO₂ mladi sipe iznosila 0,490102323 mgO₂g⁻¹h⁻¹. Rezultati nisu pokazali statističku značajnost utjecaja promjene slanosti na PO₂, ali je iz grafičkih prikaza vidljiv trend porasta PO₂ sa smanjenjem slanosti, te s obzirom na to ustanovljena aktivnost osmoregulacijskih mehanizama mladi sipe. PO₂ raste s povećanjem temperature, ovisno o tjelesnoj masi mjerenih jedinki. Prisutnost plijena također potiče povećanu PO₂.

Ključne riječi: *Sepia officinalis* / potrošnja kisika u zatvorenom sustavu / slanost / prisutnost plijena /

ABSTRACT

Oxygen consumption of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), depending on salinity of the media and the presence of prey

Measurement of oxygen consumption in juvenile cuttlefish (*Sepia officinalis*) provides essential information on the general physiological state of the organism, metabolism and adaptations in sea water to changed environmental conditions. Obtained results can give us information needed for the intensive rearing of cuttlefish in the purpose of scientific research and mariculture. 135 cuttlefish eggs were collected, of which 94,074 % hatched, precisely 127 individuals. The specimens were average body weight of 0.135 g (0.08 g - 0.17 g), the temperature of water medium ranged from 23.9 ° C to 27.9 ° C. The salinity changed from ambient 35 psu to 26 psu. Measuring method of oxygen consumption (PO₂) in closed system in normoxic conditions called intermittent respirometry was used in this research. Minimum obtained PO₂ for juvenile cuttlefish was 0.0799416 mg O₂ l⁻¹, the maximum PO₂ was 0.968015455 mg O₂ l⁻¹, while the average PO₂ juvenile cuttlefish was 0.490102323 mg O₂ l⁻¹. The results show no statistically significant changes in PO₂ depending on salinity, but the graphics show an upward trend of PO₂ with decreasing salinity. The activity of osmoregulatory mechanisms for juvenile cuttlefish was determined on changes in salinity. PO₂ increases with increasing temperature, depending on body weight of the cuttlefish. The presence of prey also has a significant effect on increasing PO₂.

Keywords: *Sepia officinalis* / oxygen consumption / intermittent respirometry / salinity / presence of prey /

1. UVOD

Glavonošci (slika 1) su ekološki važna skupina životinja zbog svoje brojnosti i uloge u trofičkim lancima kao predatorne vrste (Nixon, 1987). Sipe su bentičke morske životinje koje spadaju u razred Cephalopoda, glavonošci, koljeno Mollusca, mekušci od kojih je danas poznato oko 600 živućih i 1000 izumrlih vrsta. Ukupno u svijetu ima oko 100 vrsta roda *Sepia* (Khromov i sur., 1998).



Slika 1: Razred Cephalopoda; izvor: <http://tolweb.org/Cephalopoda/19386>

Rasprostranjene su uglavnom u tropskom i umjerenom pojasu, te su isključivo morske, stenohaline životinje. Borave na pjeskovitim i muljevitim dnima, od obale do dubina od oko 200 m. Najveća gustoća populacija sipe je pri dubinama manjim od 100 m. U dublje vode zalaze uglavnom veće jedinke. Za marikulturu je najzanimljivija vrsta *Sepia officinalis*, obična sipa (slika 2, slika 3). Navedena vrsta naraste od 30 – 40 cm duljine plašta (oko 60 cm računajući krakove), a doseže težinu od oko 3 kg – 4 kg. Srednja lovna težina iznosi oko 500 g. U Sredozemlju i u Jadranu su uz *S. officinalis* prisutne još dvije vrste iz roda *Sepia*: iglata sipica - *Sepia orbignyana*, Ferussac, 1826. i rumena sipica - *Sepia elegans*, Blainville, 1827. (FAO, 1984).

Koljeno: Mollusca

Razred: Cephalopoda

Red: Sepioidea,

Porodica: Sepiidae,

Rod: *Sepia*

Vrsta: *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), obična sipa



Slika 2: Vanjski izgled sipe obične, *Sepia officinalis*,

izvor: http://www.cm-funchal.pt/CMF/IMAGES/Sepia_officialis2.jpg



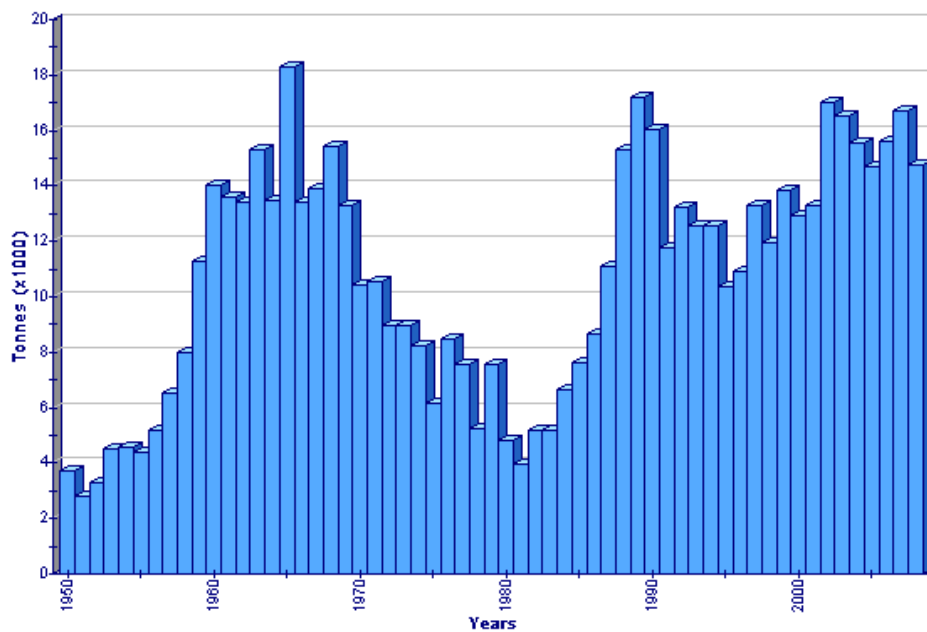
Slika 3: Vanjski izgled sipe obične, *Sepia officinalis*;

izvor: http://www.freshfishexport.com/Morocco_fresh_fish.htm

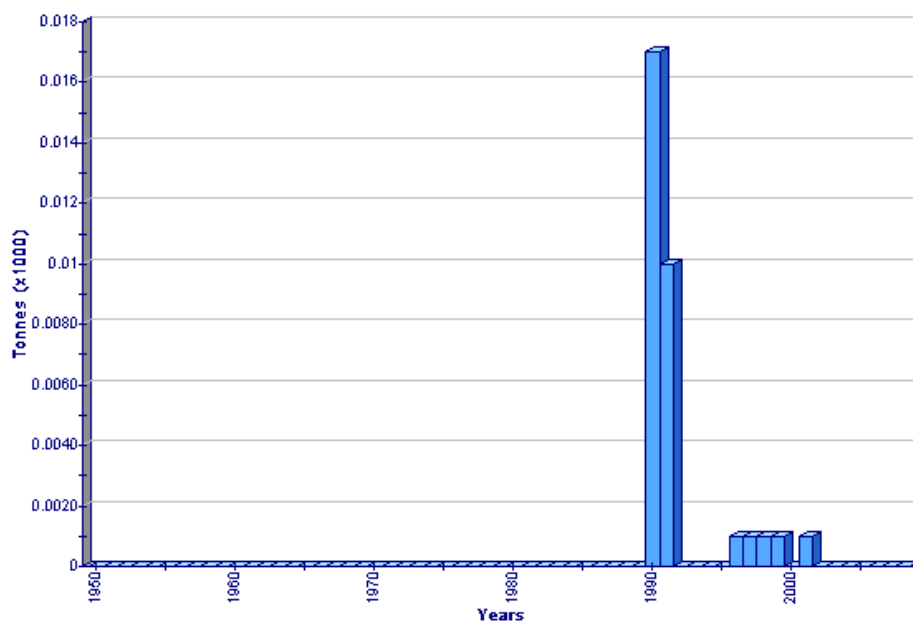
1.1. GOSPODARSKI ZNAČAJ I ULOV SIPE *Sepia officinalis*

Uz svjetski trend povećanja ukupnog broja vrsta organizama u akvakulturi, intenzivno raste i interes za istraživanje biologije i ekologije glavonožaca kao podloga za uspješan uzgoj raznih vrsta ovog razreda. Posljednjih godina gospodarska važnost glavonožaca se povećala (slika 4, slika 5). 2005. su iznosili blizu 5% od ukupnog svjetskog ulova, a ta brojka je u porastu za 33% u posljednjem desetljeću (FAO 2005). U posljednjih 20 godina također postoji trend porasta potrošnje i potražnje glavonožaca kao vrlo ukusne hrane za ljude zahvaljujući visokom sadržaju bjelančevina i OMEGA masnih kiselina (FAO 2001; FAO Fisheries statistics; Kunisaki, 2000).

U Hrvatskoj je 2005. ukupno ulovljeno 1094 tone glavonožaca, od toga 80 tona sipe. U slučaju komercijalnog ulova, sipa se najčešće lovi pridnenim kočarenjem. Od ostalih ribolovnih alata najpopularniji su osti, vrše i trapula (Državni zavod za statistiku, 2005).



Slika 4: Ukupne količine ulova sipe vrste *Sepia officinalis* za vremensko razdoblje od 1950. godine do 2010. godine; izvor: FAO Fishery Statistic.



Slika 5: Ukupna akvakulturna proizvodnja sipe vrste *Sepia officinalis* za vremensko razdoblje od 1950. godine do 2010. Godine; izvor: FAO Fishery Statistic.

1.2. DOSADAŠNJA ISTRAŽIVANJA

Aristotel je bio prvi znanstvenik koji je primijetio vrstu *Sepia officinalis*, dok je Karl Linné opisao navedenu vrstu već davne 1758. godine. Wells je 1958. prvi objavio istraživanje o mogućnostima laboratorijskog uzgoja sipe. Sipe su vrlo važna skupina organizama za razna znanstvena istraživanja, posebno u neurobiologiji. Boletzky (1989) je sipu nazvao slijedećim „bijelim mišem“ zbog jednostavnosti uzgoja, činjenice da se iz jajašaca izlegaju mlade jedinke potpuno jednake odraslim jedinkama, te s obzirom na visoko razvijeni živčani sustav, mogućnost pamćenja i postojanje velikih provodnih aksona u živčanom sustavu.

Forsythe i sur. (1994) pružaju dokaze da je obična sipa vrlo pogodna za intenzivan uzgoj. Oni su prvi proveli intenzivan uzgoj sipe u zatvorenom akvakulturnom sustavu, u Galvestonu, Texas i dobili ukupno 7 generacija sipe u zatočeništvu. Isti autori iznose i da navedena vrsta posjeduje osobine koje joj omogućuju uzgoj pri visokom gustoćama populacije, te da nema poteškoća s razmnožavanjem u zatočeništvu. Jedna važna odlika je njihova tolerancija na promjene kvalitete vode u uzgojnim sustavima.

Mjerenje stope disanja, potrošnje kisika kod sipe je ekološki važno jer daje bitne informacije o osnovnim energetskim zahtjevima i općim fiziološkim stanjima organizma (Melzner i sur., 2007). Studije disanja kod glavonožaca su provedene uglavnom na hobotnici i lignji, te u manjoj mjeri na sipama (Johansen i sur., 1982; Wolf i sur., 1985; Wachter i sur., 1988; Melzner i sur., 2007). Dosadašnji podaci studija potrošnje kisika vrste *S. officinalis* pružaju ograničene podatke o utjecaju abiotskih čimbenika i prisutnosti plijena u eksperimentalnim uvjetima, međutim pretpostavlja se da temperatura mora i slanost imaju važan utjecaj na stopu potrošnje kisika (Wachter, 1988).

1.3. UZGOJ SIPE

Sipa je od svih glavonožaca najzanimljivija za uzgoj i tehnika uzgoja je, u usporedbi s ostalim pripadnicima ovog razreda, najjednostavnija. Razlog su njene osobine: brz rast, tolerancija na visoke gustoće u uzgoju i uvjete stresa, visok fekunditet, visoku stopu pretvorbe hrane, direktan razvoj jedinke iz jajašca (odsutnost ličinačkog stadija), te kratak životni ciklus (Domingues i sur; 2003). Dobro podnosi život u zatočeništvu, inače u prirodi sipa podnosi blisku prisutnost drugih jedinki iste vrste samo u doba parenja. Tada se na manjem prostoru odjednom može naći više jedinki. Uspješno se mrijesti u kontroliranim uvjetima, polaže velika jaja, a tek izvaljene jedinke su velike (mase od 99 ± 14 mg), veličina usta nije limitirajući faktor za odabir odgovarajuće ishrane (Domingues i sur., 2003). Kod uvjeta manjka hrane, može doći do kanibalizma (Domingues i sur., 2003). Za uzgoj sipe se preporučuje recirkulirajući uzgojni sustav. Glavni problem komercijalnog uzgoja predstavlja odgovarajuća ishrana. Sipa je pokazala povoljan rast i zadovoljavajuće preživljavanje samo uz hranjenje živom hranom (Koueta 1999; Domingues i sur; 2001).

Za uzgoj mlađi sipe preporuča se poluzatvoreni uzgojni sustav u tankovima cilindrična oblika, dubine vodenog stupca 6 cm do 10 cm. Izljevanje i brz rast ranih razvojnih stadija mlađi je najbolji pri fotoperiodu 8 sati svijetla : 16 mraka. Obnova volumena vode bi trebala iznositi 9,7 % ukupnog volumena / 1 h. Preporučena temperatura je 19 °C, pH od 8,24; slanosti od 33,5 psu; a koncentraciju amonijaka je potrebno održavati na razinama manjim od 0,5 mg/l (Koueta i Boucaud-Camou, 1999).

U istraživanju koje su proveli Koueta i sur., (1999) dobiveno je preživljavanje od čak 97 %. Najveći gubitak dogodio se u prva 4 dana uzgoja, vjerojatno zbog stresa prilikom raznih mjerenja. Prijelazno razdoblje nakon izvaljivanja mlađi sipe iz jaja, tj. kada se apsorbira sva količina hranjivih sastojaka iz žumanjčane vrećice i jedinka pređe na živu hranu i aktivno lovljenje plijena, je najkritičnija faza (Koueta i Boucaud-Camou, 1999). U razdoblju od 4 – 6 tjedana, jedinke u prosjeku narastu do veličine 3 – 4 cm duljine plašta. Preporučena gustoća nasada je maksimalno 20 jedinki/m². U razdoblju od 5 mjeseci sipa u prosjeku može narasti do veličine od 15 – 20 cm duljine plašta i težine 0,5 – 1 kg, te su tada već potpuno sazrele, preporučna gustoća u uzgoju je 2 jedinke/m². Kada dosegnu spolnu zrelost, jedinke je potrebno prebaciti u veći uzgojni tank i odvojiti mužjake od ženki da ne bi došlo do

spontanog mrijesta. Mužjaci su obično malo veći od ženki iste starosne dobi. Postotak preživljavanja je oko 50 % (Forsythe i sur., 1993).

Tek izvaljene jedinke odmah prelaze na bentički način života i predatorski način ishrane (lov). Kao i kod ostalih pripadnika glavonožaca, problem je odgovarajući sastav hrane koji bi zadovoljavao visoke proteinske potrebe mlađi sipe. Prva zadovoljavajuća živa hrana za mlađ sipe od 1. do 20. dana su mizidni rakovi (porodica *Mysidae*) (Koueta; 2003). Sipe mijenjaju prehranbene navike tijekom svog života, tako kod mlađi prehrana uključuje gotovo samo rakove, dok kod odraslih jedinki prehrana uključuje rakove, ribe, mnogočetinaše, mekušce i druge glavonošce, a može doći i do kanibalizma. (Boucher-Rodoni, 1987).

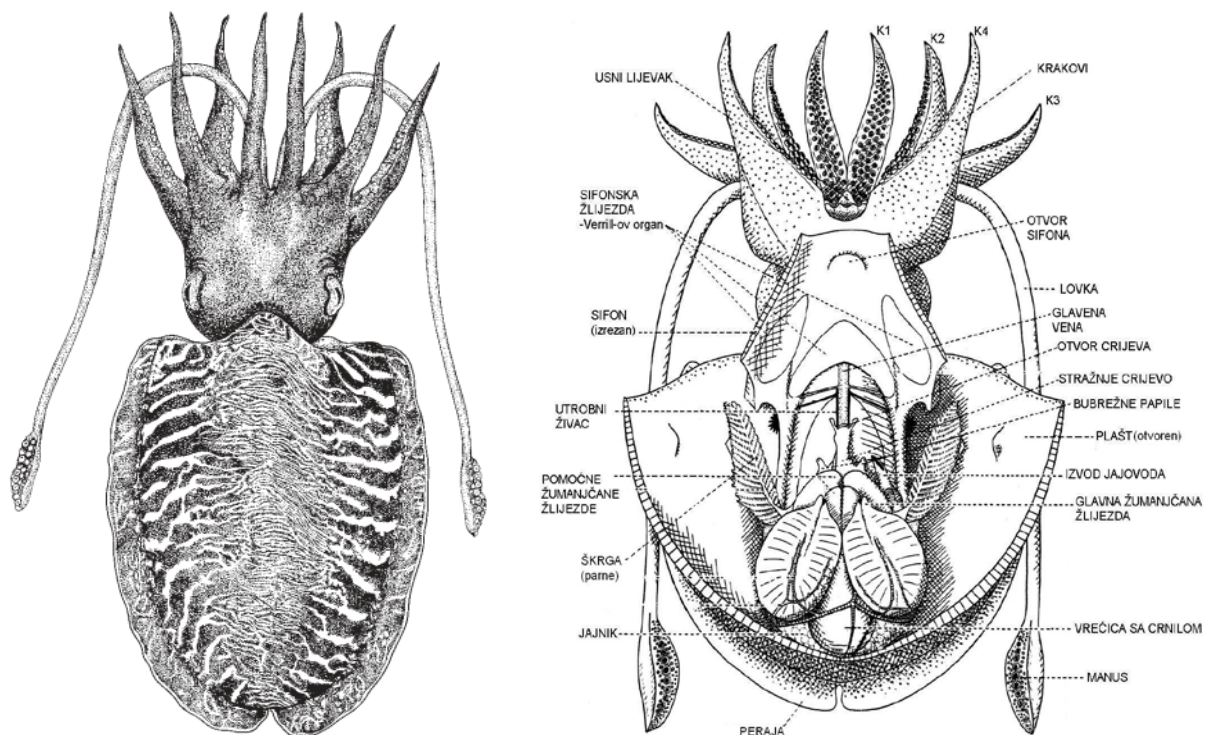
Sipa je vizualni predator i u prirodi uzima isključivo živi plijen. Značajnu ulogu u ishrani sipe, odabiru i prihvaćanju vrste plijena u uzgoju, ima mobilnost samog plijena i njegova veličina s obzirom na veličinu sipe. Kod većeg plijena postoji opasnost da otrov za paralizu koji ispušta sipa neće biti dovoljan. Tako se poželjna veličina plijena kreće od 25 – 80 % od ukupne duljine plašta uzgajane jedinke sipe, kada je u pitanju riba, a 20 – 40 % od ukupne duljine plašta, kada se love rakovi (Koueta i Boucaud-Camou, 1999).

Razvoj odgovarajuće umjetne hrane za sipu, ali i za ostale glavonošce, jedan je od najvećih problema u uzgoju glavonožaca. Prijelaz s ishrane živom hranom i smrznutom prirodnom hranom, na umjetnu hranu, bitno bi smanjio troškove uzgoja (Koueta i Boucaud-Camou, 1999).

1.4. BIOLOGIJA I EKOLOGIJA OBIČNE SIPE

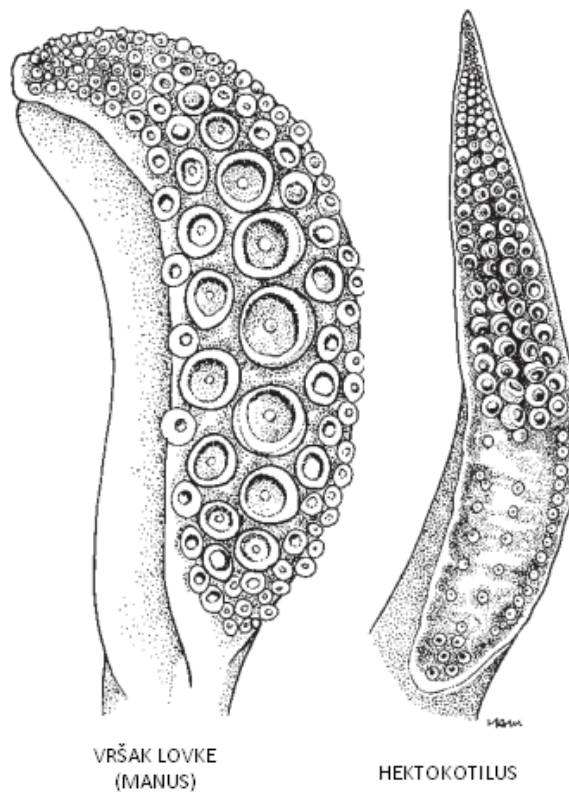
1.4.1. OPĆENITO O ANATOMIJI

S. officinalis, obična sipa je vrsta koja spada u morske beskraljeznjake. Oblik tijela joj je vretenast i dorzo-ventralno spljošten. Naraste do 45 cm duljine plašta, a može težiti do 4 kg u vodama umjerenog pojasa (FAO, 1984.). Tijelo sipe se sastoji od četiri dijela: glave, probavila, plašta i stopala. Plašt koji djelomično ili potpuno obavija tijelo stvara plaštanu šupljinu u kojoj se nalaze dišni organi, škrge. Kao i kod drugih glavonožaca, stopalo sipe je razgranato u krakove, kod sipe u ukupno deset krakova, osam kratkih krakova na kojima se nalaze prijanjalke, te još dva duža kraka, tzv. lovke (slika 6). Lovke služe za lov plijena, oblikom su proširene pri vrhovima i to područje je pokriveno prijanjalkama, te se naziva manus (slika 7). Kod mužjaka postoji i tzv. hektokotilizirani krak koji služi za ubacivanje spolnih produkata prilikom kopulacije u plaštanu šupljinu ženke (slika 7). Glava sipe je relativno velika. Primarno osjetilo kod sipe su velike i izražene oči, postavljene bočno na glavi, a njihova izdužena i vodoravno postavljena zjenica daje veliko vidno polje od kojih 300 stupnjeva (FAO, 1984).



Slika 6: Vanjski izgled i opće anatomske značajke sipe vrste *Sepia officinalis*

Izvor: FAO 1984. i Tompsett, 1939.



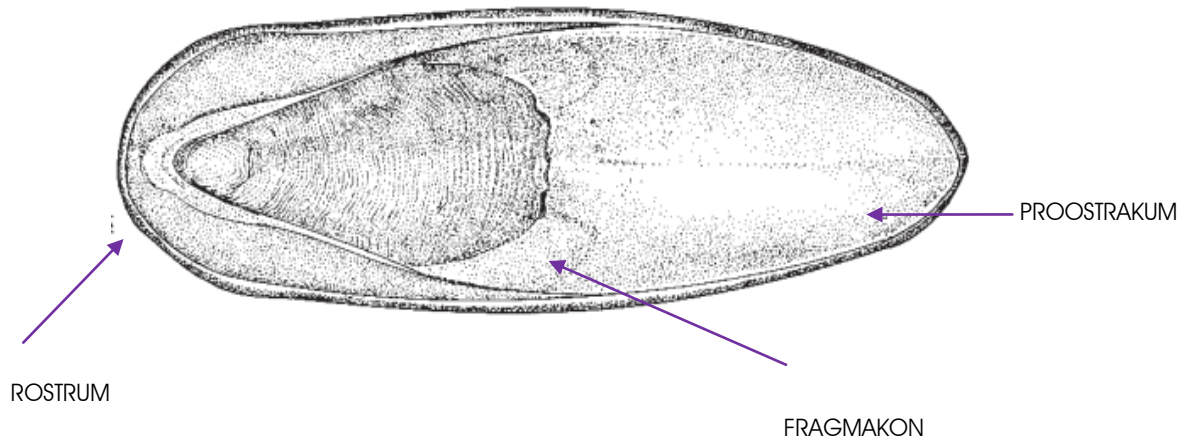
Slika 7: Vanjski izgled lovke vrste *S. officinalis* i hektokotiliziranog kraka kod mužjaka iste vrste.

Izvor: FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No.4, Vol.1 (1984).

Sipa ima izrazito razvijen živčani sustav koji čak možemo usporediti s živčanim sustavom razvijenih riba koštunjača. Sastoji se od nekoliko ganglija, od kojih je glavni najvažniji, a zaštićen je hrskavičnom čahurom. Kod glavonožaca je vrlo zanimljivo i za znanstvena istraživanja važno, postojanje golemih živčanih vlakana, aksona koji provode kontrolne impulse od mozga kroz tijelo (FAO, 1984).

Pláš (palium) je najveća pojedinačna, snažna mišićna tvorevina na tijelu sipe. Pomoću njega sipa provodi morsku vodu kroz tijelo, a izbacuje je kroz mlaznicu ili sifon. Pláš pomaže pri pokretanju i za ventiliranje morske vode za prozračivanje škrge. Velum je plaštana peraja koja također služi za pokretanje, njenim se radom postiže točna regulacija položaja (FAO, 1984).

Kod sipe postoji poseban tip endoskeleta, karakteristična tvorba zvana sipovina ili sipina kost (slika 8), a predstavlja ostatak vanjskog oklopa, koji se reducirao i povukao u unutrašnjost tijela (FAO, 1984).



Slika 8: Ventralni pogled na sipovinu. Izvor: FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No.4, Vol.1

Na sipovini razlikujemo tri dijela:

1. fragmakon,
2. rostrum,
3. proostrakum.

Fragmakon je sastavljen od nekoliko komora ispunjenih tekućinom i plinom (dušik, kisik, ugljični dioksid). Sifunkulus, sloj tkiva koji prolazi medijalno čitavom dužinom sipovine ima ulogu ubacivanja i izbacivanja tekućine iz komora aktivnim transportom, te punjenja komora pasivnom difuzijom plinom. Osim što služi kao tjelesni oslonac, uloga sipovine je i regulacija plovnosti. (FAO, 1984).

Sipa je karnivor i vizualni predator. Unutar krakova se nalazi usni lijevak, probavni sustav započinje usnim otvorom, koji se otvara u mišićavo ždrijelo u kojem se nalaze tzv. kljun i radula. U ždrijelo se otvara par žlijezda slinovnica i par otrovnih žlijezda čija izlučevina osim sline sadrži i neurotoksični otrov za umrtvljavanje plijena (FAO, 1984). Kljun je rožnata tvorevina građena od bjelančevine keratina, a služi za trganje ulovljenog plijena i unos hrane u tijelo. Radula je struktura slična jeziku na kojoj se nalaze krute izrasline keratinskog sastava, a služi za usitnjavanje komadića hrane i priprema za probavu. Probavni

se kanal preko jednjaka nastavlja u želudac, zatim u spiralni cekum, te se preko stražnjeg crijeva otvara anusom u plaštanu šupljinu (FAO, 1984).

Krvožilni sustav sipe je polu-otvorenog tipa. Sastoji se od glavnog srca (dvije pretkljetke i jedne kljetke) koje se krvlju puni iz škrge. Iz srca vode dvije glavne aorte:

- glavena (cefalička) i
- stražnja (posteriorna)

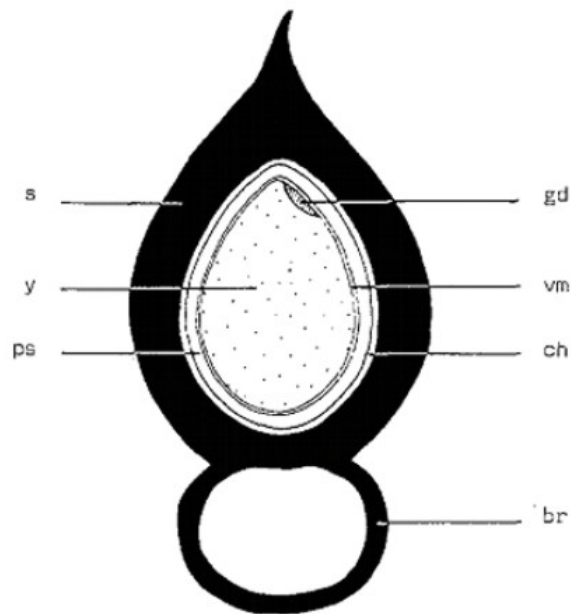
Krv iz glavnih aorti se izliva u sustav krvnih sinusa, iz kojih krv prima venski sustav, te se putem vena odvodi u dva škržna (branhijalna) srca. Škržna srca služe za održavanje tlaka kolanja krvi, te opskrbljuju škrge krvlju za izmjenu plinova (FAO, 1984).

1.4.2. RAZMNOŽAVANJE

Sezona mrijesta sipe u Sredozemlju traje od ranog proljeća do kraja ljeta, ali je zabilježen i zimski mrijest (Mangold-Wirz, 1963). Primijećene su sezonske migracije vrste *S. officinalis*, zimi obitava u dubljim vodama, a u proljeće migrira u pliće vode da bi se mrijestila (Mandić, 1984).

Sipe su, kao i svi glavonošci gonohoristi (razdvojena spola), spolni dimorfizam izražen je u mužjaka kao bijela pruga duž bočne peraje, a lijevi četvrti krak je hektokotilus, kojim prilikom kopulacije mužjak ubacuje spolne produkte u plaštanu šupljinu ženke. U vrijeme spolne igre mužjak i ženka plivaju paralelno, a nakon toga, jedinke se okreću u poziciju glavama jedna prema drugoj. U tom položaju se odvija kopulacija do koje dolazi više puta u periodu od 24 sata. Jaja se također polažu više puta u određenom vremenskom razdoblju. U uvjetima uzgoja, tj. u zatočeništvu, mužjaci imaju više prilika za kopulaciju sa ženkama. Ženka uz pratnju mužjaka polaže jajašca u grozdovima, pri dubinama od 7-15 m. Pri polaganju jajašaca, ženka u vanjski omot oplođenog jajašca ubrizgava crnilo. Uz jajašca (slika 9), ženke ispuštaju posebnu kemijsku supstancu koja djeluje na druge ženke sipe potičući ih da na isto mjesto polažu jajašca (Zatylny i sur., 2000).

S veličinom ženke sipe varira i fekunditet. Veće ženke imaju veći fekunditet, također veće ženke polažu veća jaja. Fekunditet zrele ženke varira od 3700 – 8000 jajašaca/jedinki (srednjak je 5871 jajašaca/jedinki), a veličina zrelih jaja varira od 6,45 – 7,53 mm duljine i od 109,9 – 167,5 mg težine (Laptihovsky i sur; 2003). Sipa ne vodi brigu o jajašcima, ženke ugibaju kratko vrijeme nakon polaganja jaja. Kod sipe imamo direktan razvoj jedinke iz jajašca, ne postoji ličinački niti planktonski stadij u razvoju. Iz jajašca se izljevaju juvenilne sipe (mlađ sipe). Embrionalni razvoj ovisi o temperaturi, tako pri 15 – 20 °C embrionalni razvoj može trajati od 38 – 81 dana. S porastom temperature smanjuje se trajanje embrionalnog razvoja (Boletzky 1974, Boletzky i Hanlon, 1983). Tek izvaljene jedinke su u prosjeku veličine od 1 – 2,5 cm duljine plašta i 99±14 mg težine, te odmah prelaze na bentički način života i predatorski način ishrane (lov) (slika 10) (Koueta i Boucaud-Camou, 1999).



Shematski prikaz jajašca vrste *Sepia officinalis*

- s = ovojnica jajašca
- y = žumančana vrećica
- ps = previtelinski prostor
- gd = germinalni disk
- vm = vitelinska membrana
- ch = chorion
- br = bazalni prsten

Slika 9: Shematski prikaz jajašca sipe vrste *Sepia officinalis*.

Izvor: Wolf i suradnici 1985.



Slika 10: Jajašce sipe vrste *Sepia officinalis* i tek izvaljena jednika.

1.4.3. POTREBE ZA KISIKOM KOD SIPE

Sipa je kratkoživi organizam, izrazito predatornog ponašanja, visoke stope metabolizma što nam ukazuje da su joj za optimalan rast, razvoj i razmnožavanje potrebne velike količine kisika. Kisik je vrlo važan čimbenik u pojavljivanju sipe na određenom području i stvaranju njenih populacija. Tolerancija obične sipe na promjene u količini otopljenog kisika u vodi je relativno mala (Johansen i sur., 1982).

Kako obalne vode imaju relativno veći raspon promjena vrijednosti abiotičkih čimbenika, za očekivati je da sipa može tolerirati promjenjive uvjete temperature i slanosti (Mangold-Wirz, 1963). Neki podaci dobiveni istraživanjem populacija iz zapadnog Sredozemlja pokazuju da mlađ i odrasla sipa može, ako je postupno aklimatizirana, podnijeti neko vrijeme i slanost od 18 psu (Boletzky, 1983). Sipa je aktivni osmoregulator, što joj omogućuje prilagodbu na vodeni medij različite slanosti. Statistika ulova iz Španjolske pokazuje da nema jasne korelacije između količina ulovljenih organizama i promjena slanosti mora (obilne kiše, izljev rijeka), dakle i mlađ i odrasla jedinka su relativno prilagodljive na različite uvjete okoliša (Sobrino i sur., 2002).

Međutim, istraživanje koje je proveo Sobral (2004) o brojnosti ulova sipe u zavisnosti o abiotičkim čimbenicima, pokazalo je da povećane padaline ipak imaju negativni utjecaj na brojnost prirodnih populacija sipe, kao i da su povećano temperatura zraka te velika prozirnost u pozitivnoj korelaciji s ulovom sipe.

Sipa je ektotermni organizam. Mehanizmi koji utječu na toplinsku toleranciju kod organizama koji temperaturu svog tijela prilagođavaju okolnom mediju (ektotermni, hladnokrvni organizmi), su u posljednje vrijeme postali vrlo interesantna tema uglavnom zbog globalnog zatopljenja i klimatskih promjena, te rasprava u javnosti i znanstvenim zajednicama. U fiziološkom smislu, toplinsku toleranciju kod nekoliko morskih svojiti ektotermnih organizama može se povezati s dostupnosti kisikom, kapacitetom disanja i cirkulacije krvožilnog sustava pri ekstremnim temperaturama (Melzner i sur., 2007). Melzner i suradnici (2007) u svom istraživanju daju pregled procesa koji definiraju model toplinske tolerancije kod glavonožaca, točnije vrste *Sepia officinalis*, s naglaskom na doprinos pigmenta hemocijanin koji kod većine mekušaca prenosi kisik u krvi.

Kada je izložena izrazito visokim ili niskim temperaturama, sipa prokazuje postupni prijelaz na anaerobni način proizvodnje energije u mišićnim tkivima. Temperatura kao ključni čimbenik okoliša oblikuje fiziologiju ektotermnih morskih životinja, a time i njihov način života u različitim klimatskim uvjetima i ekosustavima. Komparativno istraživanje fizioloških mehanizama, postavljanja termičke granice kod različitih morskih, ektotermnih skupina životinja je dovela zaključka da je dostupnost kisika glavni faktor za toleranciju u promjenama temperature. Ograničenja u toleranciji za potrebnom količinom kisika znače da će se termičke stres pojaviti prije, te to uzrokuje prijelaz na anaerobni metabolizam i daljnje posljedice na staničnoj, biokemijskoj razini (Melzner, 2006; 2007). Hipoteza o toleranciji na dostupnu količinu kisika je također nedavno istražena za glavonožace europskih obalnih voda (Melzner i sur; 2004; 2006; 2007).

Fiziologija sustava transporta kisika kod sipe pokazuje da se radi o visoko evoluiranoj skupini životinja, koja je stekla visoku razinu i sofisticiranost u izvođenju ovo procesa kao rezultat natjecanja s mnogobrojnim, predatorskim vrstama riba. Utvrđeno je da se u fazi mirovanja, oko 80 % kisika otpušta u tkiva pri ambijentalnim uvjetima kod sipe *S. officinalis*. Takav učinak se može postići jedino u kombinaciji s vrlo razvijenim krvožilnim i ventilacijskim sustavom (Johansen i sur; 1982).

Dok lignja koja aktivno lovi plijen, kisik uzima iz mlaza vode trošeći pritom energiju i na plivanje, više sjedilački tip sipe uspješno odvaja svoje ventilacijske pumpe za vodu od lokomotornog sustava tako se relativno male količine vode moraju pumpati kroz plaštanu šupljinu. Kombinirano djelovanje ventilacijskih mišića, ovratnik zaliska od lijevka i radijalnih plaštanih mišićnih vlakana, generira struju vodu kroz plaštanu šupljinu sipe pri relativno niskom tlaku od 50,02 kPa (Melzner i sur; 2006; 2007).

Kod jajašaca sipe obične kisik difundira kroz debele ovojnice jaja, razina kisika u perivitelinskoj tekućini dostižu maksimalnu vrijednost neposredno prije izvaljenja (116,7 + 6,9 mm Hg). Mlađ sipe pokazuje samo blagi porast u potrošnji kisika u odnosu na embrije u posljednjoj fazi razvoja (Wolf i sur; 1985). Istraživanje disanja i potrošnje kisika koje je proveo Wolf sa suradnicima (1985) na mlađi sipe stare 40 dana, pokazalo je da se potrošnja kisika povećava s temperaturom, a fotoperiod nema značajan učinak. Eksperimenti ujecaja hipoksije otkrili su da je mlađ *S. officinalis* dobar regulator, te održava konstantnu potrošnju kisika kada je u okolnom mediju koncentracija kisika u rasponu od 4 do 7 mg/l. Mlađ se uspješno oporavila od hipoksičnog stresa kroz 1 h. To sugerira da respiratorni pigmenti (hemocijanin) kod 40 dana starih jedinki sipe, imaju visok afinitet kisika, te da mlađ sipe ima veliku sposobnost prilagođavanja anaerobnim uvjetima. Većina glavonožaca pokazuje visoki aerobni metabolizam koji nadilazi onaj kod ostalih vodenih beskralježnjaka slične veličine, te mnogobrojnih, brzoplivajućih riba (Johansen, 1982). Disanje kod odraslih glavonožaca (*Sepia officinalis*, *Octopus vulgaris*, *Loligo sp.*, itd.) su već istraživana dok je još uvijek malo poznato, te malo podataka objavljeno o disanja embrija i mlađi *S. officinalis* (Wolf i sur., 1985; Melzner, 2007).

1.5. SVRHA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

U ovom istraživanju postavljene su dvije pretpostavke:

1. Da postoji zavisnost potrošnje kisika sipe s obzirom na promjene slanosti i temperature.
2. Da postoji zavisnost potrošnje kisika sipe pri stanju mirovanja ili uzbuđenja prilikom lova plijena.

Homeostaza i održavanje optimalne koncentracije soli u tjelesnim tekućinama je važno za normalno odvijanje svih funkcija organizama, stoga vodeni organizmi razvijaju strategije prilagođavanja različitim osmotskim koncentracijama, tj. različitim slanostima okolnog medija. Možemo ih podijeliti na osmoregluatore (mogu odžavati osmolarnost tjelesnih tekućina neovisno o okolišnim fluktuacijama) i osmokonformere (prilagođavaju se osmolarnosti okoline). Umjereno eurihalni organizmi poput sipe toleriraju određene promjene slanosti u okolišu te je za pretpostaviti da su po pitanju regulacije ionskog sadržaja tjelesnih tekućina osmoregluatori (Withers, 1992). Osmoreglatorni mehanizam je energijski zahtjevan (Kirchner, 1979) te će se njegova aktivnost izravno moći pratiti preko potrošnje kisika – disanja. Režim koji uključuje osmoregulaciju/osmokonformizam se može uključiti ili isključiti po potrebi, ovisno o jačini utjecaja, tj. promjeni slanosti okolnog medija (Kirchner, 1979).

Sipa je predatorna vrsta, koja aktivno progona i lovi svoj plijen. Energijski troškovi lova plijena moraju biti balansirani, odnosno manji od energijske dobiti od strane unešene hrane. Potrošnja kisika prati sva energijska stanja sipe, pa tako i stanje ekscitiranosti pri lovu plijena. Odnos potrošnje kisika prije napada na plijen te za vrijeme i nakon ulova plijena dati će osnovnu veličinu potrošnje energije radi ulova plijena. Iako je sipa u pravilu organizam koji kao najintenzivniji organ osjeta okoliša ima oči, kemoreceptori, koji se uglavnom nalaze na usnom lijevku i lovkama imaju važnu ulogu u osjetu i procjeni plijena, prije samog napada i odmah po ulovu plijena. (Domingues i sur., 2001 a, b).

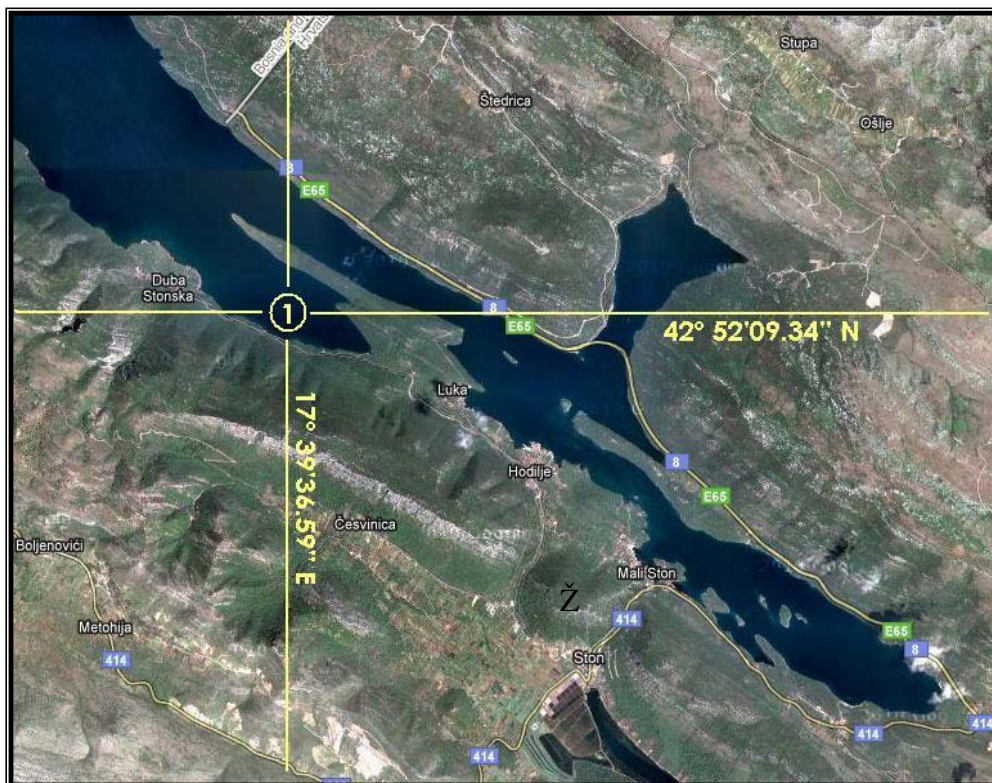
Svrha istraživanja: Upotpunjenje saznanja o metabolizmu i prilagodbama organizama u morskoj vodi, na promijenjene uvjete okoliša.

Ciljevi istraživanja: Odrediti zavisnost metaboličke aktivnosti sipe o promjenama slanosti i aktivnosti pri hranjenju u laboratorijskim uvjetima.

2. MATERIJAL I METODE

2.1. PRIKUPLJANJE JAJAŠACA OBIČNE SIPE

Jajašaca sipe prikupljena su u lipnju 2009. godine, u Malostonskom zaljevu, na području poluotoka Pelješca, u uvali Bjejevica ($17^{\circ} 39'36.59''$ E i $42^{\circ} 52'09.34''$ N) (slika 11). Jajašca su uzeta s dubine od 9-13 metara metodom autonomnog ronjenja. Ronilac je s navedene dubine ručno skidao jajašca i grozdove jajašaca s mjesta polaganja. Jajašca su bila položena uglavnom na stapke mnogočetinaša ili ovijena oko kolonija mahovnjaka (slika 12), na sidrenim konopima koji se pružaju od površinske plutače do sidrenog utega na 13 m dubine. Na dan prikupljanja, temperatura mora iznosila je 21°C , a slanost $37,2$ psu.



Slika 11: Uvala Bjejevica ($17^{\circ} 39'36.59''$ E i $42^{\circ} 52'09.34''$ N), poluotok Pelješac.

Izvor slike i podataka: [www.google earth](http://www.google-earth.com).

Odmah nakon uzimanja, prenešena su u posudama volumena 5 l u prethodno pripremljene uzgojne tankove u Institut za more i priobalje, Sveučilišta u Dubrovniku. Prikupljena jajašca bila su $7,5 \pm 1$ mm u promjeru. Ukupno je prikupljeno 135 jajašaca sipe.



Slika 12. Jajašca i tek izvaljene jedinke sipe *Sepia officinalis* u posudama volumena 5 l koje su služile za prijenos istih do uzgojnih tankova u Institut za more i priobalje, Sveučilišta u Dubrovniku.

2.2. LABORATORIJSKI UZGOJNI SUSTAV

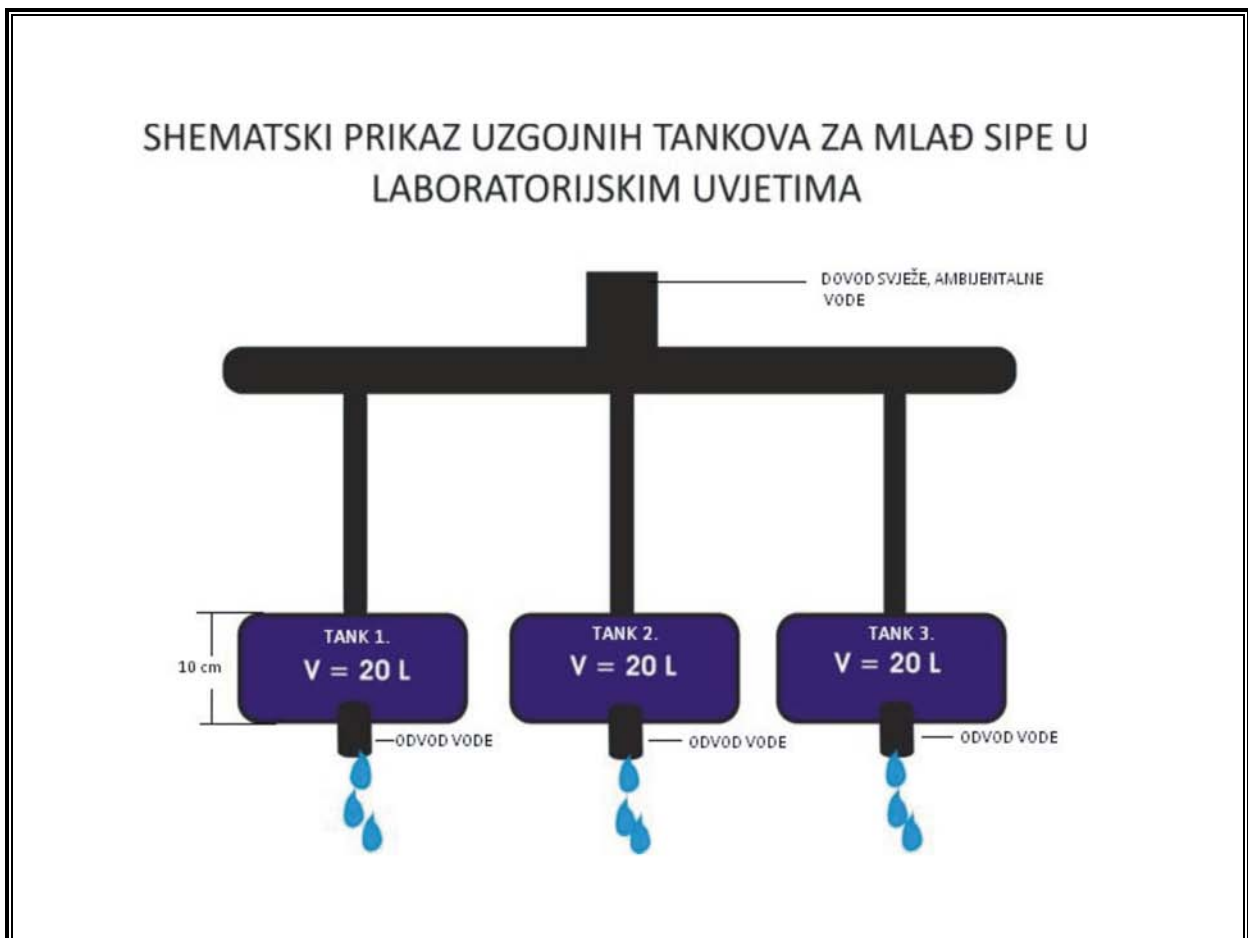
Jajašca su stavljena u tank volumena 20 l, dubine vodenog stupca 10 cm, fotoperiodom od 12 sati svijetla i 12 sati mraka, pri temperaturi od 25 °C i slanosti 35 psu (slika 13). Izražena aeracija je provedena preko raspršenja po čitavoj površini dna tanka radi miješanja sadržaja i sprječavanja taloženja jajašaca u mrtve kutove posude. Taloženje i nagomilavanje jajašaca povećava mogućnost razvoja kultura oportunističkih bakterija i gljivica.



Slika 13. Tank sa jajašcima sipe obične s izraženom aeracijom za izvaljivanje istih.

U razdoblju od 20 dana izleglo se preko 94,074 % jajašca, ukupno se izvalilo 127 jedinki mlađi sipe. Mlađ je introducirana u 3 uzgojna tanka volumena 20 l, dubine vodenog stupca 10 cm (slika 14). U svaki tank stavljeno je 30 jedinki sipe. Ostale su ostavljene u zasebnom tanku kao pričuva. Izmjena volumena vode iznosila je oko 100 % na sat. Hranjenje mlađi sipe obavljano je dva puta dnevno, ujutro i predvečer dodavanjem živih mizidnih rakova vrste *Hemimysis lamornae mediterranea* (Bacescu, 1936) u količini od 7-10 mizida po jedinki sipe. Mizidi su uzimani iz akvarijskih bazena Instituta za more i priobalje u Dubrovniku, u kojima se njihova populacija spontano razvila i u kojima se održava duže vrijeme.

Sipe su uzimane svaki dan za pokus mjerenja potrošnje kisika, te nakon provedenog pokusa vraćane u zasebni tank. Ukupno je provedeno 9 točaka mjerenja s različitim uvjetima slanosti i dvije točke mjerenja s dodanom živom hranom (jedna točka bez hrane u komori i druga s dodanom hranom u komori). Mjerenje potrošnje kisika provedeno je kod 39 jedinki sipe.



Slika 14: Shematski prikaz uzgojnih tankova za mlađ sipe u laboratorijskim uvjetima korištenih u rujnu 2009. godine.

2.3. POSTAVLJANJE POKUSA

U ovom istraživanju radile su se raščlamba zavisnosti potrošnje kisika o promjeni slanosti i temperature, te raščlamba zavisnosti potrošnje kisika o stanju mirovanja ili uzbuđenja prilikom lova plijena.

Za dokazivanje zavisnosti potrošnje kisika o promjeni slanosti, pred subjekt, sipu, postavljane su novi uvjeti temperature i slanosti. Kao kontrolno mjerenje, prvo je provedeno mjerenje potrošnje kisika sipe pri ambijentalnim uvjetima. Nakon toga je periodično provedena promjena uvjeta slanosti i temperature, prilagodba sipe u razdoblju od 24 sata kroz koje treba uraditi dva mjerenja, jedno na početku aklimacije i jedno na kraju.

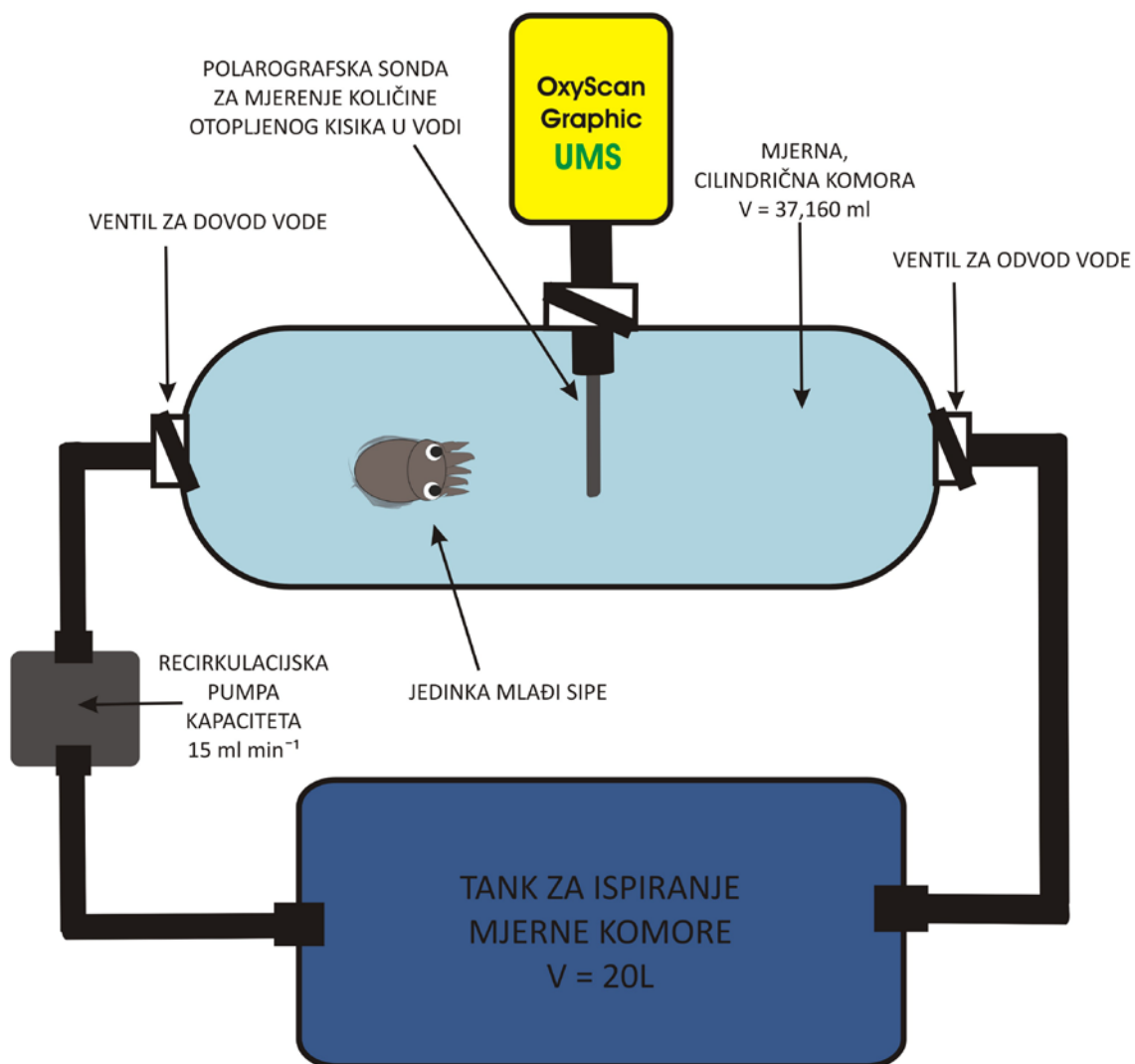
Za dokazivanje zavisnosti potrošnje kisika (PO_2) sipe pri hranjenju, obavljeno je mjerenje potrošnje kisika mirnog subjekta, prije hranjenja, nakon toga slijedilo je davanje hrane u komoru te mjerenje potrošnje kisika u toj fazi i mjerenje PO_2 nakon hranjenja u tanku (30 min).

Mjerenje potrošnje kisika na ambijentalnim uvjetima služilo je kao nulta proba za oba pokusa respirometrije. Potrošnja kisika je mjerena u normoksičnim uvjetima gdje je zasićenje kisikom iznosilo 60-80 %.

2.4. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA U ZATVORENOM SUSTAVU

Pokus mjerenja potrošnje kisika obavljen je u zatvorenom sustavu (intermittent respirometry), gdje se potrošnja kisika mjeri u zatvorenom prostoru s jednokratnom zalihom kisika otopljenog u morskoj vodi, u normoksičnim uvjetima (zasićenje kisikom iznad 70 %) (slika 15). Cilindrična komora za respirometriju izrađena je od prozirne plastike, zapremine 37,160 ml, s ventilima za dovod i odvod vode za prozračivanje (slika 16). Komora je povezana recirkulacijskom pumpom kapaciteta 15 ml min^{-1} s tankom većeg volumena u kojem se nalazila morska voda za ispiranje komore. Morska voda u tanku za ispiranje aerirana je s pomoću raspršivača zraka na normoksične uvjete zasićenja kisikom (75-100 % zasićenja). U komoru je postavljena polarografska sonda za mjerenje količine kisika otopljenog u vodi marke UMS, tip Oxyscan graphic (UMS GmbH, Njemačka) (slika 17). Nakon introduciranja sipe u komoru, uz konstantni protok vode, čekalo se 30 min kao vrijeme prilagodbe postavljene jedinice na novi ambijent. Za vrijeme prilagodbe uspostavljen je protok aerirane morske vode kroz komoru. Nakon vremena prilagodbe, protok kroz komoru je zaustavljen i komora je zatvorena. Mjerenje se vršilo kroz razdoblje od 30 min s očitavanjem vrijednosti svakih 5 min. Komora je za vrijeme mjerenja prekrivena neprozirnim materijalom kako bi se stres mjerene jedinice sveo na minimum.

**SHEMATSKI PRIKAZ POSTUPKA MJERENJA
POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE
METODOM "INTERMITTENT RESPIROMETRY"**



Slika 15. Shematski prikaz mjerenja potrošnje kisika mladi sipe u zatvorenom sustavu („intermittent respirometry“).



Slika 16: Mjerna komora cilindričnog oblika korištena za mjerenje potrošnje kisika u zatvorenom sustavu.



Slika 17. Polarografska sonda za mjerenje količine kisika otopljenog u vodi marke UMS, tip Oxyscan graphic (UMS Gmbh, Njemačka). Izvor: <http://www.ums-gmbh.de/Produkte/>.

2.4.1. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE PRI AMBIJENTALNIM UVJETIMA

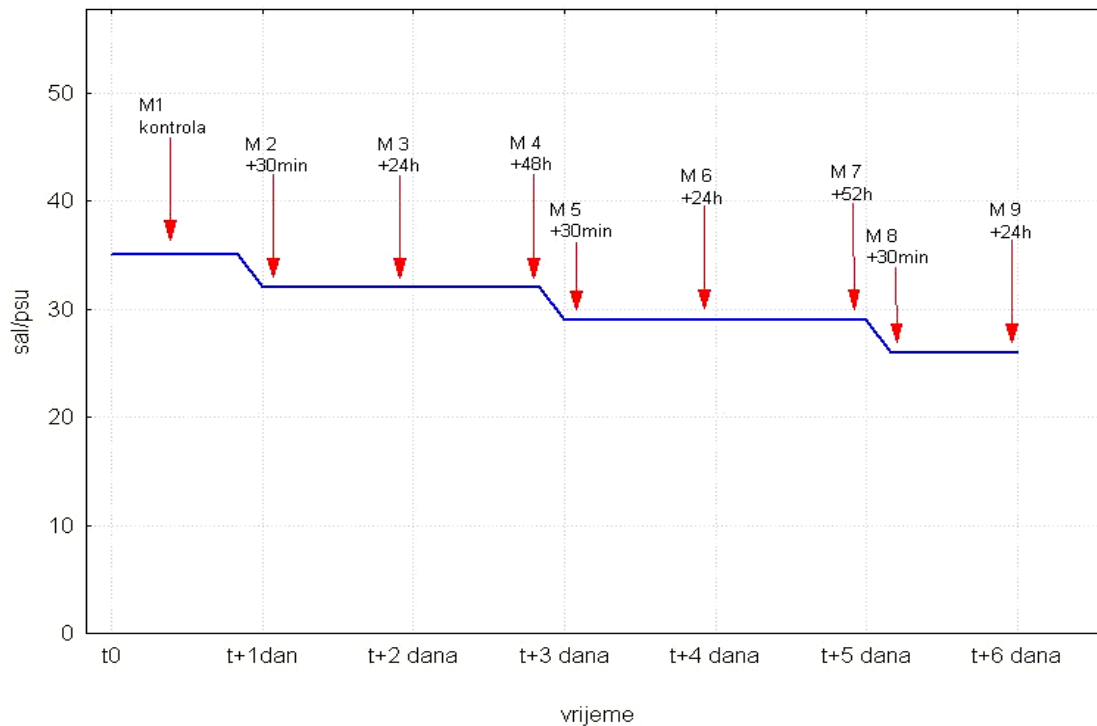
Kao kontrolno mjerenje obavljeno je mjerenje potrošnje kisika mlađi obične sipe pri ambijentalnim uvjetima. Ukupno je potrošnja kisika pri ambijentalnim uvjetima mjerena na 10 jedinki mlađi sipe. Ovi rezultati korišteni su kao usporedba za sva mjerenja s promijenjenom slanosti, kao i za usporedbu s mjerenjima potrošnje kisika uz dodavanje žive hrane u komoru.

2.4.2. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE UZ PROMJENE SLANOSTI

Za potrebe ispitivanja utjecaja slanosti medija na metabolizam sipe u uzgojnim tankovima, slanost je smanjivana svakih 48 sati. Mjerenje je vršeno u režimu 30 min, 24 sata i 48 sati po promjeni slanosti. Provedeno je ukupno 9 mjerenja gdje su sipe izložene pri 4 različite vrijednosti slanosti medija: 35 psu (ambijentalna vrijednost), 32 psu, 29 psu i 26 psu (slika 18). Ukupno je premjereno 34 jedinki mlađi obične sipe (tablica 1).

Tablica 1. Ukupan broj mjerenih jedinki obične sipe za svaku vrijednost slanosti medija.

SLANOST	35 psu	32 psu	29 psu	26 psu
	10	+30 min. n= 3	+30 min. n= 5	+30 min. n= 2
	-	+24h n=3	+24h n=3	+24h n=2
	-	+48 h n=3	+48 h n=3	-
UKUPNO	n=10	n=9	n=11	n=4

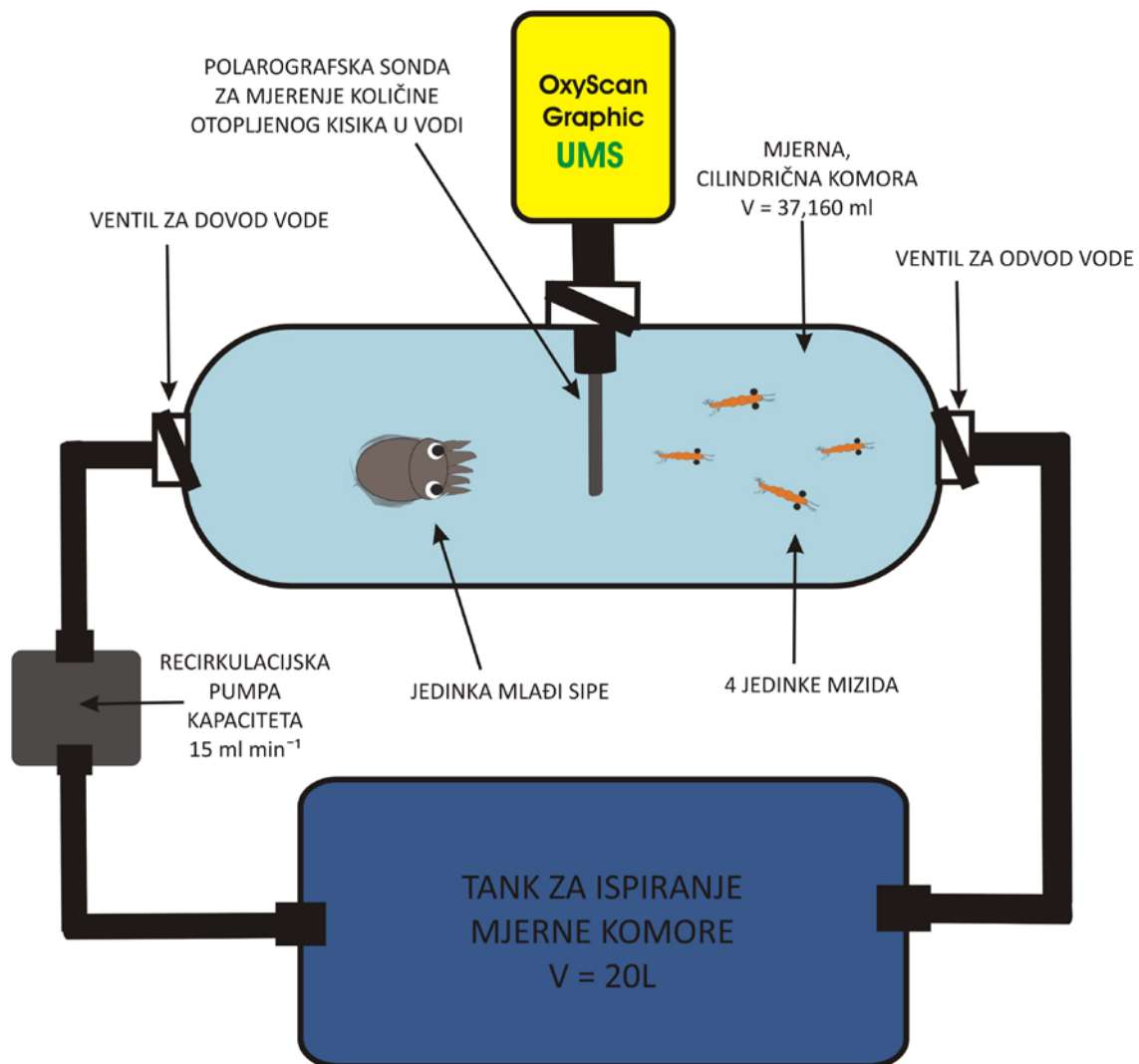


Slika 18. Slikoviti prikaz provedenog režima promjene slanosti i mjerenja kroz vremensko razdoblje od 6 dana.

2.4.3. MJERENJE POTROŠNJE KISIKA MLAĐI SIPE UZ PRISUTNOST PLIJENA

Pri ispitivanju utjecaja prisutnosti plijena na potrošnju kisika mlađi sipe, mjerene jedinke postavljene su u vodeni medij ambijentalnih vrijednosti temperature i slanosti. Prethodno je izvršeno mjerenje potrošnje kisika mizida vrste *Hemimysis lammornae mediterranea* (Bacescu, 1936) u komori radi kalibracije rezultata. Prvotno se mjerila potrošnja kisika za svaku jedinku bez prisutnosti plijena, a nakon toga bi se u hermetički zatvorenu komoru, uz jedinku mlađi sipe introduciralo i 4 jedinke mizida (slika 19). Ukupno je premjereno 5 jedinki obične sipe.

**SHEMATSKI PRIKAZ POSTUPKA MJERENJA POTROŠNJE KISIKA
MLAĐI SIPE METODOM "INTERMITTENT RESPIROMETRY
UZ PRISUTNOST PLIJENA, MIZIDA**



Slika 19: Shematski prikaz mjerenja potrošnje kisika mlađi sipe obične uz prisutnost plijena, mizida *Hemimysis lammornae mediterranea*, u zatvorenom sustavu.

2.5. IZRAČUN I STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Podaci mjerenja količine otopljenog kisika su prvo obrađeni u Excel za Windowse programu, gdje je izračunata potrošnja kisika u $\text{mg O}_2 \text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$. Daljnja statistička obrada podataka provedena je u Statistica za Windowse v. 7.0 programu. Korištena je statistička metoda regresijske analize da bi se ustanovila međusobna ovisnost količine otopljenog kisika u komori o vremenu provedenom u pokusu.

Regresijska jednadžba :

$$Y = a + bx$$

y – zavisna varijabla

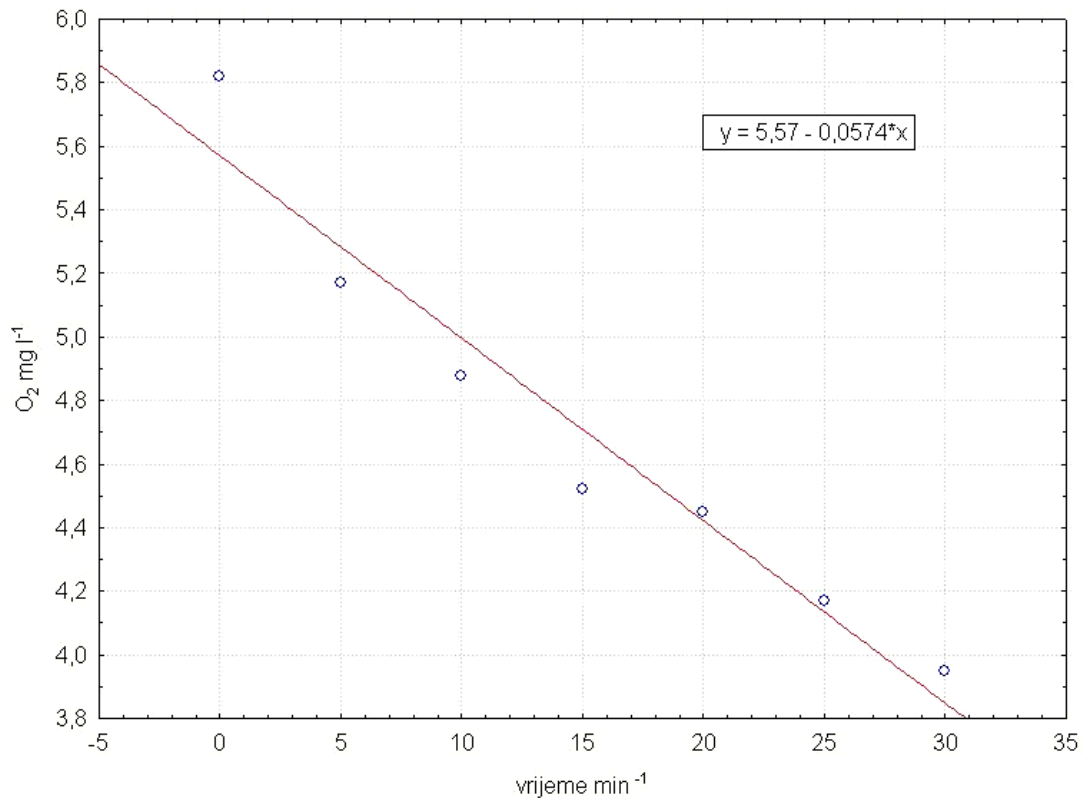
x – nezavisna varijabla

a – konstanta (pokazuje vrijednost zavisne varijable u slučaju kada je nezavisna varijabla jednaka nuli).

b – regresijski koeficijent (pokazuje za koliko se u prosjeku mijenja zavisna varijabla ako se nezavisna varijabla promijeni za jedan – najvažniji pokazatelj regresijske analize).

Linearna regresija promjene količine otopljenog kisika u komori prema vremenu potrošnje dala je regresijski koeficijent koji je korišten kao mjera promjene količine otopljenog kisika u komori po jednoj minuti. Pokusom dobiveni brožčani rezultati izraženi su kao količina otopljenog kisika u morskoj vodi: $\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$.

Regresijskom analizom u programu Statistica za Windowse, dobiven je grafički prikaz, linearni regresijski pravac (slika 20). Regresijski koeficijent koji možemo pročitati iz dobivene formule ($y=a+bx$) je korišten kao mjera promjene količine otopljenog kisika u komori po jednoj minuti. Primjećujemo trend opadanja potrošnje kisika kod sipe u komori u razdoblju od 30 min pri ambijentalnim uvjetima bez prisutnosti plijena.



Slika 20: Linearni regresijski pravac koji pokazuje opadanje koncentracije kisika u komori kroz period od 30 min.

Volumen morske vode u komori dobiven je prema formuli:

$$V_m = V_k - BW$$

V_m – zapremina mora u komori u ml

V_k – zapremina prazne komore u ml

BW – tjelesna masa sipe (aproksimativno je 1g BW=1ml morske vode)

Dalje, potrošnja kisika sipe u komori dobivena je prema slijedećoj formuli:

$$PO_2 = (\text{reg. Coef.} \cdot V_m) / BW$$

PO_2 – potrošnja kisika u minuti

Reg. Coef. – regresijski koeficijent, odnosno nagib krivulje promjene količine kisika tijekom jedne minute mjerenja

BW – tjelesna masa sipe

Konačno je dobivena potrošnja kisika u minuti pomnožena sa 60 da bi se dobila potrošnja kisika izražena u $\text{mg O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Statistička obrada podataka obavljena je s pomoću Excell za Windowse i Statistica v. 7.0 za Windowse programa. Podaci su analizirani s pomoću ANOVA statističke metode analize varijance da bi se utvrdila razlika u potrošnji kisika između različitih tretmana. Dalje, korištena je regresijska analiza kojom se dobio model potrošnje kisika u zavisnosti o slanosti, temperaturi i masi mlađi sipe.

3. REZULTATI

U ovom istraživanju prikupljeno je 135 jajašaca sipe, od čega je postignuto 94,074 % izvaljenje, točnije izvalilo se 127 jedinki, dok je neizvaljeno ostalo 8 jajašaca, odnosno 5,926 %. Jedinke su bile prosječne mase tijela od 0,135 g, s minimalnih 0,08 g i maksimalnih 0,17 g.

Temperatura uzgojnog vodenog medija varirala je od min. 23,9 °C do max. 27,9 °C. Slanost se mijenjala, od maksimalnih ambijentalnih 35 psu do minimalnih 26 psu. Minimalna dobivena potrošnja kisika (PO_2) mladi sipe iznosila je 0,0799416 $mgO_2g^{-1}h^{-1}$, maksimalna PO_2 iznosila je 0,968015455 $mgO_2g^{-1}h^{-1}$, dok je prosječna dobivena potrošnja kisika mladi sipe iznosila 0,490102323 $mgO_2g^{-1}h^{-1}$ (tablica 2).

Tablica 2. Najmanje, najveće i prosječne vrijednosti temperature (°C), mase mladi sipe (g), slanosti (psu) i potrošnje kisika mladi sipe ($mgO_2g^{-1}h^{-1}$) te standardna devijacija istih, dobivene u rujnu 2009.

	TEMPERATURA (°C)	SLANOST (psu)	MASA (g)	PO_2 $mgO_2g^{-1}h^{-1}$
Prosjeak	25,47988235	31,20588235	0,135294118	0,490102323
Max.	27,928	35	0,17	0,968015455
Min.	23,9	26	0,08	0,0799416
Stdev.	1,174052484	2,998687101	0,028400921	0,238738524

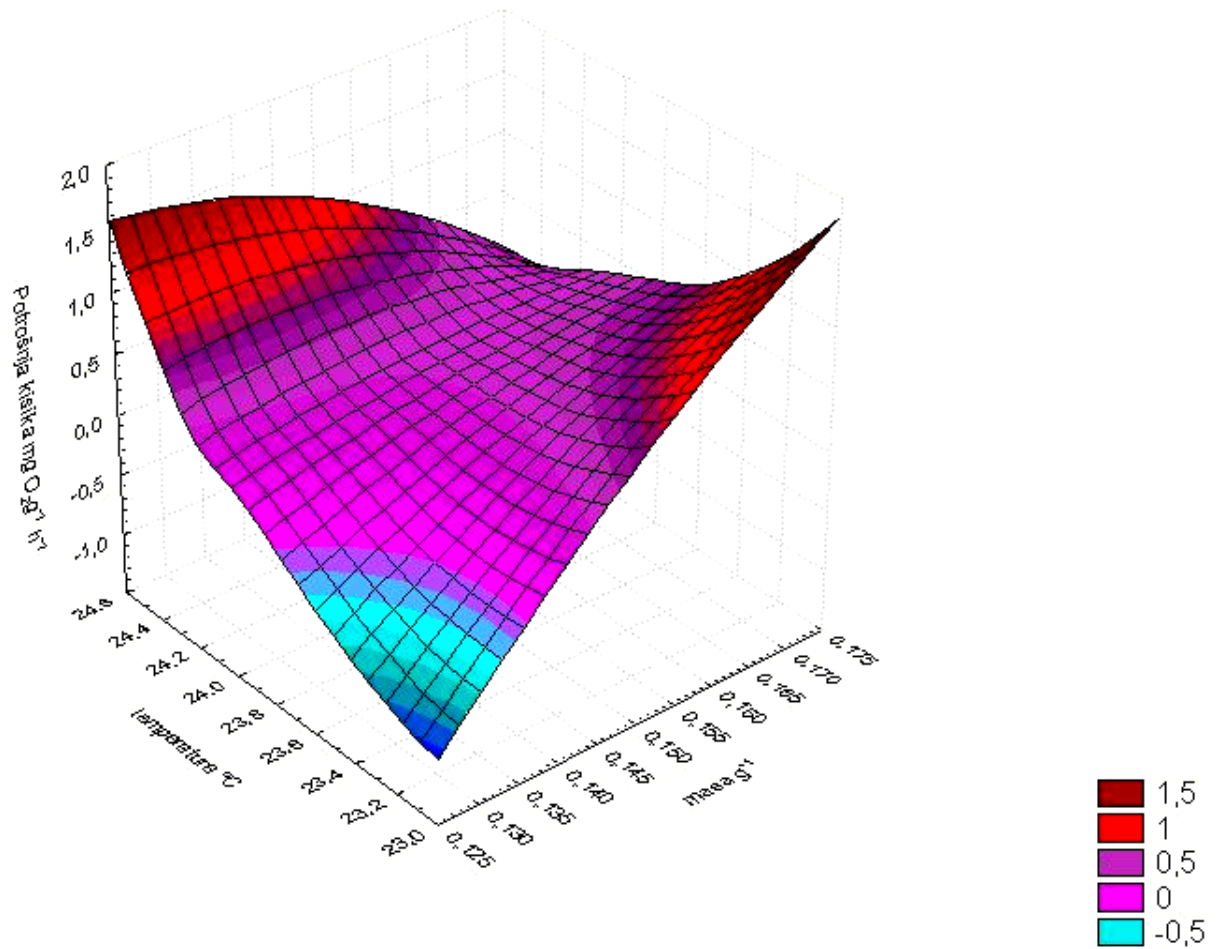
3.1. POTROŠNJA KISIKA MLAĐI SIPE PRI AMBIJENTALNIM UVJETIMA

Za potrebe izračuna potrošnje kisika mlađi sipe pri ambijentalnim uvjetima obrađeno je 10 jedinki kroz vremensko razdoblje od 30 minuta. Temperatura medija u komori za mjerenje iznosila je $24 \pm 1,0$ °C (minimalna 23,285 °C, maksimalna 24,542 °C), minimalna masa mjerenih jedinki mlađi sipe iznosila je 0,13 g, a maksimalna 0,17 g; dok se potrošnja kisika kretala od minimalnih $0,2161384 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ do maksimalnih $0,6784875 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (tablica 3).

Tablica 3. Najmanje, najveće i prosječne vrijednosti temperature (°C), slanosti (psu), mase (g) mjerenih jedinki mlađi sipe obične i njihove potrošnje kisika ($\text{mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) pri ambijentalnim uvjetima vodenog medija.

	TEMPERATURA (°C)	SLANOST (psu)	MASA (g)	PO ₂ $\text{mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$
Prosjek	24,1068	35	0,153	0,366035664
Max.	24,542	35	0,17	0,6784875
Min.	23,285	35	0,13	0,2161384

Grafički prikaz dobiven u programu Statistica za Windowse prikazuje promjene u koncentraciji kisika otopljenog u vodi, izraženo u $\text{mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ izmjerene polarografskom sondom pri ambijentalnim uvjetima, bez prisutnosti plijena. Uočavamo ovisnot potrošnje kisika s obzirom na temperaturu okolnog medija i masu subjekta. Veće jedinke mlađi sipe imaju veću potrošnju kisika, također PO₂ raste pri višim temperaturama okolnog medija (slika 21).



Slika 21: Potrošnja kisika ($\text{mgO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) mladi sipe kroz razdoblje od 30 minuta pri ambijentalnim uvjetima (slanost 35psu) kao funkcija temperature ($^{\circ}\text{C}$) okolnog medija i mase (g) subjekta.

3.2. POTROŠNJA KISIKA KOD MLADI SIPE PRI PROMJENAMA SLANOSTI

Slanost je periodično mijenjena, tj. smanjivana dodavanjem aerirane destilirane vode u uzgojni medij za 3 psu, dakle s ambijentalne vrijednosti od 35 psu, prvotno na 32 psu, zatim na 29 psu, te najmanje na 26 psu.

Obavljeno je ukupno 9 mjerenja. Prvo mjerenje kroz 30 minuta na ambijentalnim vrijednostima, slanosti 35 psu na uzorku od 10 jedinki. Pri vrijednostima slanosti od 32 psu i 29 psu obavljena su po 3 mjerenja, nakon razdoblja od 30 min., zatim nakon 24 sata, te nakon 48 sati, dok su kod slanosti od 26 psu obavljena mjerenja nakon 30 minuta, te nakon 24 sata. Ukupno su dobiveni rezultati na 35 jedinki mlađi sipe.

Najmanja potrošnja kisika sipe iznosila je 0,079942 mgO₂g⁻¹h⁻¹ i ta vrijednost je dobivena pri slanosti od 32 psu. Najveća vrijednosti potrošnje kisika dobivena je također pri 32 psu i iznosi 0,968015 mgO₂g⁻¹h⁻¹ što nam ukazuje da slanost vjerojatno nema značajan utjecaj na potrošnju kisika (tablica 4).

Tablica 4: Najmanje, najveće i prosječne vrijednosti potrošnje kisika (PO₂) mlađi sipe obične izražene u mgO₂g⁻¹h⁻¹ za svaku promjenu vrijednost slanosti (psu).

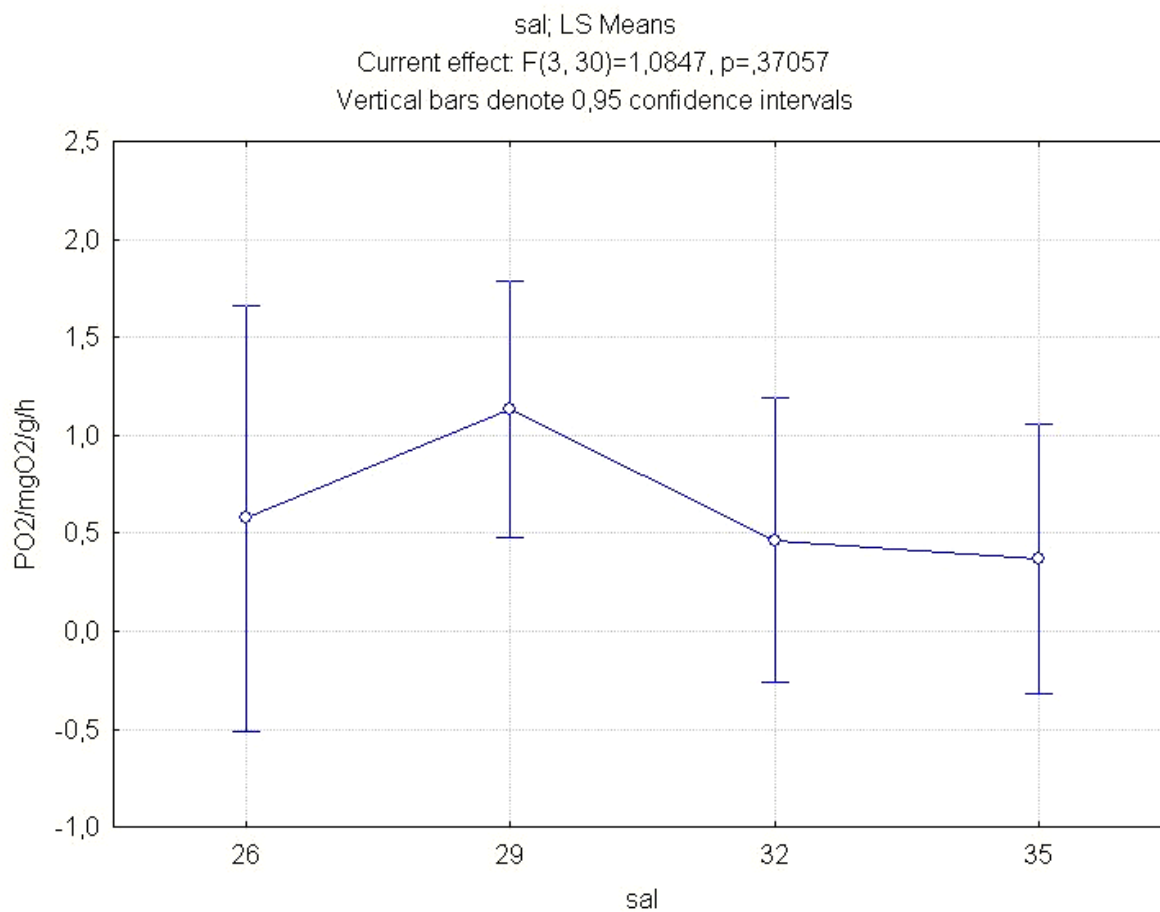
POTROŠNJA KISIKA S OBZIROM NA PROMJENE SLANOSTI → PO ₂ mgO ₂ /g/h				
	n = 10	n = 9	n = 11	n = 4
	35 psu	32 psu	29 psu	26 psu
Prosjek	0,366036	0,463437	0,593558	0,575762579
Max.	0,678488	0,968015	0,939978	0,719521385
Min.	0,216138	0,079942	0,37185	0,42237

Programom Statistica za Windowse provedena je ANOVA analiza varijance (tablica 5). Dobiveni rezultati pokazuju da test značajnosti, tj. razina značajnosti (p) za slanost iznosi 0,370575 što znači 62,9 %. Taj iznos se ne smatra statistički značajan, međutim grafički prikaz pokazuje promjenu potrošnje kisika s obzirom na različite vrijednosti slanosti.

Tablica 5: ANOVA analiza varijance; test značajnosti za PO₂ mlađi sipe *Sepia officinalis*

effect	TEST ZNAČAJNOSTI ZA PO ₂ (mgO ₂)				
	SIGMA RESTRICTED PARAMETERIZATION; EFFECTIVE HYPOTESIS DECOMPOSITION				
	SS	STUPNJEVI SLOBODE	MS	F	p
INTERCEPT	11,652050	1	11,652050	10,305400	0,003155
SLANOST	3,679320	3	1,226440	1,084700	0,370575
ERROR	33,920220	30	1,130670		

Potrošnja kisika mlađi sipe pri promjenama slanosti nema značajne razlike u usporedbi s potrošnjom kisika mlađi sipe pri ambijentalnim uvjetima. Međutim, gledajući grafički prikaz srednjih vrijednosti potrošnje kisika (PO₂) izraženih u mgO₂ g⁻¹ h⁻¹ pri različitim vrijednostima slanosti (psu), možemo primijetiti blagi trend porasta potrošnje kisika (slika 22).



Slika 22: Srednje vrijednosti potrošnje kisika (PO_2) ($mgO_2 g^{-1} h^{-1}$) mlađi sipe obične dobivenih u rujnu 2009. pri različitim vrijednostima slanosti (psu).

Programom Statistica za Windowse v. 7.0. dobivene su vrijednosti, tj. rezultat multiple regresijske analize za potrošnju kisika mladi sipe kao varijable ovisne o parametrima slanosti, temperature i mase mjerene jedinke. Dobivenih rezultati pokazuju da za potrošnju kisika sipe važan utjecaj imaju temperatura i masa mjerene jedinke, dok slanost ne pokazuje statistički značajan utjecaj.

Razina značajnosti (P-level) za temperaturu iznosi 0,013837 što znači 98,6 % statistički značajnog utjecaja; P-level za masu iznosi 0,000049 što znači 99,9 % statistički značajan utjecaj, dok za slanosti iznosi 0,103732 što znači 89,6 %, dakle ne postoji statistički značajan utjecaj slanosti na potrošnju kisika (tablica 6).

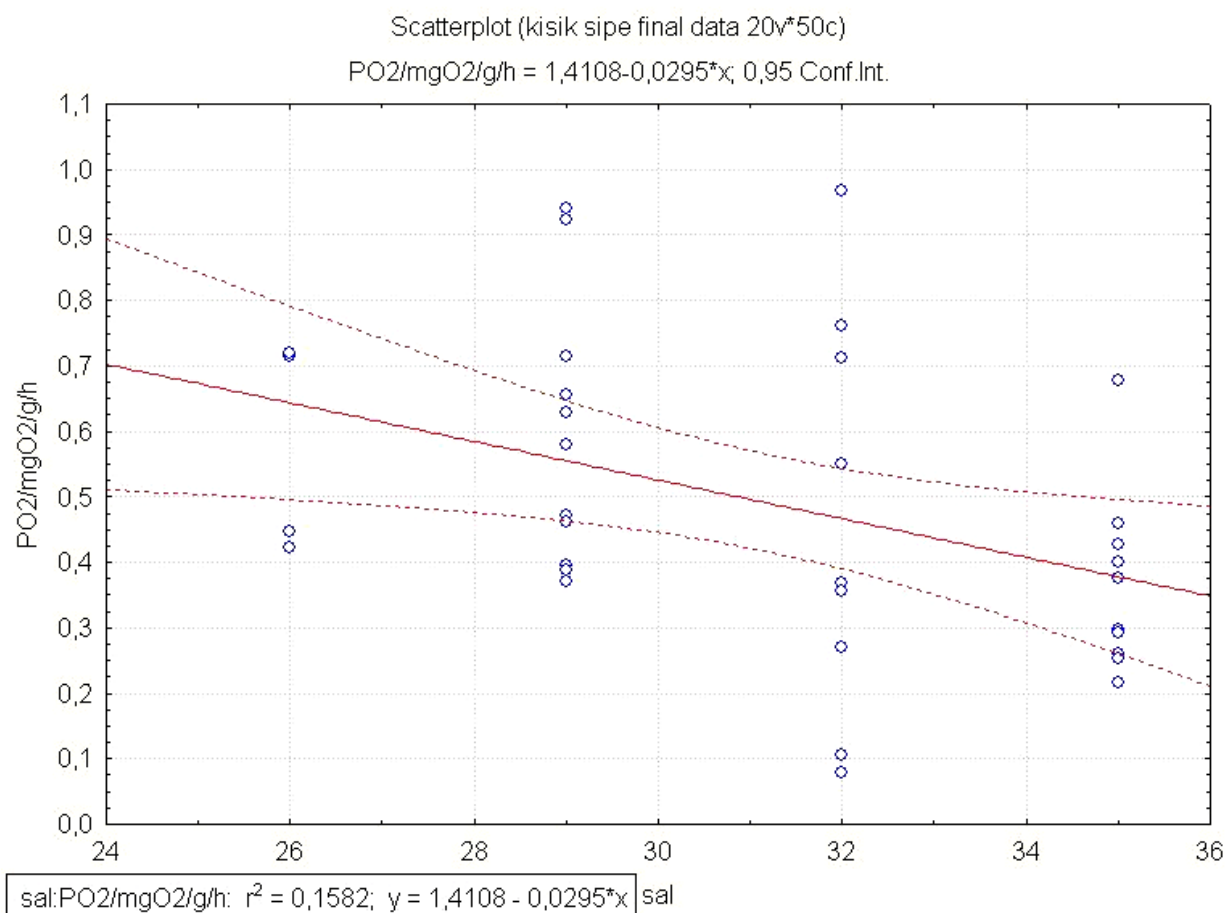
Tablica 6. Rezultat regresijske analize za ovisnu varijablu PO₂ mladi sipe obične.

n=34	REZULTAT REGRESIJSKE ANALIZE ZA OVISNU VARIJABLU PO ₂ (mgO ₂)					
	BETA	STD. ERROR OF BETA	B	STD. ERROR OF B	t(30)	P-LEVEL
INTERCEPT			-1,826390	1,222172	-1,494380	0,145521
TEMPERATURA (°C)	0,477579	0,182651	0,090500	0,034613	2,614700	0,013837
SLANOST	0,363689	0,216737	0,026980	0,016079	1,678020	0,103732
MASA (g)	-0,754538	0,159355	-6,145750	1,297954	-4,734950	0,000049

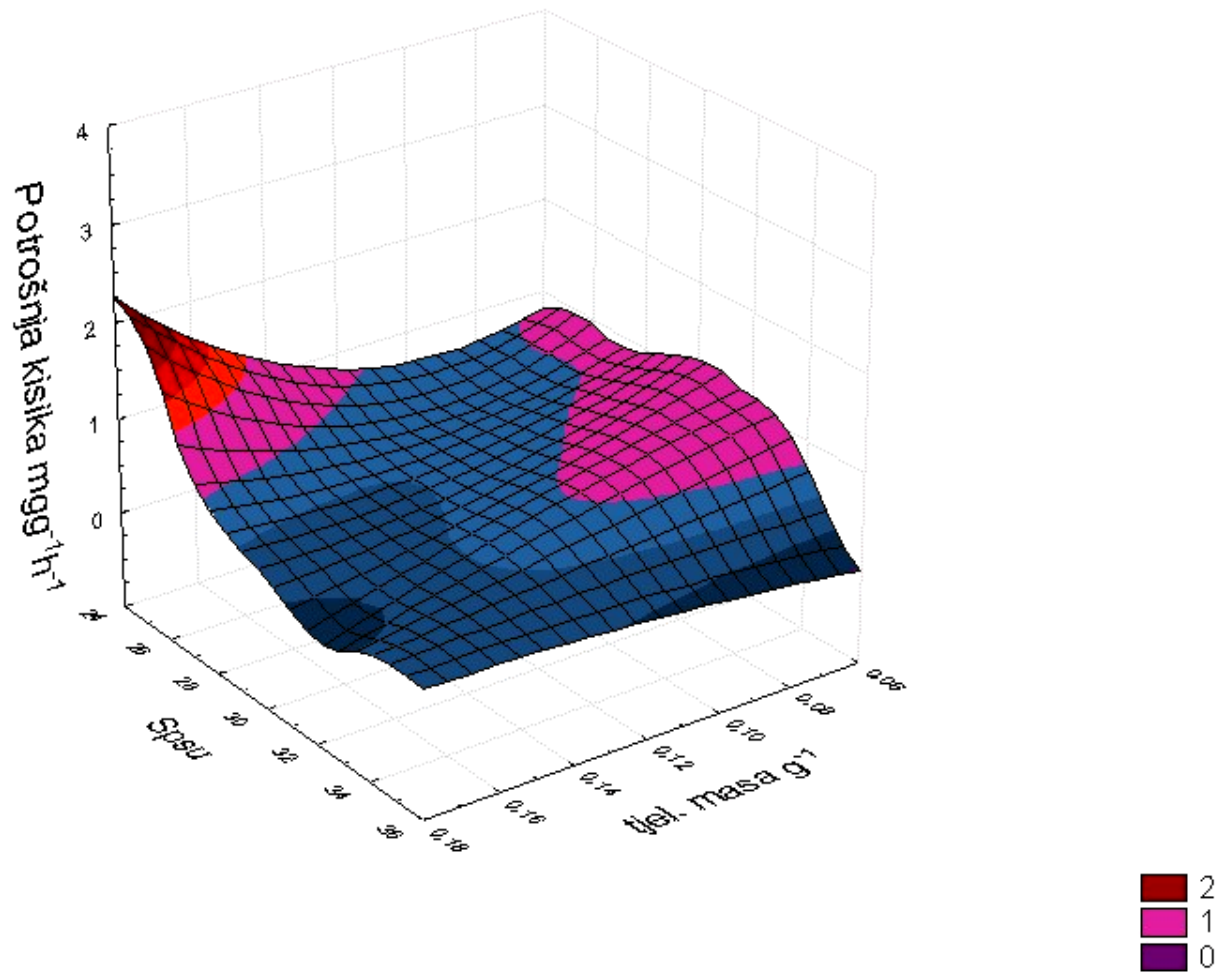
Iz grafičkih prikaza promjene i ovisnosti potrošnje kisika (PO₂) mladi sipe *S. officinalis* izražene u mgO₂ g⁻¹ h⁻¹ s obzirom na različite vrijednosti slanosti vidljivo je da je da postoji blagi trend porasta potrošnje kisika sa smanjenjem slanosti (slika 23). Regresijska formula koja opisuje multiplu ovisnost potrošnje kisika kao funkciju utjecaja slanosti, tjelesne mase jedinke i temperature medija dana je u obliku:

$$PO_2 \text{ mg g}^{-1} \text{ h}^{-1} = -1,866 + 0,3637 \times S_{psu} + (-0,7545) \times BW \text{ g}^{-1} + 0,477 \times t^{\circ}C$$

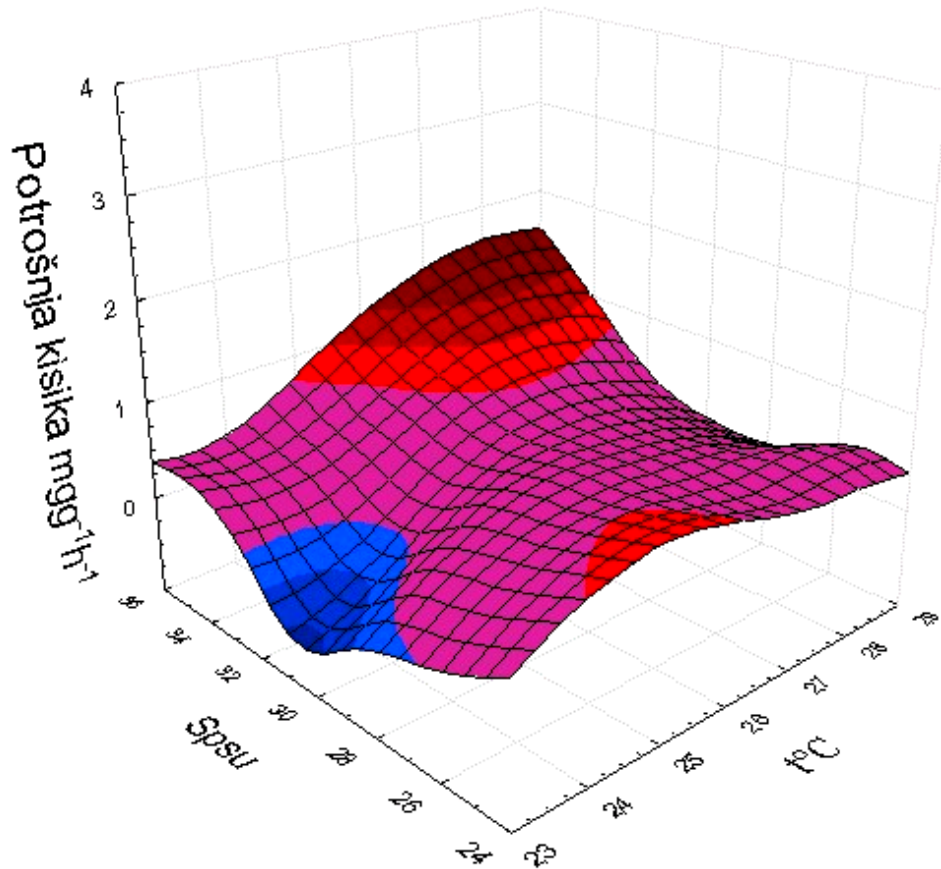
Model utjecaja mase jedinke i slanosti na potrošnju kisika, prikazan na slici 24, te utjecaja temperature i slanosti (slika 25) predviđa pad potrošnje kisika na slanostima oko vrijednosti 29 psu.



Slika 23: Grafički prikaz promjene i ovisnosti potrošnje kisika (PO_2) mladi sipe *S. officinalis* izražene u $mgO_2 g^{-1} h^{-1}$ s obzirom na različite vrijednosti slanosti (psu).



Slika 24: Potrošnja kisika (PO_2) izražena u $mgO_2 g^{-1} h^{-1}$ kao funkcija slanosti (psu) vodenog medija i mase (g) mjerenih jedinki.



Slika 25. Potrošnja kisika (PO_2) izražene u $mgO_2 g^{-1} h^{-1}$ kao funkcija slanosti (psu) i temperature ($^{\circ}C$) vodenog medija.

3.3. POTROŠNJA KISIKA MLADI SIPE UZ PRISUTNOST PLIJENA

Ovisnost potrošnje kisika o prisutnosti plijena mjerena je na način da su se u mjernu komoru dodavale po 4 jedinke mizida vrste *Hemimysis lammornae mediterranea*. Srednja temperatura medija u komori za vrijeme mjerenje iznosila je $26,0 \pm 1,5$ °C, a slanost je bila ambijentalne vrijednosti od 35 psu. Masa mjerenih jedinki mlađi sipe varirala je od minimalnih 0,12 g do maksimalnih 0,14 g, s time da masa mizida dodavanih u mjernu komoru nije imala značajan utjecaj zbog jako male vrijednosti (tablica 7).

Provedeno je ukupno 10 mjerenja na uzorku od 5 jedinki mlađi sipe, za svaku jedinku po 2 mjerenja, prvo prije dodavanja plijena kroz razdoblje od 30 minuta, a drugo uz prisutnost plijena također kroz razdoblje od 30 minuta. Prva jedinka sipe konzumirala je sva četiri ponuđena mizida kroz 30 minuta; druga mjerena jedinka pojela je dvije jedinke mizida kroz 30 minuta; treća mjerena jedinka konzumirala je samo jednog mizida; dok su četvrta i peta jedinka pojele je sav ponuđen plijen.

Minimalna potrošnja kisika (PO_2) za sipe bez prisutnosti plijena u komori iznosila je $0,216 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$, maksimalna vrijednost PO_2 iznosila je $0,910 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$, dok je prosječna potrošnja kisika iznosila $0,4411 \pm 0,238 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$. Uz prisutnost plijena (mizidni rakovi) u komori vrijednost prosječne potrošnje kisika iznosila je $0,6045 \pm 0,2842 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (min. $0,342 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$, maks. $1,077 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$).

Iz grafičkog prikaza ovisnosti potrošnje kisika sipe uz prisutnost plijena (slika 26), vidljivo je da sipe nakon dodatka plijena imaju nešto veću potrošnju kisika. Iako nema statistički značajne promjene u potrošnji kisika nakon dodavanja živog plijena u komoru, ako usporedimo vrijednosti s onima kontrolne skupine na 35 psu ($0,366 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) te s vrijednosti potrošnje kisika prije davanja plijena u komoru ($0,4411 \text{ mgO}_2\text{g}^{-1}\text{h}^{-1}$) vidimo da sipa uz prisutnost plijena troši nešto veću količinu kisika.

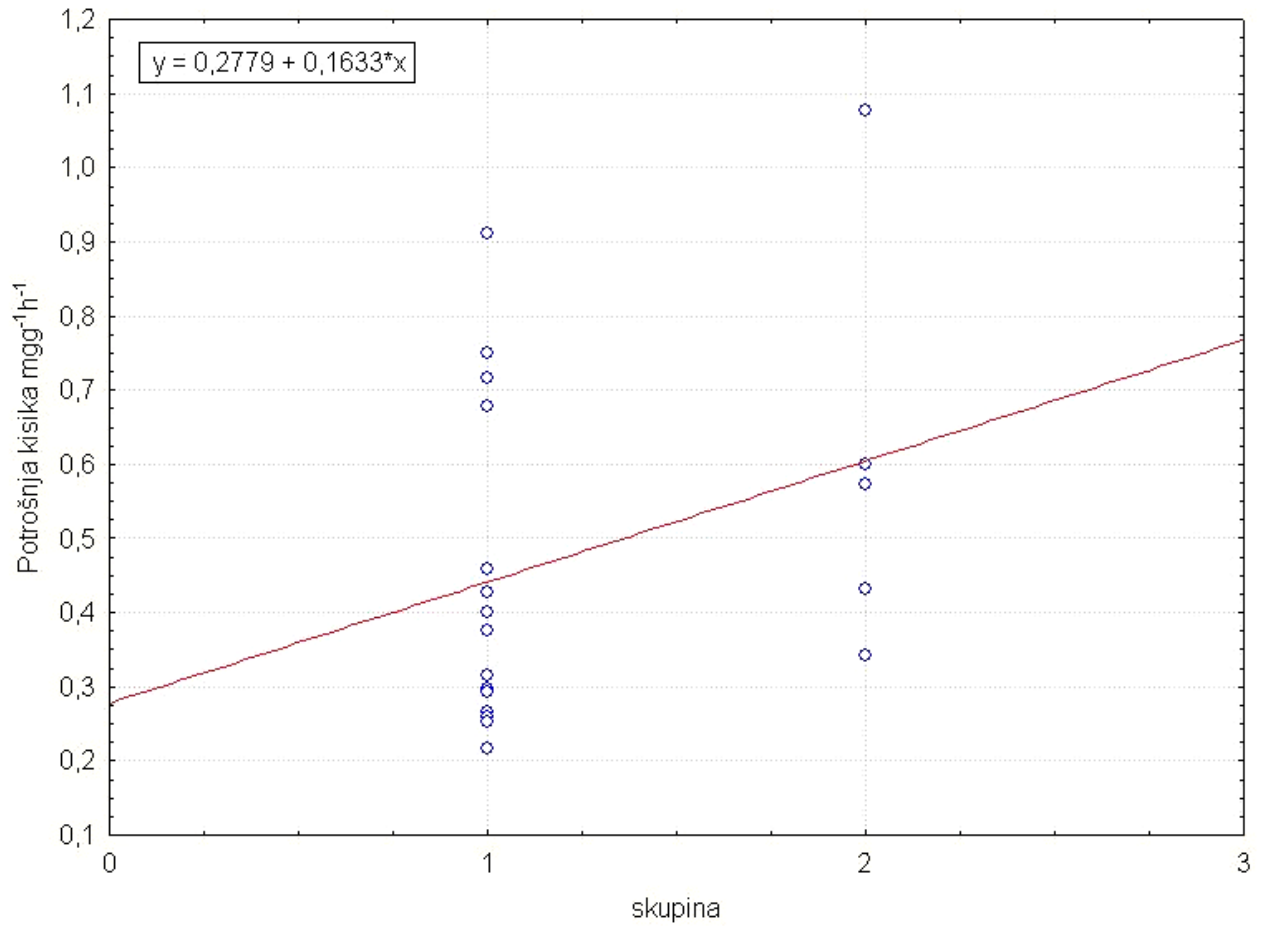
Tablica 7: Najmanje, najveće i prosječne vrijednosti slanosti, mase, temperature i potrošnje kisika mladi sipe s obzirom na prisutnost plijena u mjernoj komori.

	SLANOST (psu)	MASA (g)	TEMPERATURA (°C)	PO ₂ mgO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹
Prosjek	35	0,1333	26,09	0,7083
Max.	35	0,14	27,10	1,8116
Min.	35	0,12	24,50	0,2666

Programom Statistica za Windowse provedena je ANOVA analiza varijanci (tablica 8). Rezultati nam pokazuju da prisutnost plijena, u ovom slučaju mizida vrste *Hemimysis lammornae mediterranea*, nema značajan utjecaj na potrošnju kisika mladi sipe *S. officinalis*. Test značajnosti nam daje razinu značajnosti $p < 0,01$.

Tablica 8: ANOVA analiza varijance za PO₂ mladi sipe *Sepia officinalis* uz prisutnost plijena *Hemimysis lammornae mediterranea*.

Effect	TEST ZNAČAJNOSTI ZA PO ₂ SIPA + MIZIDI (mgO ₂)				
	SS	Stupnjevi slobode	MS	F	p
INTERCEPT	4,100525	1	4,100525	74,935430	0,000000
Plijen	0,100035	1	0,100035	1,828090	0,193098
ERROR	0,984974	18	0,054721		



Slika 26: Grafički prikaz potrošnje kisika ($\text{mgO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) kod skupine jedinki mladi sipe bez prisutnosti i uz prisutnost plijena (Skupina 1. samo sipe, Skupina 2. sipe i mizidi).

4. RASPRAVA

U ovom istraživanju, kroz laboratorijski pokus potrošnje kisika mladi obične sipe metodom „intermittent respirometry“, dobiveni su rezultati pokazali ovisnost potrošnje kisika sipe o utjecaju temperature, tjelesne mase, slanosti i prisutnosti plijena. Rezultati potrošnje kisika ukazuju na specifično ponašanje sipe u uvjetima zatočeništva, te mogu biti korisni u postupku rješavanja problema vezanih za uvođenje sipe u proces uzgoja.

S obzirom na ograničene podatke dosadašnjih istraživanja o ovoj temi, mjerenje potrošnje kisika mladi sipe nam može dati uvid i upotpunjenje saznanja o metaboličkim aktivnostima i prilagodbama sipe u morskoj vodi, s obzirom na promjenjene uvjete okoliša, tj. utjecaj abiotičkih čimbenika (temperatura i slanost) i masu mjerenih jedinki kao biotički čimbenik; te odrediti zavisnost metaboličke aktivnosti sipe s obzirom na aktivnosti pri hranjenju u laboratorijskim uvjetima.

Studije disanja kod glavonožaca su provedena uglavnom na hobotnici i lignji, te u manjoj mjeri na sipama (Johansen i sur., 1982; Wolf i sur., 1985; Wachter i sur., 1988; Melzner i sur., 2007). Dosadašnji podaci studija potrošnje kisika vrste *S. officinalis* pružaju ograničene podatke o utjecaju slanosti, temperature i prisutnosti plijena u eksperimentalnim uvjetima (Wachter, 1988).

Sipa je kratkoživući organizam, izrazito predatornog ponašanja, visoke stope metabolizma, što nam ukazuje da su joj za optimalan rast, razvoj i razmnožavanje potrebne velike količine kisika. Kisik je vrlo važan čimbenik u pojavljivanju sipe na određenom području i stvaranju njenih populacija. Tolerancija ove životinje na promjene u količini otopljenog kisika u vodi je relativno mala (Johansen i sur., 1982). Iako su razine osnovne metaboličke aktivnosti, kada se kompenziraju za temperaturu i veličinu organizma, za sve organizme približno jednake, vodeći se osnovnim načelom metaboličke kinetike, možemo zaključiti da je temperatura osnovni čimbenik koji utječe na razinu odvijanja biokemijskih reakcija, te tako, u aerobnom metabolizmu, izravno utječe na potrošnju kisika (Gillooly i sur., 2001., Grigoriou i Richardson, 2009). Glavonošci su ektotermni (hladnokrvni) organizmi, stoga temperatura medija u kojemu se nalaze određuje ukupnu metaboličku aktivnost organizma, a s time i pretvorbu hrane i rast (Melzner i sur., 2007.). Iako je temperatura

medija, zabilježena u provedenom pokusu, u gornjem dijelu raspona normalnih temperatura pojavljivanja za sipe, naši podaci su u skladu s ovim načelima, te pokazuju izravan, upravno razmjeran i statistički značajan utjecaj temperature na potrošnju kisika kao parametra ukupne metaboličke aktivnosti sipe.

U današnje vrijeme, jedan od glavnih trendova promatranih u evoluciji viših životinjskih vrsta je održavanje homeostaze organizma, te regulacija koncentracije iona u vanstaničnom prostoru. Vodeni organizmi razvijaju strategije prilagođavanja različitim osmotskim koncentracijama, tj. različitim slanostima okolnog medija. Osmotska koncentracija tjelesnih tekućina većine vodenih organizama je jednaka okolnom mediju, u tom slučaju govorimo o osmokonformerima, dok organizme koji održavaju osmotsku koncentraciju tjelesnih tekućina različitom od one okolnog medija nazivamo osmoregulatorima. Životinje uglavnom reguliraju specifične ione na koncentracijama različitima od okolnog medija, te ih nazivamo ionoregulatorima. Čak i organizmi s relativno primitivnim osmoregulatorskim mogućnostima, reguliraju koncentraciju pojedinih iona u tjelesnim tekućinama. Većina morskih beskralježnjaka spada u osmokonformere, međutim većina su efektivni ionoregulatori. S obzirom na osmotske koncentracije okolnog medija i tjelesnih tekućina, postoji hiperosmotska regulacija (održavanje osmotskog tlaka tjelesnih tekućina većim od okolnog medija) i hipoosmotska regulacija (održavanje osmotskog tlaka tjelesnih tekućina manjim od okolnog medija). U slučaju da je osmotska koncentracija tjelesnih tekućina jednaka okolnom mediju, nije potrebna osmoregulacija, organizam se ponaša kao osmokonformer. Ionska i osmotska regulacija zahtjevaju aktivni transport iona za što je potrebna odedena energija (ATP), da bi se pomicali ioni protiv njihovog elektrokemijskog gradijenta (Kirschner, 1979; Withers; Comparative Animal Physiology 1992).

Rezultati dobiveni u ovom laboratorijskom pokusu, pokazuju da u zavisnosti o smanjenoj slanosti, mlađ sipe *Sepia officinalis*, troši veće količine kisika. Pri smanjenju s ambijentalnih vrijednosti od 35 psu do slanosti od 26 psu, mlađ sipe se ponaša kao blagi osmoregulator, tj. potrošnja kisika je nešto povećana. Ovaj rezultat je dobro vidljiv u grafičkom prikazu srednjih vrijednosti potrošnje kisika (PO_2) izraženih u $mgO_2 g^{-1} h^{-1}$ pri različitim vrijednostima slanosti (psu). Međutim, ove rezultate povećane potrošnje kisika moramo uzeti u obzir samo vezano za interakciju sa promjenama temperature, jer je metabolička aktivnost organizma složena funkcija utjecaja više čimbenika, od slanosti,

temperature, mase organizma, kao i mnogih drugih utjecaja, što je, u pojednostavljenom modelu vidljivo iz grafova na slikama 24 i 25.

Za usporedbu možemo promatrati istraživanje koje su proveli Grigoriou i Richardson (2009) također na mlađi obične sipe. Nije zapažena značajna razlika u potrošnji kisika s obzirom na tjelesnu masu pri različitim temperaturama. Međutim primijećen je značajan utjecaj temperature na količinu potrošnje kisika. U svom pokusu mjerenja standardne potrošnje kisika mlade sipe prosječne mase 0,1 g, pri standardnoj slanosti od 34 psu i temperaturi od 25 °C bilježe srednju vrijednost potrošnje kisika od 0,428 mg O₂ g⁻¹h⁻¹. Naši podaci također pokazuju prosječnu potrošnju kisika sipe s vrijednosti od 0,4411±0,238 mg O₂ g⁻¹h⁻¹.

Johansen i sur. (1982) tvrde da većina glavonožaca pokazuje visoki aerobni metabolizam koji nadilazi onaj kod ostalih vodenih beskralježnjaka slične veličine, te mnogobrojnih, brzoplivajućih riba. Metaboličku ratu sipe možemo promatrati u usporedbi s organizmima u uzgoju, poput komercijalno važnih riba.

U istraživanju koje su proveli Claireaux i Lagardère (1999), mjerena je aktivna metabolička stopa (AMR) lubina (*Dicentrarchus labrax*) pri 10, 15 i 20 °C i procijenjena je na 0,065, 0,160 i 0,360 mg O₂ g⁻¹. Međutim, pri višim temperaturama (25 °C) AMR pao nešto (do 0,340 mg O₂ g⁻¹h⁻¹).

Kod jedinki mlađi lubina, *Dicentrarchus labrax*, prosječne težine od 1,11 ± 0,32 g, s obzirom na promjene slanosti i temperature, postupne promjene temperature (25-20-15-10 °C i 25-30 °C) inducirale su snažno povećanje metaboličke aktivnosti mjerenih jedinki. Mlađ lubina je izlagana i promjenama vrijednosti slanosti (37-20-5-2-5-20-37 ppt i 37-50 ppt). Metabolička stopa je povišena za 80% pri svakoj promjeni slanosti. Na temelju dobivenih podataka, konstruiran je model za maksimalnu gustoću nasada pri temperaturama od 10-30 °C, slanosti u rasponu 00-50 ppt, pri kojima bi uzgajana jedinke bile izložene minimalnim razinama stresa u zatočeništvu. Međutim, aktivnosti uzgajanih jedinki, prehrana, socijalne interakcije i stres pri rukovanju potiču ubrzanje metabolizma kod riba, te u tim slučajevima gustoća mora biti smanjena. Potrošnja kisika mlađi lubina je ovisna o temperaturi i kritični čimbenik za uspješnu akvakulturu (Dalla Via i sur; 1998).

U istraživanju vrste *Sparus aurata*, možemo promatrati rezultate dobivene o fiziološkim reakcijama kod komarče ubrzo nakon smanjivanja slanosti okolnog vodenog medija morske vode (3,7 %) na medij približno izotoničan plazmi (1,3 %) i na gotovo slatkovodan medij (0,3 %). Kardiorespiratorne varijable ne pokazuju jasne razlike nakon što je slanost promijenjena, osim u slučaju trenutne reakcije kompenzacijskih mehanizama. Primijećene su neznatne promjene u varijacijama koncentracije kortizola. Ove promjene su rezultat specifičnih fizioloških adaptacija na promjene vrijednosti slanosti i nespecifični odgovor na promjene okoliša (Altimiras i sur; 2003).

Provedeno je i istraživanje o učincima promjene temperature na potrošnju kisika kineskog škampa (*Fenneropenaeus chinensis*). Primijećena je veća potrošnja kisika s obzirom na porast temperature. Nije primijećen kompenzacijski odgovor na nižim temperaturama. Nagli porast temperature za 12 °C rezultirala naglim povećanjem u potrošnji kisika kod kineskog škampa prilagođenih na ambijentalnu temperaturu od 19 °C, dok nagli pad za 12 °C kod navedene vrste prilagođene na ambijentalnih 19 °C, rezultirala smanjenjem potrošnje kisika. Amplituda potrošnje kisika je smanjena kod kineskih škampi tijekom procesa prilagodbe na dnevna kolebanja temperature. Nakon što su škampi prilagođeni kolebanju temperature, srednje dnevne potrošnje kisika škampa su bila značajno niže. (Xiangli Tian i sur.; 2004).

Istraživanja provedenih na ribama, pokazalo su vezu između potrošnje kisika i mase subjekta u smislu da veće jedinke troše manje količine kisika (Zotin i sur., 2000). Isti rezultat je dobio i Johansen i sur. (1982) kod sipe. Međutim, u našem istraživanju su dobiveni rezultati koji pokazuju veću potrošnju kisika kod većih jedinki mlađi sipe. Kao objašnjenje tome može se navesti da su sve mjerene jedinke bile približno jednake starosti iako različite mase tijela. Obično je slučaj da su veće jedinke i one veće starosti, te im je za rast i razvoj potrebno manje kisika, dok je jedinke u juvenilnoj fazi života imaju veće potrebe za kisikom. U ovom istraživanju su sve jedinke bile približno jednake starosti (20 – 30 dana starosti) te su jedinke veće tjelesne mase trošile veće količine kisika.

Potreba za kisikom kod mlađi sipe značajno prelazi onu kod mlađi riba iz uzgoja, ali je opet manja nego ona u komercijalno uzgajanih rakova.

Sipa je predatorna vrsta, koja aktivno progona i lovi svoj plijen. Fiziologija sustava transporta kisika kod sipe pokazuje da se radi o visoko evoluiranoj skupini životinja, koja je stekla visoku složenost obrazaca ponašanja kao rezultat natjecanja sa mnogobrojnim predatorskim vrstama ribe (Johansen i sur., 1982). Energijski troškovi lova plijena moraju biti balansirani, tj. ukupna energijska dobit putem unešene hrane mora biti veća od energijskog troška pri lovu. Stanje ekscitiranosti (uzbuđenja) pri lovu plijena potiče veću potrošnju kisika. Mjerenje potrošnje kisika prije napada na plijen, te za vrijeme i nakon ulova plijena daje nam je osnovni uvid u količinu potrošnje energije radi ulova plijena. Naši podaci o ovisnosti potrošnje kisika o predatornoj aktivnosti sipe pokazuju, iako bez statističke značajnosti, ukupno 37,043% veću metaboličku aktivnost u prisutnosti plijena od one bez prisutnosti plijena.

Domingues i suradnici (2001a, 2002., 2003 a, b, 2004.) navode da prihvatljiva razina dnevnog unosa hrane za mlađ sipe iznosi između 10 i 20 % od ukupne tjelesne mase. Sipe su organizmi relativno brzog metabolizma, koji povoljno preživljavanje pokazuju samo hranjeni živom hranom, te su pri višim temperaturama (24 – 30 °C) brzina rasta i metaboličke aktivnosti su izrazito povećane (Domingues i sur., 2001 a, b).

Sipa je vrlo zanimljiv organizam za marikulturu i za znanstvena istraživanja. Razlog su njene osobine: brz rast, tolerancija na visoke gustoće u uzgoju i uvjete stresa, visok fekunditet, visoku stopu pretvorbe hrane, direktan razvoj jedinke iz jajašca (odsutnost ličinačkog stadija), te kratak životni ciklus (Domingues i sur; 2003). Boletzky (1989) je sipu nazvao slijedećim „bijelim mišem“ zbog jednostavnosti uzgoja i s obzirom na visoko razvijeni živčani sustav, mogućnost pamćenja i postojanje velikih provodnih aksona u živčanom sustavu.

Ipak postoje prepreke za uspješan i profitabilan intenzivan uzgoj sipe, a to su pojava smanjenog fekunditeta u uvjetima zatočeništva; semeliparija (mrijeste se jednom u cijelom životnom ciklusu, nakon mrijesta ženka ugiba); potrebe za živim plijenom i troškovi takve ishrane; te kanibalizam. Razvoj formulirane, umjetne hrane za sipu imati će veliki značaj za komercijalni uzgoj ovog organizma (Forsythe i sur., 1987., 1990).

5. ZAKLJUČAK

1. Pri postupnom smanjenju slanosti s ambijentalne vrijednosti od 35 psu do 26 psu, sipa pokazuje povećanje potrošnje kisika, što odgovara povećanoj metaboličkoj aktivnosti osmoregulatornog mehanizma, sipa se ponaša kao osmoregulator.
2. Dobiveni rezultati pokazuju da potrošnja kisika mlađi sipe raste s povećanjem temperature okolnog medija (od min. 23,9 °C do max. 27,9 °C). Ovakvi rezultati su u skladu s osnovnim načelom biokemijske kinetike, koje kaže da se biokemijske reakcije s povećanjem temperature ubrzavaju.
3. Iz ovog laboratorijskog pokusa, vidljivo je i da potrošnja kisika kod mlađi iste dobne skupine sipe raste s povećanjem tjelesne mase mjerenih jedinki. Najveće količine kisika trošile su jedinke najveće tjelesne mase (0,17 g) ali pri najnižim vrijednostima slanost (26 psu).
4. Mlađ sipe troši veće količine kisika kada su u mjernoj komori prisutni živi mizidni rakovi. Razlog tome je povećanje aktivnosti sipe i nastupanje predatornog obrasca ponašanja, a zatim i energijski tošak napada na plijen prilikom lova.

6. LITERATURA:

1. Altamiras J; Champion C.B; Puigcerver; Tort L. 2003. Physiological responses of the gilthead sea bream *Sparus aurata* to hypoosmotic shock. ^aUnitat de Fisiologia Animal, Dept. de Biologia, Cellular i Fisiologia, Universitat Autònoma de Barcelona, E-08193 Cerdanyola, Spain
2. Boletzky, S. V., 1983. Iz: Boyle, P. R., (ur.), iz: Cephalopod life cycles, I. Academic press, London: 31-52.
3. Boletzky, S. V. 1987. Fecundity variation in relation to intermittent or chronic spawning in the cuttlefish, *Sepia officinalis* L. (Mollusca, Cephalopoda). Bulletin of Marine Science, 40(2): 382-387.
4. Boletzky, S. V. 1988. A new record of long-continued spawning in *Sepia officinalis* (Mollusca, Cephalopoda). Rapport de Comision Internationale de Exploration Scientifique de Mer Méditerranéene, 31 (2): 257.
5. Boletzky, S. V., 1989. Elevage de Céphalopodes en aquarium: acquis recents. Bulletin de Socièté Zoologique de France, 114(4): 57-66.
6. Boletzky, S. V. 1994. Embryonic development of cephalopods at low temperatures. Antarctic Science, 6: 139-142.
7. Boletzky, S. V. 2002. Yolk sac morphology in cephalopod embryos. iz: Summesberger, H., Histon, K. i Daurer, A. (ur.), Cephalopods – present and past. Abh. Geol. B-A, 57: 57-68.
8. Boletzky, S. V. 2003. Biology of early life stages in cephalopod molluscs. Advances in Marine Biology, 44: 143-203.
9. Boletzky, S. i Hanlon, R.T. 1983. A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod mollusks. Memoires of the Natural Museum Victoria, 44: 147-187.
10. Boletzky, S. V., Erlwein, B. i Hofmann, D. K. 2006. The *Sepia* egg: a showcase of cephalopod embryology. Vie et milieu, 56(2): 191-201.
11. Boucaud-Camou, E. 1987. Ecophysiologie de la digestion chez les Céphalopodes. Haliotis 16:267–282.
12. Boucaud-Camou, E. 1990. La Seiche, un animal d'avenir, La Peche Maritime, 69 (1342): 321-329.
13. Boucaud-Camou, E. i Boucher-Rodoni, R. 1983. Feeding and digestion in Cephalopods. iz: Saleuddin, A. S. M., Wilbur, K. M. (ur.). The mollusca physiology, Academic press, 5(2): 149-187.
14. Boucher-Rodoni, R., Boucaud-Camou, E. i Mangold, K. 1987. Feeding and digestion. iz: Boyle, P. (ur.), *Cephalopod Life Cycles*, 2., Academic Press, London: 85–108.
15. Claireaux, G. i Lagardère, J.-P. 1999. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. Journal of Sea Research, 42: 157-168.
16. Dalla Via J; Villani P; Gasteiger E; Niederstatter H. 1998. Oxygen consumption in sea bass fingerling *Dicentrarchus labrax* exposed to acute salinity and temperature changes: metabolic basis for maximum stocking density estimations. Institute of Zoology and Limnology, Department of Ecophysiology, University of Innsbruck, A-6020 Innsbruck, Austria.

17. Domingues, P. M. 1999. Development of alternative diets for the mass culture of the European cuttlefish *Sepia officinalis*. Ph. D. Th., University of the Algarve, 95 str.
18. Domingues, P. M., Turk, P. E., Andrade, J. P. i Lee, P. G. 1998. Pilot scale production of mysid shrimp in a static water system. *Aquaculture International*, 6: 387 -402.
19. Domingues, P. M., Fores, R., Turk, P. E., Lee, P. G. i Andrade, J. P. 2000. Mysid culture: Lowering costs with alternative diets. *Aquaculture Research*, 31: 719-728.
20. Domingues, P. M., Kingston, T., Sykes, A. V. i Andrade, J. P. 2001a. Growth of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) at the upper end of the biological distribution temperature range. *Aquaculture Research*, 32(1): 923-930.
21. Domingues, P. M., Sykes, A. V. i Andrade, J. P. 2001b. The use of artemia or mysids as food for hatchlings of the cuttlefish *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758; effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture International*, 9(4): 319-331.
22. Domingues, P. M., Sykes, A. V. i Andrade, J. P. 2002. The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) cultured in the Algarve (south Portugal). *Aquaculture International*, 10: 207-220.
23. Domingues, P. M., Poirier, R., Dickel, L., Almansa, E. Sykes, A. V. i Andrade, J. P. 2003a. Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International*, 11: 225-242.
24. Domingues, P. M., Sykes, A. V., Sommerfield, A. i Andrade, J. P. 2003b. The effects of feeding live or frozen prey on growth, survival and the life cycle of the cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International*, 11: 397-410.
25. Domingues, P. M., Sykes, A. V., Sommerfield, A., Almansa, E., Lorenzo, A. i Andrade, J. P. 2004. Growth and survival of cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture*, 229:173-185.
26. Državni zavod za statistiku, 2005. Statistički ljetopis za 2005. godinu. Državni zavod za statistiku, Zagreb: 283-285.
27. FAO, 1984. Species catalogue, Vol. 3, Cephalopods of the world. Roper, C. F. E. i Sweeney, M. J. (ur.). FAO fisheries synopsis, 125(3): 277 str.
28. Forsythe, J. W. i Van Heukelem, W. F. 1987. Growth. iz: Cephalopod life cycles. Vol. II, P. R. Boyle (ur.). Academic Press, London: 135-155.
29. Forsythe, J. W., Hanlon, R. T. i Lee, P. G. 1990. A formulary for treating cephalopod mollusc diseases. iz: F. O. Perkins, i T. C. Cheng (ur.), Pathology in marine science. San Diego, Academic press: 51-63.
30. Forsythe, J. W., Hanlon, R. T., i DeRusha, R. H. 1991. Pilot large-scale culture of *Sepia* in biomedical research. In: The cuttlefish, E. Boucaud – Camou (ur.). Centre de publications de l' Université de Caen: 313-323.
31. Forsythe, J. W., DeRusha, R. H. i Hanlon, R. T. 1994. Growth, reproduction and life span of *Sepia officinalis* (Cephalopoda: Mollusca) cultured through seven consecutive generations., *Journal of Zoology*, London, 233: 175- 192.
32. Forsythe, J., Lee, P., Walsh, L. i Clark, L. 2002. The effects of crowding on growth of the European cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758 reared at two temperatures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 269: 173-185.

33. Garcia Garcia, B., Gimenez, F.A. 2004. «Influence of diet on ongrowing and nutrient utilization in the common octopus (*Octopus vulgaris*)» ; *Aquaculture* 211, 171-182.
34. Gillooly, J. F., Brown, J. H., West, G. B., Savage, V. M. i Charnov, E. L. 2001. Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science*, 293 (5538): 2248-2251.
35. Grigoriou, P i Richardson, C.A. 2009. Effect of body mass, temperature and food deprivation on oxygen consumption rate of common cuttlefish *Sepia officinalis*. *Mar. Biol.*, 156: 2473–2481.
36. Johansen, K., Brix, O., Kornerup, S. i Lykkeboe, G. 1982. Factors affecting O₂-uptake in the cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 62: 187-191.
37. Jorge, I. i Sobral, M. P. 2004. Alguns aspectos de biología e ecología da população de choco, *Sepia officinalis* da região de Averno. *Relaciones Científicas Técnicas IPIMAR, séries Digital*, 15: 29 str.
38. Khromov, D. N., Lu, C. C., Guerra, A., Dong, Zh. i Boletzky, S. V. 1998. A synopsis of Sepiidae outside Australian waters (Cephalopoda, Sepioidea). iz: Voss, N. A., Vecchione, M., Toll, R. B. i Sweeney, M. J. (ur.), *Systematics and biogeography of cephalopods*, Smithsonian Contribution to Zoology, 586: 77-130.
39. Kirchner, I. B. 1979. Control mechanisms in crustaceans and fishes. Iz: *Mechanisms of osmoregulation in animals: Maintenance of cell volume*, R. Gilles (ur.). chichester. John Wiley and Sons. Str: 157-222.
40. Koueta, N. i Boucaud-Camou, E. 1986. Study of the secretion of the posterior salivary glands of decapod cephalopods I: *Sepia officinalis* L. *Cellular and Molecular Biology*, 32: 333-341.
41. Koueta, N., Robbins, I. i Boucaud-Camou, E. 1992. Partial characterization of a gonadotropic mitogen factor from the optic gland and haemolymph of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102 (A): 229-234.
42. Koueta, N., Boucaud-Camou, E. i Renou, A. M. 1993. Etude cytologique des gonades au cours de la maturation sexuelle des seiches *Sepia officinalis* L. de la baie de Seine: intérêt pour une étude expérimentale. *Cahiers de Biologie Marine*, 34: 461-476.
43. Koueta, N., Boucaud-Camou, E. i Renou, A. M. 1995. Seasonal change in gonadotropic mitogenic activity of the optic gland of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. during sexual maturation. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 5: 391-404.
44. Koueta, N., Castro, B.G. i Boucaud-Camou, E. 1998. Biochemical indices for instantaneous growth estimation in young cephalopod *Sepia officinalis* L. *ICES CM 1998, M:13-18*.
45. Koueta, N. i Boucaud-Camou, E. 1999. Food intake and growth in reared early juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 240: 93-109.
46. Koueta, N. i Boucaud-Camou, E. 2001. Basic growth relations in experimental rearing of early juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis* L. (Mollusca, Cephalopoda). *Journal of experimental marine biology and ecology*, 265: 75-87.
47. Koueta, N., Boucaud-Camou, E. i Noel, B. 2002. Effects of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture*, 203: 293-310.

48. Koueta, N., Alorend, E., Noël, B. i Boucaud-Camou, E. 2006. Earlier acceptance of frozen prey by juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* in experimental rearing: effect of previous enriched natural diet. *Vie et milieu*, 56(2): 147-152.
49. Kunisaki, N. 2000. Nutritional Properties of Squid and Cuttlefish, iz: Nutritional and Functional Properties of Squid and Cuttlefish. Masayo Okuzumi i Tateo Fujii (ur.). National cooperative association of squid processors, Japan. 218 str.
50. Laptihovsky V; Salman A; Önsey B; Katagan T. 2003. Fecundity of the common cuttlefish; *Sepia officinalis* L. (Cephalopoda, Sepiidae): a new look at an old problem, Ege university , Faculty of fisheries, Turkey; *SCI. MAR*; 67 (3): 279 – 284.
51. Mandić, S. 1984. Cefalopoda južnog Jadrana. *Studia Marina*, 15-16: 3-77.
52. Mangold-Wirz, K. 1963. Biologie des céphalopodes benthiques et nectoniques de la mer catalane. *Vie et milieu*, Suppl. 1,13: 285 str.
53. Melzner, F., Bock, C. i Pörtner, H. O. 2004. Coordination of ventilation and circulation in the cuttlefish *Sepia officinalis* in the light of an oxygen limitation of thermal tolerance. *ICES CM* 2004/CC, 14: 280-281.
54. Melzner, F; Bock C; Portner H.O. 2006. Temperature-dependent oxygen extraction from the ventilatory current and the costs of ventilation in the cephalopod *Sepia officinalis*. *J Comp Physiol B*, 176:607–621
55. Melzner F; Mark C. Felix; Portner H.O. 2007. Role of blood-oxygen transport in thermal tolerance of the cuttlefish, *Sepia officinalis*. Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research. Bremerhaven, Germany; Department of Zoology, University of Cambridge, Downing Street, Cambridge CB2 3EJ, England
56. Nixon, M. 1987. Cephalopod diets, iz: Boyle, P. R. (ur.), *Cephalopod life cycles II. Comparative reviews*. Academic press, London: 201-219.
57. Sobrino, I., Silva, I., Bellido, J. M. i Ramos, F. 2002. Rainfall, river discharges and sea temperatures as factors affecting abundance of two coastal benthic cephalopod species in the Gulf of Cádiz (SW Spain). *Bulletin of Marine Science*, 71: 851-865.
58. Sykes, A. V., Domingues, P., Loyd, M., Sommerfield, A. i Andrade, J.P. 2003. The influence of culture density and enriched environments on the first stage culture of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture international*, 11: 531-544.
59. Sykes, A. V., Domingues, P., M., Correia, M. i Andrade, J. P. 2006. Cuttlefish culture – state of the art and future trends. *Vie et milieu*, 56(2): 129-137.
60. Xiangli Tian, Shuanglin Dong, Fang Wang, Lixin Wu. 2004. The effects of temperature changes on the oxygen consumption of juvenile Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Fisheries College, Department of Life Sciences and Technology, Ocean University of China.
61. Watcher, B.; Wolf, G; Richard A; Declair W. 1988. Regulation of respiration during juvenile development of *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda) Laboratory of Biochemistry and General Zoology, University of Antwerp (R.U.C.A.). B-2020 Antwerpen, Belgium 2 Station Marine, F-62930 Wimereux, France; *Marine Biology* 97, 365-371.
62. Webber, D. M., Aitken, J. P. i O'Dor, R. K. 2000. Costs of locomotion and vertic dynamics of cephalopods and fish. *Physical Biochemistry and Zoology*, 73(6): 651-662.

63. Wells, M. J. 1958. Factors affecting reactions to mysis by newly hatched sepia. *Behaviour*, 13: 96-111.
64. Withers P.C. 1992. *Comparative Animal Physiology*. Brooks Cole, 900
65. Wolf G.I., Vcrheyen E., Vlaeminck A., Lemairc, Declair W. 1985. Respiration of *Sepia officinalis* during embryonic and early juvenile life; Laboratory of Biochemistry and General Zoology, University of Antwerp (R.U.C.A.); B-2020 Antwerpen, Belgium 2 Station Marine; 28 Avenue Foch, F-62930 Wimereux, France; *Marine Biology* 90, 35-39.
66. Zotin, A. A., Alekseeva, T. A., Vladimirova, I. G., Zotin, A. I. 2000. The evolutionary bioenergetic trap and progressive evolution of animals. *Izvestia Akademii Nauk SSSR, Seria Biologiceskaia*, 1: 5 –11.

URL:

www.fao.org