

26. März 2013

Zuwendung nach der Richtlinie FET

Projekt :

**"NEMO" - Teilprojekt der Maßnahme "Aufbau des Nationalen
Kompetenzzentrums Marikultur"**

Antrags-Nr. 122 08 005

Sachstandsbericht 2012



Entwicklungsstand des Teilprojektes 1:

„Untersuchungen zum Stoffstrommanagement in einem modernen Kreislaufsystem für die marine Aquakultur“

Kurztitel: Kreislaufsystem (TL: Dr. Helmut Thetmeyer)

Erreichung der Meilensteine

Im Sachstandsberichten für die Jahre 2009 und 2010 und 2011 wurde – nach Rücksprache mit dem Wirtschaftsministerium – bereits darauf hingewiesen, dass durch die Berufung von Professor Dr. U. Waller zur HTW in Saarbrücken, wofür kein personeller Ersatz geschaffen wurde, die wissenschaftlichen Aspekte von Teilprojekt 1 nicht bearbeitet werden können, das Teilprojekt 1 also lediglich die Infrastruktur für andere NEMO-Teilprojekte zur Verfügung stellen kann.

Entwicklungsstand des Teilprojektes 2:

„Einrichtung einer Online-Datenbank und eines Expertensystems für das Kompetenzzentrum Marine Aquakultur“

Kurztitel: AquacultureBase (TL: Dr. Bernd Ueberschär, Gerrit Quantz)

Zusammenfassung des Themas

Ziel ist die Einrichtung eines Online-Informationssystems und Datenbank, in dem alle im Kompetenzzentrum marine Aquakultur gewonnenen Erkenntnisse, Informationen, Ergebnisse und Aktivitäten aufbereitet und Experten, Entscheidungsträgern und der breiten Öffentlichkeit über das Internet zur Verfügung gestellt werden sollen. Daneben soll das Informationssystem generell für das Kompetenzzentrum, für Experten, Praktiker und die Öffentlichkeit relevantes und aktuelles Wissen über die marine Aquakultur zusammenfassen und den verschiedenen Nutzergruppen unter besonderer Berücksichtigung regionaler Komponenten zur Verfügung stellen. Ein solches Informationssystem kann als wichtige „Outreach-Komponente“ die Arbeit des Kompetenzzentrums nach außen hin sichtbar machen und die Öffentlichkeitsarbeit unterstützen. Das Projekt wird damit auch in der Aus- und Weiterbildung und als Grundlage zur Erarbeitung von Technologietransfer, wie in der Matrix des Kompetenzzentrums vorgesehen, genutzt werden können. Es trägt zudem zur Entwicklung nachhaltiger Aquakulturaktivitäten bei und steht im Einklang mit dem FishCode-Programm der FAO (Interregional Programme for the Implementation of the Code of Conduct for Responsible Fisheries and Aquaculture). Zudem beinhaltet das Teilprojekt Koordinationsarbeiten innerhalb des NEMO-Projektes am IFM-GEOMAR (jetzt GEOMAR) sowie die externe Koordination mit den Partnern des Kompetenzzentrums „Marine Aquakultur“. Um die Auffüllung mit Inhalten durch Volontäre zu ermöglichen, ist ein Content Management System auszuwählen, welches den direkten Eintrag von Beiträgen für fachlich kompetente und autorisierte Autoren ermöglicht.

Erreichung der Meilensteine:

Meilenstein 3.2.5 (Datensammlung, Aufbereitung, Harmonisierung, Dateneingabe, Verlinkung) war, wie geplant auch 2012 ein Schwerpunkt.

Die auch 2012 fortgesetzte Auffüllung des Informationssystems mit Inhalten hat zum Ende der Projektlaufzeit zwar zu einem signifikanten Stand der Informationsressourcen geführt, kann aber per se als nicht abgeschlossen gelten, da ein online Informationssystem wie AquacultureBase als dynamisches System einer ständigen Entwicklung unterliegen muss (das Informationssystem FishBase, welches heute unbestritten die Autorität darstellt was das Grundlagenwissen über Fische angeht, hat sich zum gegenwärtigen Stand über 17 Jahre lang entwickelt).

Nachfolgend wird über die Arbeiten und Fortschritte am Informationsportal AquacultureBase für 2012 berichtet.

Thema Brutfischhälterung, Larven- und Juvenilenaufzucht:

Als Basis für Informationen zur Produktion von Setzlingen für Fischarten, die in der Aquakultur eine Rolle spielen, wurden die relevanten Daten aus dem Datenpool von LarvalBase (www.larvalbase.org) in AquacultureBase so eingebunden, dass sie auch innerhalb dieses CMS gepflegt und erweitert werden können.

Das Encoding von weiteren artenspezifischen Daten wurde 2012 fortgesetzt.

Damit stehen nun Daten und Informationen für etwa 170 Arten in folgenden Rubriken für in der Aquakultur relevante Arten zur Verfügung:

- Brutbestandshälterung und Laichverhalten (Broodstock Information)
- Daten zur Eihälterung- und Erbrütung (Eggnurserysystem Information)
- Daten zur Larvenhälterung und Aufzucht (Larvalnurserysystem Information)
- Daten zur Juvenilenaufzucht und Hälterung (Frynurserysystem Information)

Ein Screenshot (Abb. 2.1) zeigt das Auswahlinterface für die verschiedenen Themenbereiche (wie oben aufgeführt) so wie es sich für die Benutzer von AquacultureBase darstellt. Die Abb. 2.2 zeigt beispielhaft die Auflistung der Arten, für die „Larval Nursery Information“ zur Verfügung stehen.

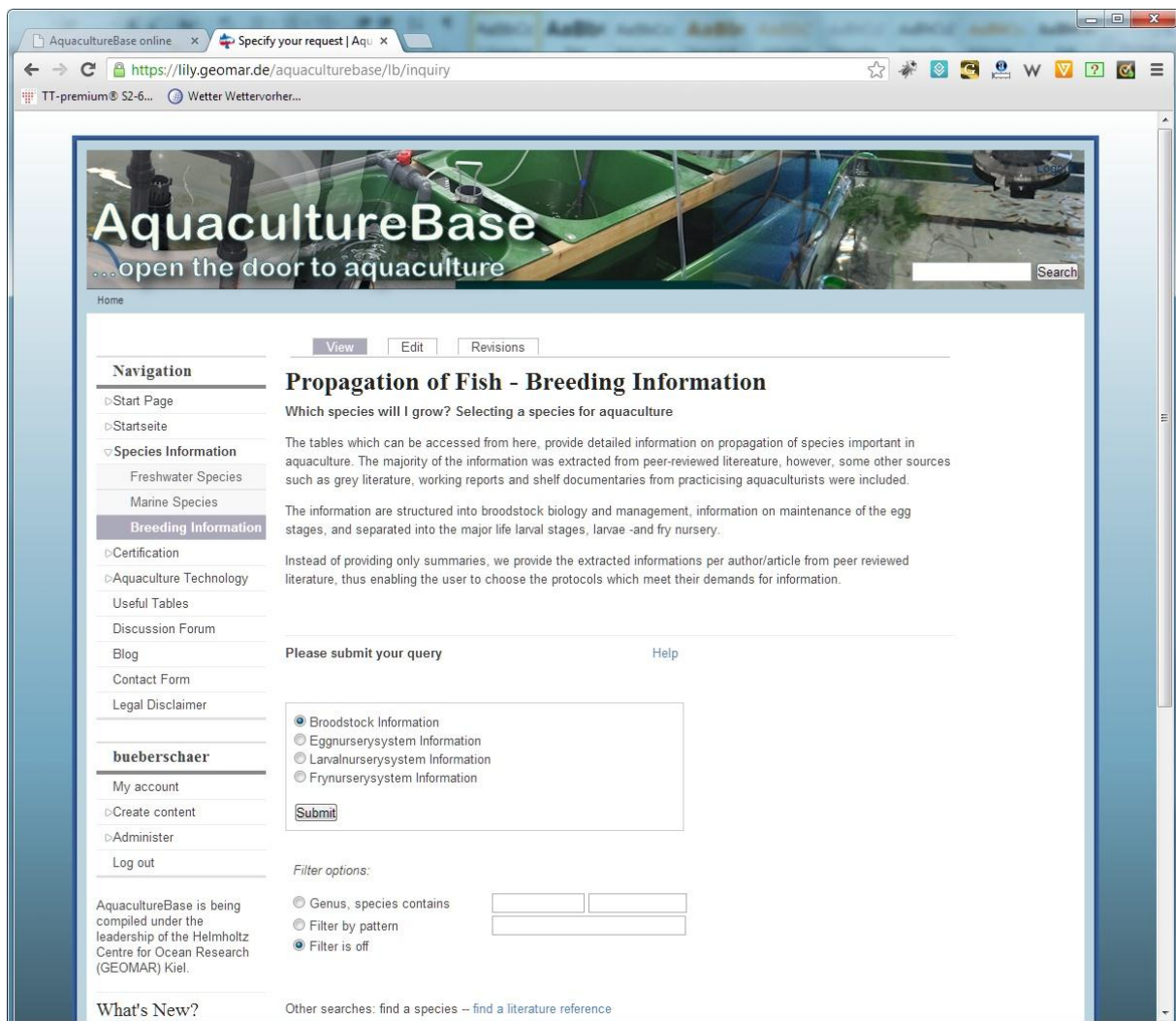
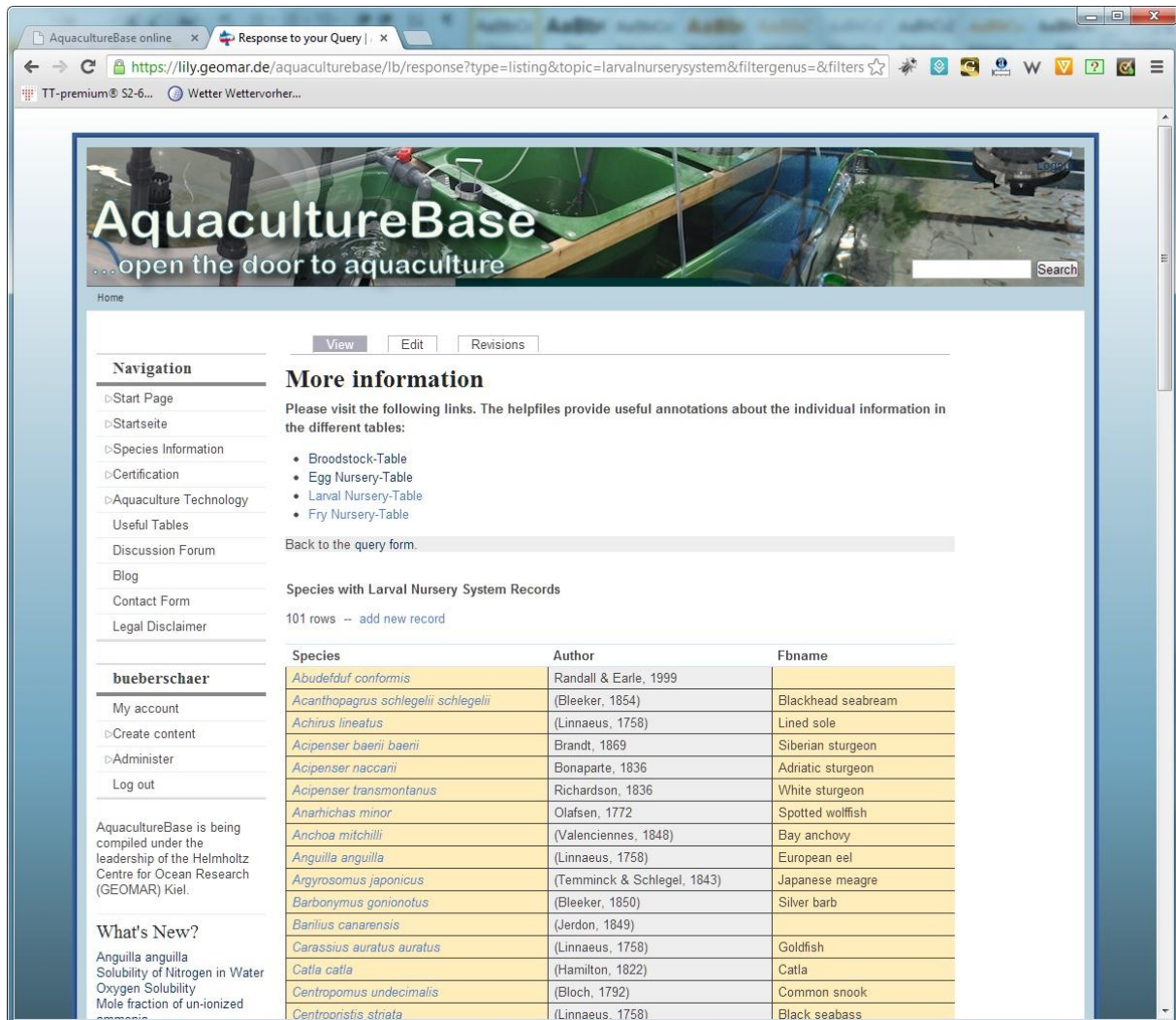


Abb. 2.1: Screenshot AquacultureBase – Auswahlinterface für Daten zu Broodstock, Egnursery, Larvalnursery & Frynursery. Zum einen kann man sich die gesamte Liste aller verfügbaren Arten zeigen lassen, oder alternativ über einen Filter nach einer bestimmten Art suchen und sich nur diese Daten anzeigen lassen.



The screenshot shows the AquacultureBase website interface. At the top, there is a header with the text "AquacultureBase ... open the door to aquaculture" and a search bar. Below the header, there is a navigation menu on the left and a main content area. The main content area displays a table of species with larval nursery system records. The table has three columns: Species, Author, and Fbname. The table lists 15 species, including *Abudefduf conformis*, *Acanthopagrus schlegelii schlegelii*, *Achirus lineatus*, *Acipenser baeri baeri*, *Acipenser naccarii*, *Acipenser transmontanus*, *Anarhichas minor*, *Anchoa mitchilli*, *Anguilla anguilla*, *Argyrosomus japonicus*, *Barbonymus gonionotus*, *Banlius canarensis*, *Carassius auratus auratus*, *Catla catla*, *Centropomus undecimalis*, and *Centropristis striata*.

Species	Author	Fbname
<i>Abudefduf conformis</i>	Randall & Earle, 1999	
<i>Acanthopagrus schlegelii schlegelii</i>	(Bleeker, 1854)	Blackhead seabream
<i>Achirus lineatus</i>	(Linnaeus, 1758)	Lined sole
<i>Acipenser baeri baeri</i>	Brandt, 1869	Siberian sturgeon
<i>Acipenser naccarii</i>	Bonaparte, 1836	Adriatic sturgeon
<i>Acipenser transmontanus</i>	Richardson, 1836	White sturgeon
<i>Anarhichas minor</i>	Olafsen, 1772	Spotted wolffish
<i>Anchoa mitchilli</i>	(Valenciennes, 1848)	Bay anchovy
<i>Anguilla anguilla</i>	(Linnaeus, 1758)	European eel
<i>Argyrosomus japonicus</i>	(Temminck & Schlegel, 1843)	Japanese meagre
<i>Barbonymus gonionotus</i>	(Bleeker, 1850)	Silver barb
<i>Banlius canarensis</i>	(Jerdon, 1849)	
<i>Carassius auratus auratus</i>	(Linnaeus, 1758)	Goldfish
<i>Catla catla</i>	(Hamilton, 1822)	Catla
<i>Centropomus undecimalis</i>	(Bloch, 1792)	Common snook
<i>Centropristis striata</i>	(Linnaeus, 1758)	Black seabass

Abb. 2.2: Als Beispiel die Auswahlliste für die Arten, von denen Informationen zur Larvenproduktion- und Hälterung zur Verfügung stehen.

Thema Kreislauftechnologie:

Zu diesem Thema gibt es jetzt eine Reihe von Beiträgen.

Für die Komponenten in einer Kreislaufanlage wurden die folgenden Themen abgehandelt:

- Beschreibung ihrer Funktionen
- Ihre physikalisch-technischen Grundlagen
- die Integration in den Anlagenprozess und
- die Auslegungsparameter

Ein einführender Artikel in deutscher Sprache, der kein Fachwissen voraussetzt, soll die Thematik für Einsteiger in diese Technologie verständlich darstellen (Abb. 2.3).

Unter dem Menü „Aquaculture Technology“ stehen ausführliche Artikel zur mechanischen und biologischen Behandlung des Prozesswassers in einer Kreislaufanlage zur Verfügung.

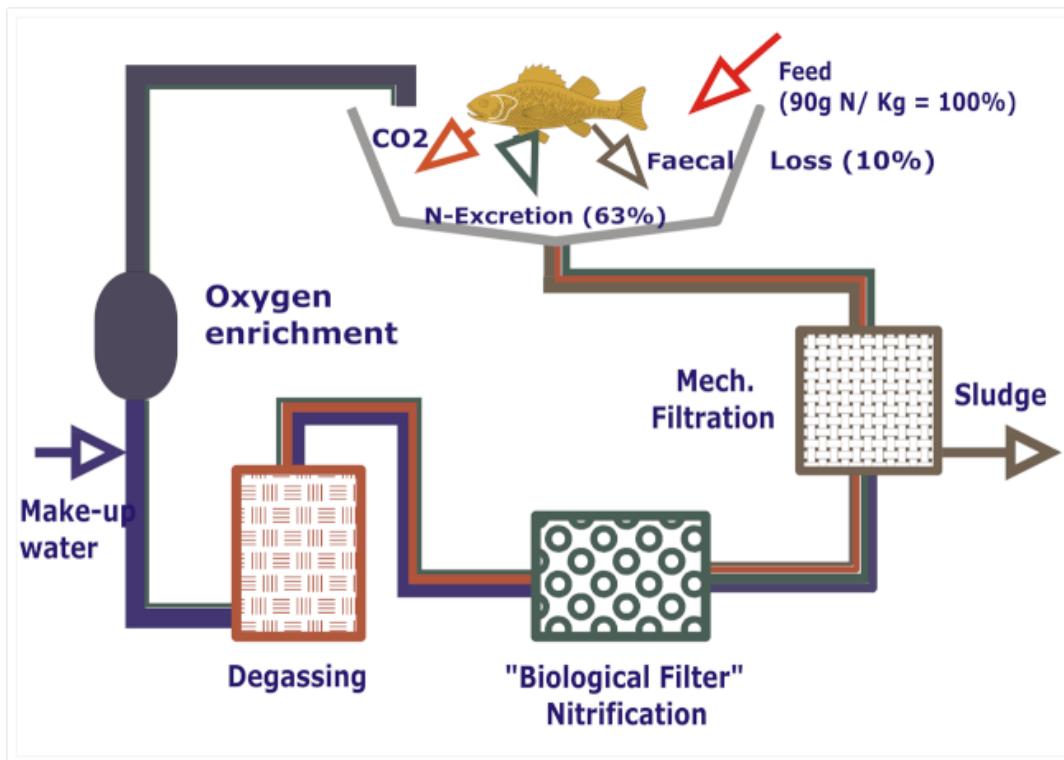


Abb. 2.3: Beispielhaft der prinzipielle Aufbau einer Kreislaufanlage für die Mast von Speisefischen. Eine Illustration aus einem einführenden Artikel.

Thema Übersichtsinformationen zu den wichtigsten Aquakulturarten:

Im biologischen Bereich stehen nun unter dem Menüpunkt „Species Information“ ausführliche „Fact Sheets“ für 12 wichtige Süßwasserfischarten und für 16 der wichtigsten marinen Arten in der Aquakultur zur Verfügung (Abb. 2.4).

Die Artenbeschreibung enthält Informationen zu folgenden Themen (in Englisch): Biological features, production, production cycle, production systems, seed supply, hatchery production, nursery on-growing techniques, onshore tanks, feed supply, harvesting techniques, handling and processing, production costs, production statistics, market and trade, status and trends, fry production, improved culture systems and automation, disease prevention and control, stock monitoring and genetic improvement, responsible aquaculture practices und Referenzen.

Während der Teil Brutfischhälterung, Larven- und Juvenilenaufzucht (siehe oben) eher tabellarisch aufgebaut ist, ist dieser Teil, soweit es das Thema Larvenaufzucht betrifft, eher beschreibend dargestellt.

AquacultureBase

...open the door to aquaculture

Home

Navigation

- [Start Page](#)
- [Startseite](#)
- [Species Information](#)
- [Aquaculture Technology](#)
- [Useful Tables](#)
- [Certification](#)
- [AquaCase](#)
- [Discussion Forum](#)
- [Blog](#)
- [Contact Form](#)
- [Legal Disclaimer](#)

User login

Username: *

Password: *

Create new account
 Request new password



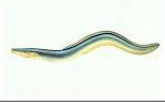













AquacultureBase is being compiled under the leadership of the Helmholtz Centre for Ocean Research (GEOMAR) Kiel.

What's New?

- [Anguilla anguilla Solubility of Nitrogen in Water](#)
- [Oxygen Solubility](#)
- [Water quality screening](#)
- [Mole fraction of un-ionized ammonia](#)
- [Solubility of carbon dioxide](#)
- [Toxicity and maximum permissible concentration of toxic substances](#)
- [Growth rates of algae cultured at different temperatures and light regimes](#)
- [Light saturation for macroalgae](#)
- [Filtration Equipment for use with seawater systems](#)
- [Useful technical tables](#)
- [Disinfectants and their application](#)

Major marine and amphidrome/katadrome species frequently produced in Aquaculture

For more information, please click on the species name.

	EN: Siberian sturgeon DE: Sibirischer Stör <i>Acipenser baerii</i>		EN: European eel DE: Aal <i>Anguilla anguilla</i>
	EN: Japanese eel DE: Japanischer Aal <i>Anguilla japonica</i>		EN: Meagre DE: Maigre <i>Argyrosomus regius</i>
	EN: Milkfish DE: Milchfisch <i>Chanos chanos</i>		EN: European seabass DE:DE: Wolfsbarsch <i>Dicentrarchus labrax</i>
	EN: Barramundi DE:DE: Barramundi <i>Lates calcarifer</i>		EN: Grey mullet DE: Meeräsche <i>Mugil cephalus</i>
	EN: Coho salmon DE: Silberlachs <i>Oncorhynchus kisutch</i>		EN: Rainbow trout DE: Regenbogenforelle <i>Oncorhynchus mykiss</i>
	EN: Turbot DE: Steinbutt <i>Psetta maxima</i>		EM: Cobia DE: Cobia <i>Rachycentron canadum</i>
	EN: Atlantic Salmon DE: Lachs <i>Salmo salar</i>		EN: Red drum DE: Roter Trommler <i>Sciaenops ocellatus</i>
	EN: Japanese Amberjack DE: Amberjack <i>Seriola quinqueradiata</i>		EN: Gilthead seabream DE: Goldbrasse <i>Sparus aurata</i>

Acknowledgement: the tables were compiled based on resources from FAO, 2009 (by V. Crespi and M. New) & FishBase




Abb. 2.4: Beispielhaft die Tabelle mit dem Userinterface in AquacultureBase für die Arteninformationen (hier marine Fischarten).

7

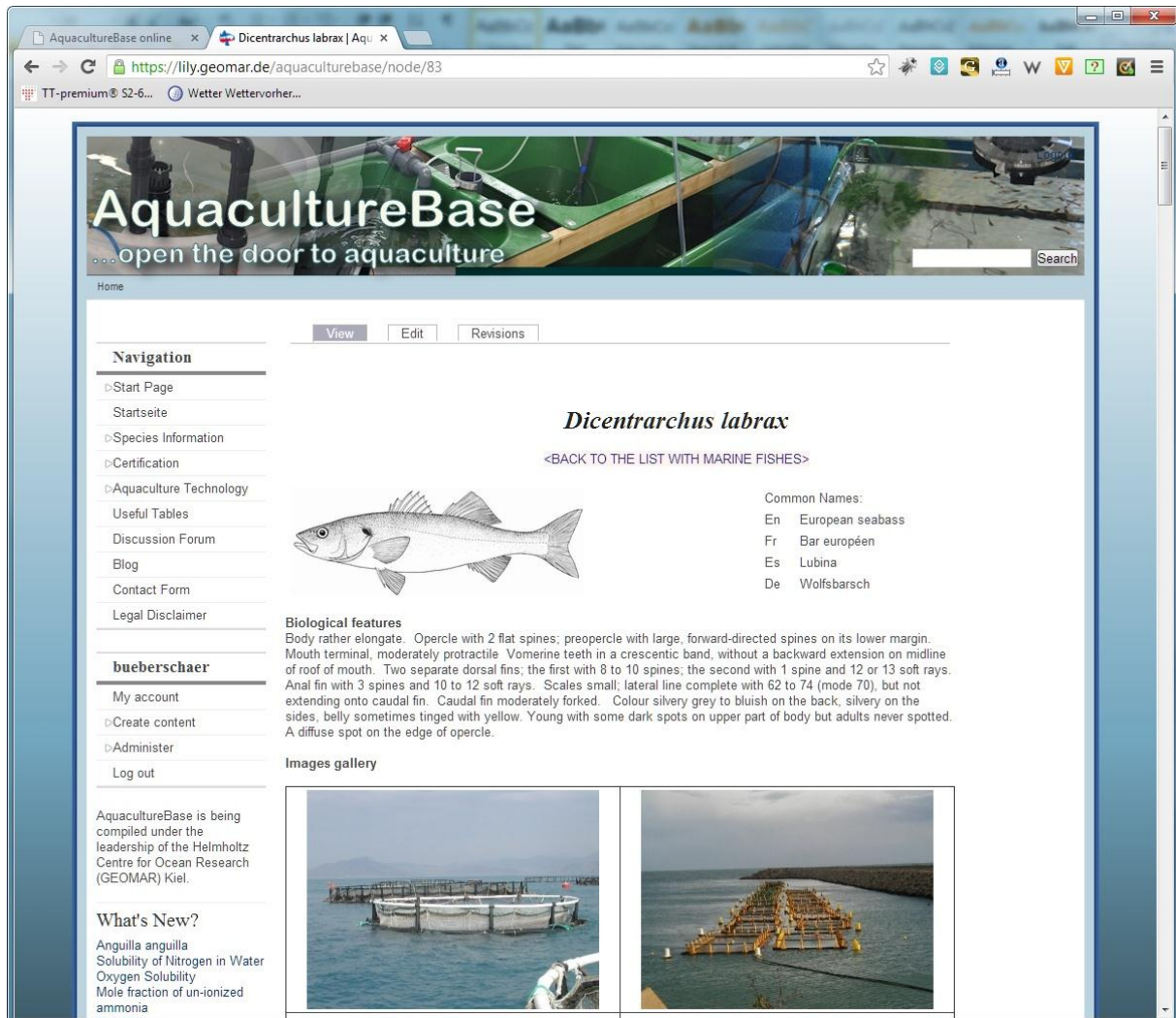


Abb. 2.5: Beispielhaft ein „Fact Sheet“ Species Information (Wolfsbarsch).

Thema Tabellenwerke für Praktiker:

Professionelle Aquakulturfarmen, aber auch Wissenschaftler die sich praktisch mit der Aquakultur beschäftigen, brauchen häufig einen Zugang zu Berechnungsgrundlagen oder einen schnellen Faktencheck, wenn es zum Beispiel um die Berechnung von Volumina und Durchflussmengen beim Aufbau von Halterungsanlagen geht ("Plumbing and materials"); oder es ist ein schneller Überblick über die Wasserparameter für Hatcherien oder Aufzuchtanlagen gewünscht.

Häufig ist auch ein Überblick gefordert, wenn es z.B. um Informationen geht, welchen Nährwert und welche chemische Komponenten im Futter, beispielsweise für Fischlarven, vorhanden sind.

Für diesen Themenblock hat sich AquacultureBase das Ziel gesteckt, zweckmäßiges Wissen zusammen zu tragen und in Tabellenform im Userinterface zu präsentieren. Die Abb. 2.6 zeigt die Eingangsseite mit den Links in Tabellenform. Die Tabellen stellen Daten aus

aquakulturrelevanten Themenbereichen wie etwa Berechnungsgrundlagen für Volumina und Viskosität, zur Wasserchemie, Biologie, Biochemie, Beleuchtungsintensitäten oder Toxizität von relevanten Substanzen und Daten zur Lebendfutterkultivierung zur Verfügung.

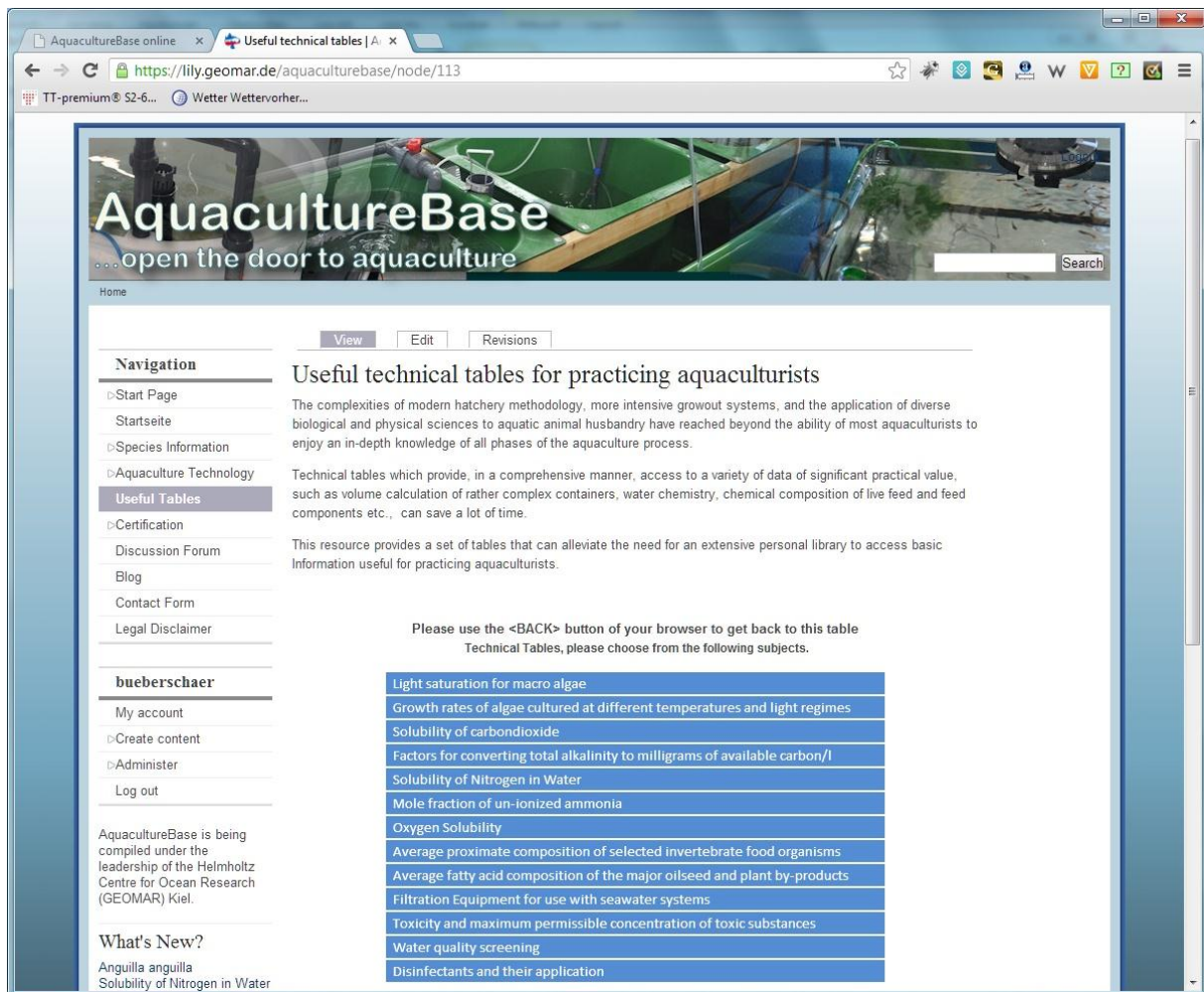
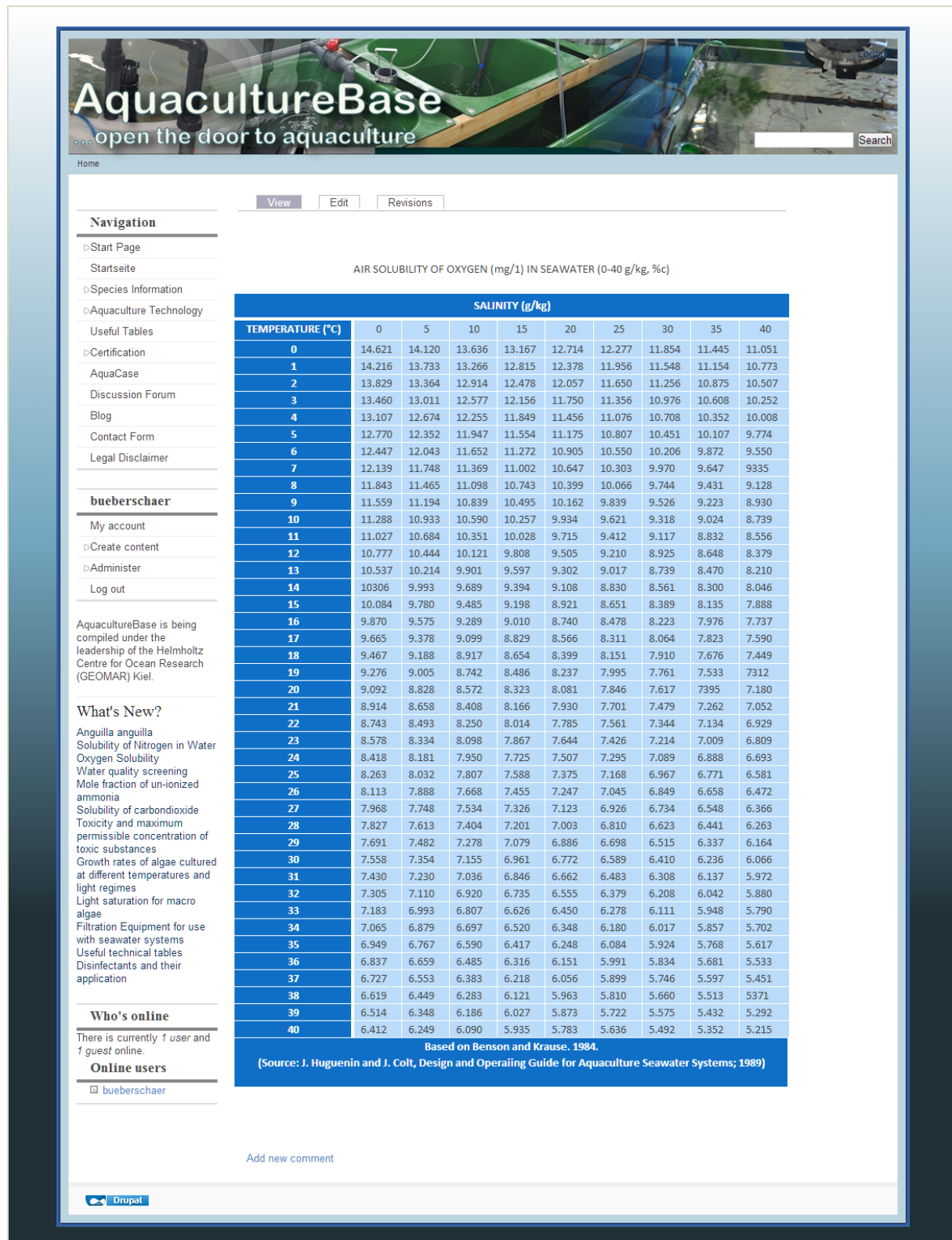


Abb. 2.6: Tabellenwerke für Praktiker. Zurzeit stehen etwa 25 Tabellen zu unterschiedlichen Themenbereichen zur Verfügung; weitere Tabellen werden noch zur Implementierung erstellt.



AquacultureBase
... open the door to aquaculture

Home

View Edit Revisions

Navigation

- Start Page
- Startseite
- Species Information
- Aquaculture Technology
- Useful Tables
- Certification
- AquaCase
- Discussion Forum
- Blog
- Contact Form
- Legal Disclaimer

bueberschaer

- My account
- Create content
- Administer
- Log out

AquacultureBase is being compiled under the leadership of the Helmholtz Centre for Ocean Research (GEOMAR) Kiel.

What's New?

- Anguilla anguilla
- Solubility of Nitrogen in Water
- Oxygen Solubility
- Water quality screening
- Mole fraction of un-ionized ammonia
- Solubility of carbon dioxide
- Toxicity and maximum permissible concentration of toxic substances
- Growth rates of algae cultured at different temperatures and light regimes
- Light saturation for macro algae
- Filtration Equipment for use with seawater systems
- Useful technical tables
- Disinfectants and their application

Who's online

There is currently 1 user and 1 guest online.

Online users

- bueberschaer

AIR SOLUBILITY OF OXYGEN (mg/l) IN SEAWATER (0-40 g/kg, ‰)

		SALINITY (g/kg)								
TEMPERATURE (°C)		0	5	10	15	20	25	30	35	40
0		14.621	14.120	13.636	13.167	12.714	12.277	11.854	11.445	11.051
1		14.216	13.733	13.266	12.815	12.378	11.956	11.548	11.154	10.773
2		13.829	13.364	12.914	12.478	12.057	11.650	11.256	10.875	10.507
3		13.460	13.011	12.577	12.156	11.750	11.356	10.976	10.608	10.252
4		13.107	12.674	12.255	11.849	11.456	11.076	10.708	10.352	10.008
5		12.770	12.352	11.947	11.554	11.175	10.807	10.451	10.107	9.774
6		12.447	12.043	11.652	11.272	10.905	10.550	10.206	9.872	9.550
7		12.139	11.748	11.369	11.002	10.647	10.303	9.970	9.647	9.335
8		11.843	11.465	11.098	10.743	10.399	10.066	9.744	9.431	9.128
9		11.559	11.194	10.839	10.495	10.162	9.839	9.526	9.223	8.930
10		11.288	10.933	10.590	10.257	9.934	9.621	9.318	9.024	8.739
11		11.027	10.684	10.351	10.028	9.715	9.412	9.117	8.832	8.556
12		10.777	10.444	10.121	9.808	9.505	9.210	8.925	8.648	8.379
13		10.537	10.214	9.901	9.597	9.302	9.017	8.739	8.470	8.210
14		10.306	9.993	9.689	9.394	9.108	8.830	8.561	8.300	8.046
15		10.084	9.780	9.485	9.198	8.921	8.651	8.389	8.135	7.888
16		9.870	9.575	9.289	9.010	8.740	8.478	8.223	7.976	7.737
17		9.665	9.378	9.099	8.829	8.566	8.311	8.064	7.823	7.590
18		9.467	9.188	8.917	8.654	8.399	8.151	7.910	7.676	7.449
19		9.276	9.005	8.742	8.486	8.237	7.995	7.761	7.533	7.312
20		9.092	8.828	8.572	8.323	8.081	7.846	7.617	7.395	7.180
21		8.914	8.658	8.408	8.166	7.930	7.701	7.479	7.262	7.052
22		8.743	8.493	8.250	8.014	7.785	7.561	7.344	7.134	6.929
23		8.578	8.334	8.098	7.867	7.644	7.426	7.214	7.009	6.809
24		8.418	8.181	7.950	7.725	7.507	7.295	7.089	6.888	6.693
25		8.263	8.032	7.807	7.588	7.375	7.168	6.967	6.771	6.581
26		8.113	7.888	7.668	7.455	7.247	7.045	6.849	6.658	6.472
27		7.968	7.748	7.534	7.326	7.123	6.926	6.734	6.548	6.366
28		7.827	7.613	7.404	7.201	7.003	6.810	6.623	6.441	6.263
29		7.691	7.482	7.278	7.079	6.886	6.698	6.515	6.337	6.164
30		7.558	7.354	7.155	6.961	6.772	6.589	6.410	6.236	6.066
31		7.430	7.230	7.036	6.846	6.662	6.483	6.308	6.137	5.972
32		7.305	7.110	6.920	6.735	6.555	6.379	6.208	6.042	5.880
33		7.183	6.993	6.807	6.626	6.450	6.278	6.111	5.948	5.790
34		7.065	6.879	6.697	6.520	6.348	6.180	6.017	5.857	5.702
35		6.949	6.767	6.590	6.417	6.248	6.084	5.924	5.768	5.617
36		6.837	6.659	6.485	6.316	6.151	5.991	5.834	5.681	5.533
37		6.727	6.553	6.383	6.218	6.056	5.899	5.746	5.597	5.451
38		6.619	6.449	6.283	6.121	5.963	5.810	5.660	5.513	5.371
39		6.514	6.348	6.186	6.027	5.873	5.722	5.575	5.432	5.292
40		6.412	6.249	6.090	5.935	5.783	5.636	5.492	5.352	5.215

Based on Benson and Krause, 1984.
(Source: J. Huguenin and J. Colt, Design and Operating Guide for Aquaculture Seawater Systems; 1989)

Add new comment

Drupal

Abb. 2.7: Tabellenwerke für Praktiker: Das Beispiel zeigt eine Tabelle aus der die Löslichkeit von Sauerstoff im Hälterungswasser als ein Produkt aus Salinität und Salzgehalt sehr leicht ermittelt werden kann.



Thema ökologische Aquakulturproduktion, die Zertifizierung von Aquakulturbetrieben und Produkten

Die Zertifizierung seiner Aquakulturprodukte kann für einen Produzenten ein wichtiges Ziel sein, um sich neue Märkte und zunehmende Nachfragen nach umweltschonend und nachhaltig produzierten Produkten zu erschließen.

Die Erfolgsstory „ökologische Landwirtschaft“ zeigt, dass auch umwelt- und ressourcenschonend hergestellte Nahrungsmittel ihren festen Platz in der Verbrauchergunst gefunden haben. Auch wenn Aquakulturprodukte aus zertifizierten Betrieben naturgemäß volumenmässig nicht die weite Verbreitung finden werden wie landwirtschaftliche Erzeugnisse, so wird es doch in Zukunft von anspruchsvollen und bewusst einkaufenden Verbrauchern eine immer grösser werdende Nachfrage nach zertifizierten Produkten geben, die auch bereit sein werden, den höheren Preis für ein solches Produkt zu bezahlen.

Die Vielzahl an Zertifizierungsprozeduren, Biosiegeln und Eigenlabeln für aquatische Produkte jedoch macht es dem Konsumenten schwer, sich seinen Bedürfnissen entsprechend zu informieren und eine Entscheidung für ein Produkt zu treffen. Der Produzent kann oft nicht entscheiden, bis zu welchem Grad eine Zertifizierung seiner Produkte noch ökonomisch sinnvoll ist und welche Umstellungen bei den Produktionsprozessen hierbei notwendig sind. Um diese vom Produzenten und Konsumenten oft nicht einfach zu verstehenden Sachverhalte und Zusammenhänge transparenter darzustellen, wurde in AquacultureBase eine Rubrik "Zertifizierung" eingerichtet. In diesem Bereich wird grundsätzlich zum Thema Zertifizierung und Labeln im Bereich Aquakulturprodukte informiert. In Kurzdarstellungen werden die aktuellen Zertifizierer von Fischprodukten vorgestellt sowie über die Eigenlabel von Einzelhandelsketten informiert. Es werden die zurzeit aktuellen Zertifizierungsinstitutionen, die daraus resultierenden Label und Siegel vorgestellt sowie die Philosophien hinter verschiedenen Standards und Biosiegeln erläutert und die Anforderungen zur Erteilung der Zertifikate vergleichend dargestellt.

Zurzeit sind unter dem Menüpunkt „Certification“ neben einführenden Artikeln Informationen zu zwei wichtigen Zertifizierern, Naturland und Global Gap (Abb. 2.8), eingestellt. Weitere wichtige Zertifizierungsorganisationen sollen folgen. An dieser Stelle sein angemerkt, dass nur die Zertifizierer berücksichtigt werden, die Aquakulturprodukte zertifizieren.

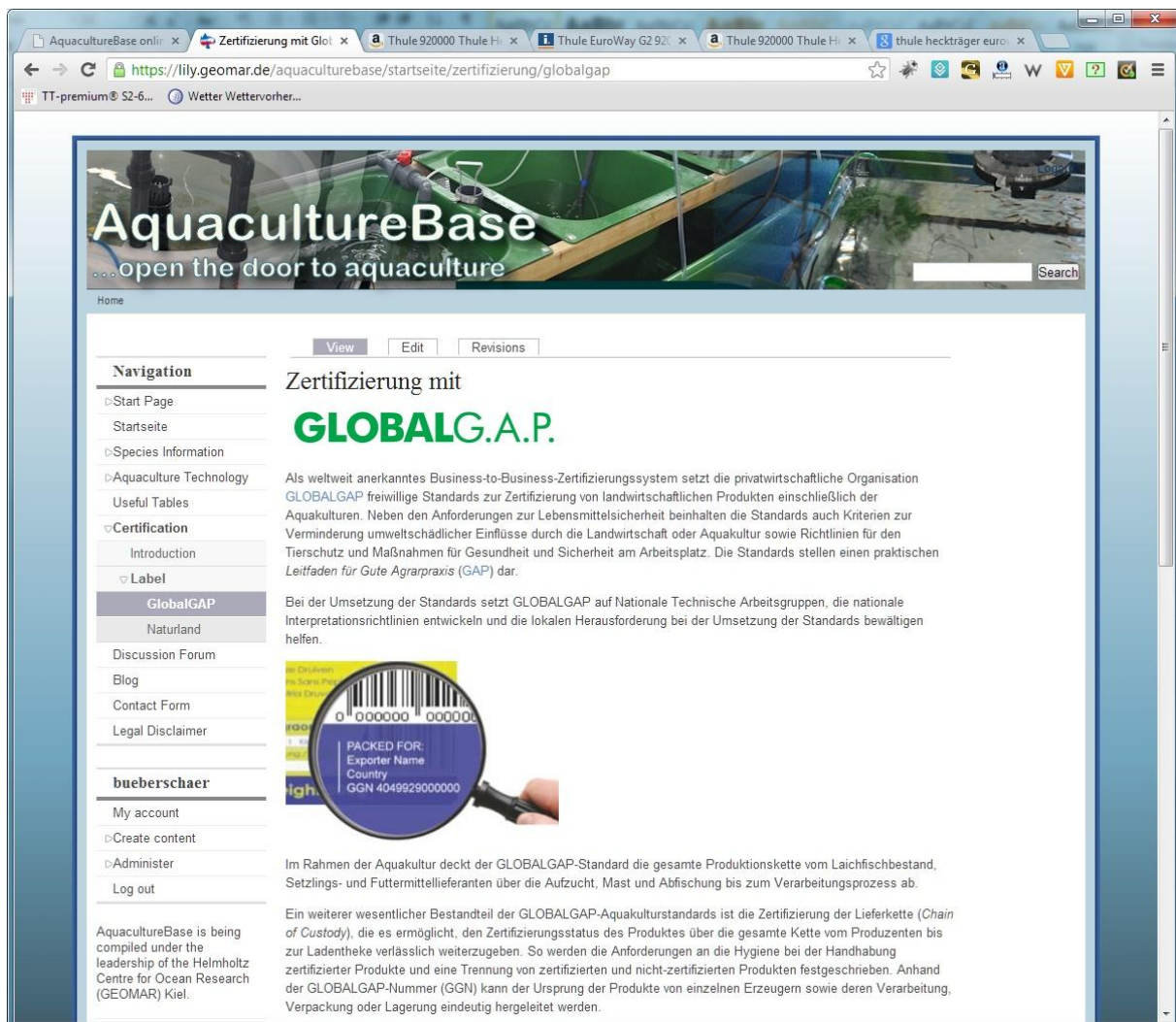


Abb. 2.8: Beispielhaft der Artikel zur Zertifizierungsorganisation Global GAP.

Erreichung der Meilensteine:

Meilenstein 3.26 Entwurf Decision Supporting Tool (DSS-Tool), Prototyp Entwicklung.

Thema Decision Supporting Tool:

Neu- oder Quereinsteiger in die Aquakulturproduktion stehen oft vor der primären Frage, welche Fischarten grundsätzlich für die vor Ort gegebenen technischen, ökologischen und ökonomischen Rahmenbedingungen überhaupt in Frage kommen. Hierzu war geplant eine Entscheidungsmatrix in AquacultureBase zur Verfügung zu stellen, welche die Auswahl sinnvoller Fischarten unter den jeweils gegebenen Verhältnissen erleichtern sollte.

Diese Aufgabe war dem für AquacultureBase eingestellten Mitarbeiter übertragen worden. Durch das Ausscheiden dieses Mitarbeiters in der Jahresmitte und mangels geeignetem Personalersatz konnte das geplante Tool noch nicht so weit entwickelt werden, um es online zur Verfügung zu stellen. Da bisher keine weitere finanzielle Unterstützung für die Pflege und weitere Entwicklung von AquacultureBase zur Verfügung gestellt werden kann (im

Nachfolgeprojekt von NEMO sind keine Mittel für Pflege und Update des Informationssystems berücksichtigt worden) ist noch offen, wieweit insbesondere dieses Tool in 2013 zur Implementierung in das online Interface von AquacultureBase weiterentwickelt werden kann.

Meilenstein 3.27 Multimedia- & Simulationstools

Da Simulationstools, neben Programmierarbeiten, vor allem umfangreiche Fachkenntnisse erfordern und besonders die Fachkenntnisse durch das vorzeitige Ausscheiden des Mitarbeiters im TP-2 AquacultureBase nicht mehr zur Verfügung standen, konnte dieser Meilenstein in 2012 nicht wie geplant erreicht werden.

Es wurden jedoch andere, externe Ressourcen unter Beteiligung des Teilprojektleiters Bernd Uberschär geschaffen, die einen Teil des zu erreichenden Zieles abdecken können. Im Rahmen der Mitarbeit des Teilprojektleiters im EU-Netzwerk AquaTNET (www.aquatnet.com) wurde eine Internet-Ressource entwickelt (www.aquacase.org), die verschiedene Aquakulturformen mit Hilfe von sog. „Use Cases“ darstellt und illustriert. Diese Ressource befindet sich zur Zeit im Aufbau und wird in den nächsten 2 Jahren umfangreiche Informationen über professionelle Aquakulturbetriebe darstellen können. Der Teilprojektleiter hat dabei eine wichtige Rolle bei der Implementierung von „Use cases“ übernommen.

Ein „Preview“ dieser Ressource ist zurzeit unter der Adresse www.preview.aquacase.org erreichbar (Abb. 2.9). Eine Verlinkung in AquacultureBase wird interessierte Benutzer des Informationssystems auf diese nützliche und ergänzende Ressource verweisen.

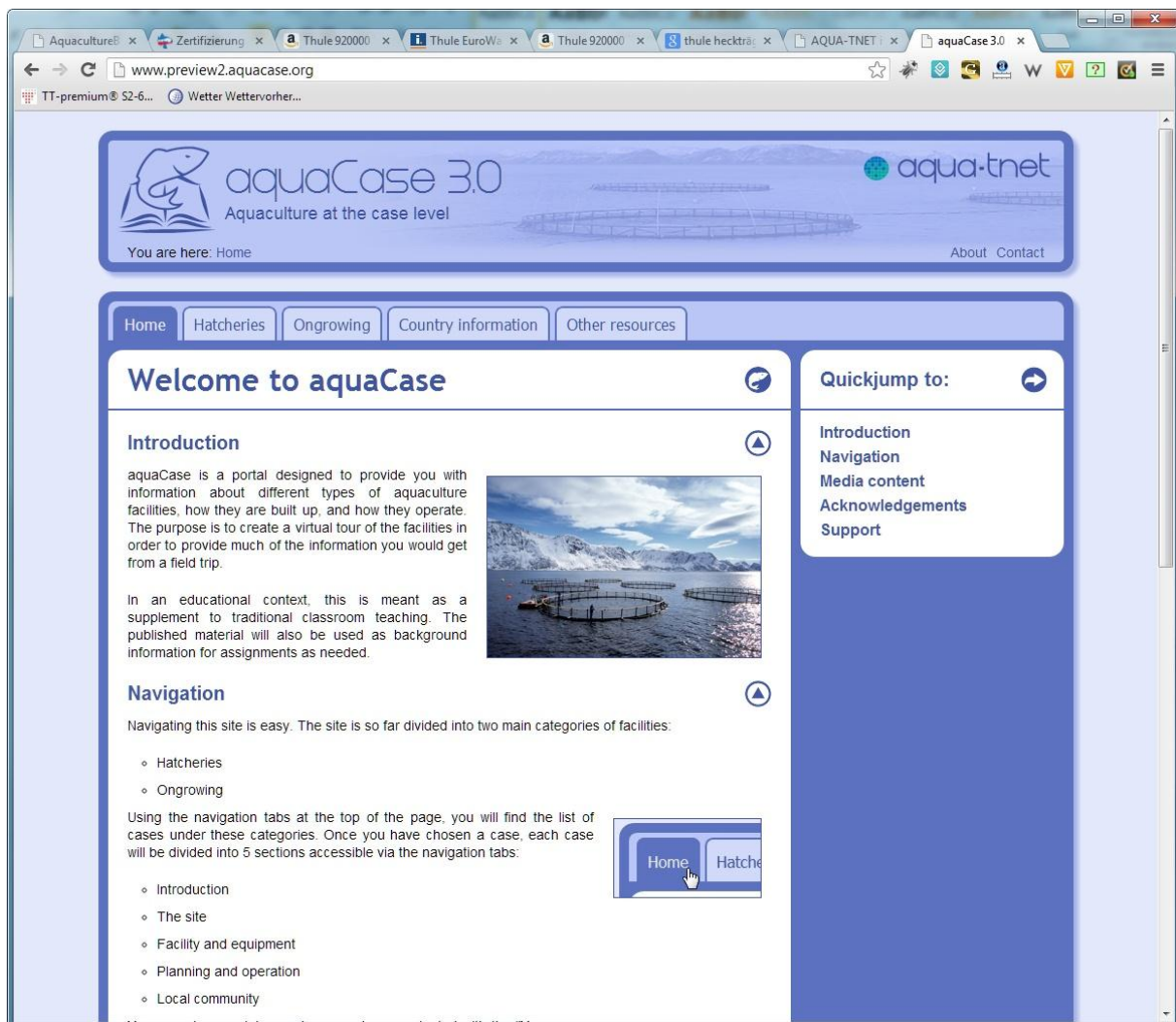


Abb. 2.9: AquaCase ist ein Online Portal, welches die verschiedenen Aquakulturformen anhand von realen Fischfarmen und Hatcheries illustriert („Use Cases“). Die Informationen werden von umfangreichen Multimediainhalten begleitet.

AquaculturBase online:

Das Userinterface von AquacultureBase ist seit Juni 2012 über die URL www.aquaculturebase erreichbar. Unter dem Menüpunkt „Start“ öffnet sich der Homescreen des Informationssystems.

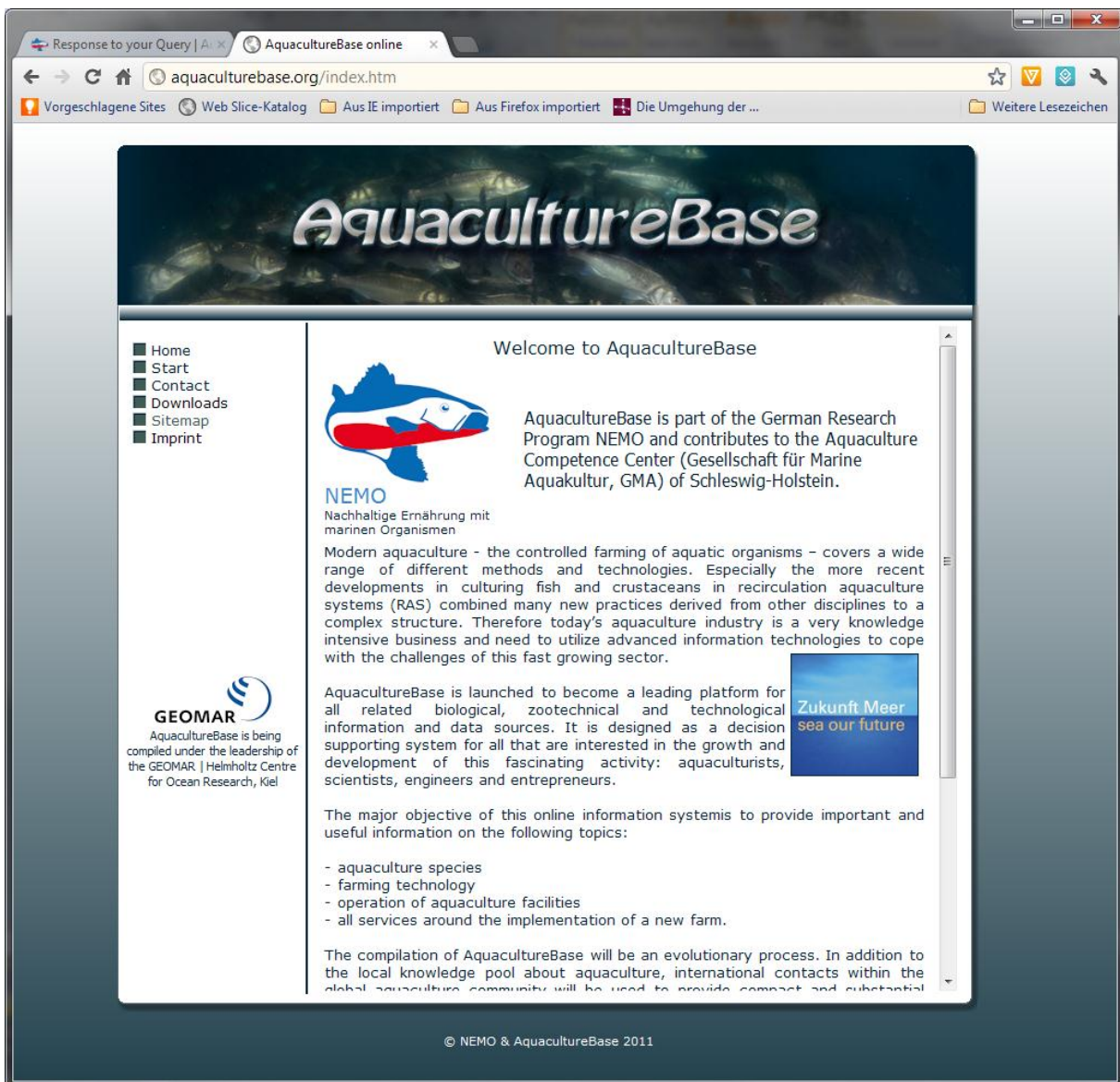


Abb. 2.10 Das vorgeschaltete Portal zu AquacultureBase informiert über die Themen des Informationsportals AquacultureBase. Unter dem Menüpunkt „Start“ ist das Informationssystem erreichbar.

Arbeitsplan und Meilensteine

Auf der folgenden Seite ist der Arbeitsplan für TP 2 abgebildet mit der Darstellung der durchzuführenden Aufgaben und der jeweils erreichten Meilensteine. Es wird darauf hingewiesen, dass die Meilensteine 3.26 (Entwurf DSS-Tool, Prototype Entwicklung) und 3.27 (Multimedia- & Simulationstools) nicht vollständig erreicht wurden. Die Gründe dafür sind im Bericht dargelegt.

Entwicklungsstand des Teilprojektes 3:

„Optimierung der Aufzucht harpacticider Copepoden als Lebendfutter für marine Fischlarven“

Kurztitel: Copepoden (TL: Prof. Dr. Ulrich Sommer, Doktorandin Carmen Arndt)

Zusammenfassung des Themas:

Obwohl in den letzten Jahren bedeutende Fortschritte in der Entwicklung geeigneter Trockenfuttermittel erzielt worden sind, bleibt der Einsatz von Lebendfutter in der industriellen Aufzucht mariner Fischlarven vorerst unverzichtbar. Diese heute gängigen Arten, der Salinenkrebs *Artemia* sp. und das Rädertier *Brachionus plicatilis*, sind jedoch hinsichtlich ihrer Futterqualität nicht optimal und müssen mit essentiellen Komponenten, u. a. langkettigen, ungesättigten Fettsäuren, angereichert werden. Copepoden erfüllen als Hauptkomponente der natürlichen Nahrung von Fischlarven auf optimale Weise deren metabolische Anforderungen. Ihr Einsatz ist jedoch meist auf das Verfüttern von pelagischen Wildfängen beschränkt, da viele pelagische (d.h. in der Wassersäule lebende) Copepoden aufwändig in Kultur zu halten sind. Harpacticide Copepodenarten leben dagegen überwiegend benthisch (d. h. Boden bezogen) und ernähren sich bei ähnlich hoher Fertilität wie pelagische Copepoden von Algen, Bakterienaufwuchs und toter Biomasse (Detritivorie). Diese Eigenschaften machen harpacticide Copepoden zu idealen Kandidaten für einen Einsatz als Lebendfutter in Kreislaufanlagen, weil sie direkt in den Reaktorkammern einer Kreislaufanlage als Teil des geschlossenen Stoffstrommanagements gezüchtet werden können. Ziel des Teilprojektes ist es, den Einsatz harpacticider Copepodenarten als hochwertiges Lebendfutter zu untersuchen. Dies soll durch die Ermittlung optimaler biotischer (Futteralgen) und abiotischer (Licht, Temperatur) Faktoren, aber auch durch Arten-Screening bisher unerforschter Arten in Bezug auf deren Eignung als Lebendfutter erreicht werden. Mit diesem Projekt werden wichtige und neue Erkenntnisse im Bereich der Biologie der Zuchtorganismen, speziell für den Bereich der Ernährung früher Lebensstadien und neuer Arten in der Aquakultur gewonnen.

Stand der Arbeiten:

Meilenstein: Einfluss von Algenart und Algenkonzentration auf die Entwicklung von Copepoden

Da die Firma Bluebiotech GmbH ein Algen-Konzentrat von *Pavlova* sp. entwickelt, wurde dieses noch nachträglich als Futter für Copepoden getestet. Ein Konzentrat hat den Vorteil, dass man es je nach Bedarf kaufen kann und dass es mehrere Monate haltbar ist, so wäre mit einem Konzentrat eine durchgehende Versorgung gewährleistet. Es wurde sowohl das Wachstum und die Reproduktion der Copepoden bestimmt, als auch deren Fettsäuregehalt. Diese Ergebnisse wurden mit denen der vorherigen Algen-Copepoden-Experimente verglichen.

Dabei hat sich herausgestellt, dass *Pavlova* sp. mit einem Durchmesser von 3.2 µm offensichtlich zu klein ist um effektiv aufgenommen zu werden. Das zeigte sich besonders in der hohen Kohlenstoffkonzentration, die nötig war um eine Futtersättigung bei den Copepoden zu erreichen (Abb. 3.1).

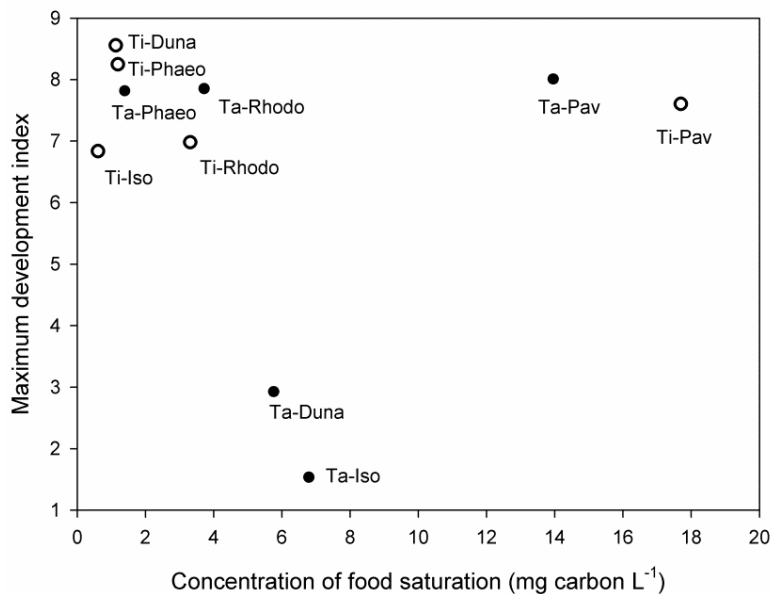


Abb. 3.1: Maximaler Entwicklungindex von *Tachidius discipes* (Ta) und *Tisbe* sp. (Ti) vs. Futtersättigungskonzentration (mg C L⁻¹). Rhodo = *Rhodomonas* sp., Phaeo = *Phaeodactylum tricornutum*, Pav = *Pavlova* sp., Duna = *Dunaliella tertiolecta*, Iso = *Isochrysis galbana*.

Meilenstein: Performance von Fischlarven

Verdaubarkeit der Futterorganismen

Das Verdauungsexperiment wurde nochmal wiederholt um zusätzlich den Einfluss der mechanischen Bearbeitung durch die Ringmuskulatur im Darm einer Larve zu untersuchen. Insgesamt wurden 3 verschiedene Behandlungen durchgeführt.

- (1) Futterorganismen in TRIS-Puffer-Lösung (Kontrolle)
- (2) Futterorganismen ohne Vorbehandlung in Trypsin-Lösung
- (3) Futterorganismen mit Vorbehandlung zur Imitierung der Ringmuskulatur in Trypsin-Lösung.

Zur Imitierung der Ringmuskulatur wurden die in der Aquakultur relevanten Futterorganismen (*Tisbe*, *Tachidius*, *Acartia*, *Artemia*, *Brachionus* und *Panagrolaimus* (Nematode)) mittels einer Pinzette gedrückt bevor sie in die Trypsinlösung (10 mg mL⁻¹) überführt wurden. Trypsin ist das Hauptenzym in Fischlarven und kann somit einen Hinweis auf die Verdaubarkeit der Futterarten liefern. Nach 3 h wurden die Organismen fotografiert (Abb. 3.2 – 3.7).



Abb. 3.2: *Tachidius discipes* nach 3 h A) in einer Puffer-Lösung (Kontrolle), B) in einer Trypsin Lösung ohne Quetschen und C) mit Quetschen, Maßstabsbalken = 200 μ m



Abb. 3.3: *Tisbe* sp. nach 3 h A) in einer Puffer-Lösung (Kontrolle), B) in einer Trypsin Lösung ohne Quetschen und C) mit Quetschen, Maßstabsbalken = 200 μ m

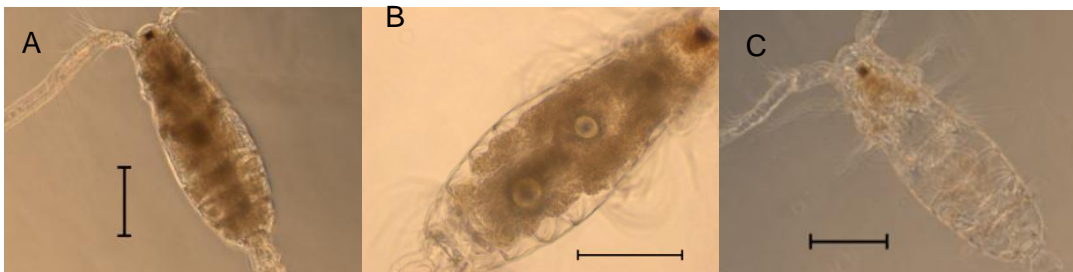


Abb. 3.4: *Acartia tonsa* nach 3 h A) in einer Puffer-Lösung (Kontrolle), B) in einer Trypsin Lösung ohne Quetschen und C) mit Quetschen, Maßstabsbalken = 200 μ m



Abb. 3.5: *Brachionus plicatilis* nach 3 h A) in einer Puffer-Lösung (Kontrolle), B) in einer Trypsin Lösung ohne Quetschen und C) mit Quetschen, Maßstabsbalken = 200 μ m



Abb. 3.6: *Artemia* sp. nach 3 h A) in einer Puffer-Lösung (Kontrolle), B) in einer Trypsin Lösung ohne Quetschen und C) mit Quetschen, Maßstabsbalken = 200 μ m



Abb. 3.7: *Panagrolaimus* sp. nach 3 h A) in einer Puffer-Lösung (Kontrolle), B) in einer Trypsin Lösung ohne Quetschen und C) mit Quetschen, (nur die Hälfte der Nematode, da das Quetschen zu einer Teilung des Organismus führte), Maßstabsbalken = 200 μ m.

Nahezu alle Organismen wurden unabhängig von der Vorbehandlung durch Trypsin beeinflusst (Abb. 3.2 – 3.7). Lediglich die Nematoden zeigten nur eine Veränderung, wenn zuvor eine Schädigung der Außenhaut erfolgte. Es zeigte sich, dass Artemien am schnellsten vom Trypsin verdaut werden (Abb. 3.6). Bei den anderen Organismen zeigten sich auf den Fotos Veränderungen im Inneren. Die äußere Hülle blieb unverändert.

Zur Quantifizierung des Trypsineffektes wurden die gesamte Körperfläche und die innere Fläche bestimmt. Daraufhin wurde die prozentuale Auflösung (R für Reduction) des Körpergewebes im Vergleich zur Kontrolle berechnet.

$$(1) \quad \bar{A}_c = \frac{1}{n} \sum_{i=0}^n (A_{ic} / A_{tc})$$

$$(2) \quad R = 100 \cdot \left(1 - \frac{A_{it} / A_{tt}}{\bar{A}_c}\right),$$

wobei \bar{A}_c = Durchschnittsverhältnis der inneren Fläche (A_{ic}) und der Gesamtkörperfläche umgeben von der Cuticula (A_{tc}) der Organismen in der Kontrolle, n = Anzahl der Organismen, A_{it} = innere Fläche des Organismus bei Trypsinbehandlung, A_{tt} = Gesamtkörperfläche umgeben von der Cuticula des Organismus bei Trypsinbehandlung.

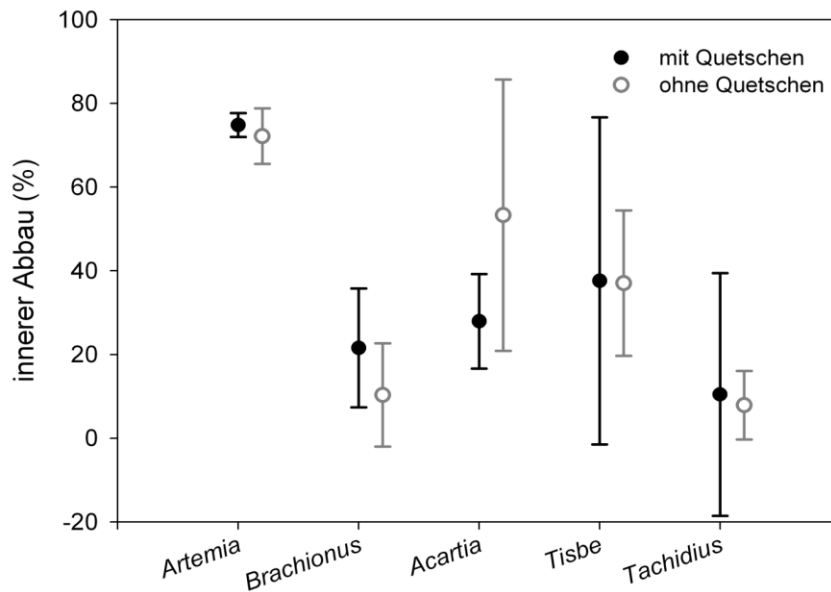


Abb. 3.8: prozentualer Abbau nach 3 h in der Trypsinlösung (10 mg mL^{-1} , 30°C) im Vergleich zur Kontrolle (TRIS-Pufferlösung, 30°C). Mittelwert ($N = 3-5$) und Standardabweichung sind abgebildet.

Das Quetschen der Organismen hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Verdaubarkeit (Abb. 3.8). Es zeigte sich jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den Futterorganismen. *Artemia* wurden mit Trypsin am leichtesten verdaut, wohingegen *Tachidius* (benthische Copepodenart) und *Panagrolaimus* (Nematode) eine nur sehr geringe Verdaubarkeit aufwiesen. *Tisbe* eine andere benthische Copepodenart wies eine mittlere Verdaubarkeit von ca. 40% auf und ist damit vergleichbar mit *Acartia* einer pelagischen Copepodenart.

Im Umgang mit den beiden benthischen Copepodenarten (*Tachidius* und *Tisbe*) wurde schon zuvor beobachtet, dass *Tachidius* robuster zu sein scheint als *Tisbe*. Dies ist vermutlich auf die Lebensweise der Organismen zurückzuführen. Während *Tisbe* bevorzugt auf Seegrass und Makroalgen zu finden ist, wurde *Tachidius* in dieser Studie an einer grobsandigen Küste isoliert. *Tachidius* benötigt somit wahrscheinlich ein steiferes Außenskelett um den Turbulenzen und herumwirbelnden Sandkörner zu widerstehen.

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass abgesehen vom Nährwert der Futterorganismen wie Fettsäuren und Proteinen auch die Erreichbarkeit dieser Nährstoffe eine große Rolle spielt. Dies sollte bei zukünftigen Evaluierungen potentieller neuer Futterorganismen beachtet werden. Deswegen sollten neue Copepodenarten in Habitaten gesucht werden, in denen sie mit

- geringer Futterqualität
- Temperatur und Salzgehaltsschwankungen
- aber geringen mechanischen Störungen

konfrontiert sind. Diese Habitateigenschaften könnten die Fähigkeit der Fettsäuredesaturierung erhöhen, die Toleranz gegenüber Temperatur und Salzgehaltsschwankungen verbessern, aber auch vermutlich eine relativ gute Verdaubarkeit der Copepodenart hervorrufen.

Meilenstein „Erstellung der Doktorarbeit und Publikation der Ergebnisse“

Die Erstellung der Doktorarbeit begann 2012 und wurde im Januar 2013 abgeschlossen. Es wurde auch ein Manuskript bei der Zeitschrift „Aquaculture Nutrition“ eingereicht, welches ebenfalls im Januar 2013 akzeptiert wurde. Ein weiteres wurde bei „Aquaculture“ eingereicht und befindet sich im Review-Prozess.

Versuche zur Auswaschdynamik in der Kreislaufanlage wurden nicht durchgeführt, da zum Einen die Copepoden in Batch-Kultur aufgezogen werden und nicht in einer Kreislaufanlage und die Fischlarven in einer Durchflussanlage und zum Anderen der Durchfluss auch so gering ist, dass kaum ein „Auswaschen“ stattfindet und dies somit kein relevanter Prozess ist.

Desweiteren wurden keine Modellkalkulationen zur ökonomischen Rentabilität durchgeführt, Aufgrund der schlechten Performance der Fischlarven die harpacticide Copepoden als Futter hatten, wurde anstatt der Modellkalkulationen nach den Gründen für die schlechte Performance gesucht. Dazu wurden eine Videoanalyse zum Jagdverhalten der Fischlarven als auch ein Verdauungstest verschiedener Futterorganismen durchgeführt. Die Ergebnisse dazu wurden in dem Sachstandsbericht 2011 und dem aktuellen Bericht erwähnt.

Zusammenfassung des gesamten Teilprojektes 3

Während der Fischfang seit den 90er Jahren stagniert, steigt die Aquakulturproduktion stetig an. War die Fischzucht in den 80er Jahren nur in geringem Maße vorhanden, so nimmt sie jetzt 40% der weltweiten Fischversorgung ein. Diese Zunahme brachte auch einen steigenden Bedarf an Setzlingen mit sich, der eine Intensivierung der Fischlarvenzucht notwendig machte. Intensive Aquakultursysteme benötigen eine Fütterung von außen. Dadurch erhöht sich die Forschungsaktivität, Futter zu finden, welches nahrhaft ist, aber auch kosteneffizient produziert werden kann.

Brachionus und *Artemia* sind momentan die zwei meist genutzten Futterarten für Fischlarven. Sie können zwar mit geringem Arbeitsaufwand kultiviert werden, aber sie müssen mit Nährstoffen - insbesondere Fettsäuren - angereichert werden, um die Fischlarven adäquat zu versorgen. Für marine Fischlarven sind Copepoden ein Hauptbestandteil der natürlichen Nahrungsquelle. Werden Fischlarven mit diesen gefüttert, zeigen sie oftmals eine höhere Überlebensrate, ein besseres Wachstum und weniger Fehlpigmentierungen und Missbildungen im Vergleich zur Ernährung mit angereicherten *Brachionus* und *Artemia*. Aus diesem Grund liegt der Fokus dieser Studie auf der Zucht von Copepoden, insbesondere harpacticiden Copepoden als Futter mariner Fischlarven. Harpacticide Copepoden können in höheren Dichten als calanide kultiviert werden und sind robuster gegenüber Temperatur- und Salinitätsschwankungen. Dies verspricht eine leichtere und kosteneffizientere Zucht im Vergleich zu calaniden Copepoden.

In einem Copepoden-Screening erwies sich *Tachidius discipes* als ein möglicher neuer Kandidat zur Aufzucht von Fischlarven. Zunächst wurde die Eignung der neuen Art im Hinblick auf Wachstum, Reproduktion und Fettsäurezusammensetzung untersucht und mit *Tisbe* sp. verglichen. Außerdem wurde die Futtersättigungskonzentration bestimmt, um eine ökonomische Fütterung der Copepoden zu ermöglichen. Mit den beiden Algenarten *Rhodomonas* sp. und *Phaeodactylum tricornutum* zeigten die Copepoden die beste Performance und das empfohlene Verhältnis der essentiellen Fettsäuren wurde erreicht. *T. discipes* und *Tisbe* sp. wiesen gleiche Wachstums- und Reproduktionsraten auf bei Fütterung mit optimalem Futter. Aber *Tisbe* sp. hatte anscheinend eine höhere Kapazität Fettsäuren zu desaturieren und/oder es ist eine opportunistischere Art, die inadäquates Futter kompensieren kann, indem sie zu anderen Futterarten wie z.B. Bakterien wechselt.

Dennoch wurde *T. discipes* als eine neue Futterart für Heringslarven (*Clupea harengus*) evaluiert und mit *Brachionus plicatilis* verglichen. Eine überraschend schlechte Konstitution der Heringslarven bei Fütterung mit *T. discipes* führte zu einem anschließenden In-vitro-Verdauungstest mittels des Enzyms Trypsin. Diese Untersuchung zeigte, dass *T. discipes* schlechter verdaulich ist als *Tisbe* sp. Eine noch weitaus höhere Verdaubarkeit wies *Artemia* sp. auf.

Anschließend wurde eine 2D-Videoanalyse durchgeführt um zu untersuchen, ob die benthische Lebensweise der harpacticiden Copepoden ein Problem für die pelagisch lebenden Fischlarven in Bezug auf Fangerfolg und Energieverbrauch darstellt. Benthische Copepoden wurden von den Fischlarven wahrgenommen. Aber die Fischlarven hatten seltener Futter im Darm, wenn sie mit Copepoden anstatt mit *B. plicatilis* gefüttert wurden. Dies verbesserte sich jedoch mit Entwicklung der Fischlarve. Die Verfütterung der Copepoden mittels eines schwimmenden Siebes verbesserte den Fangerfolg und verringerte wahrscheinlich den Energieverbrauch der Fischlarven.

Abschließend lässt sich sagen, dass harpacticide Copepoden ein hochwertiges Futter für marine Fischlarven sind, aber ihre Verdaubarkeit ist ein kritischer Punkt, der bei künftigen Evaluierungen neuer Arten und bei Fütterungsversuchen berücksichtigt werden sollte. Obwohl harpacticide Copepoden in relativ hohen Dichten kultiviert werden können, werden nicht so hohe Dichten erzielt wie mit *B. plicatilis*. Somit werden Copepoden eher eine Nahrungsergänzung als das alleinige Futter für Fischlarven darstellen.



	2009												2010												2011												2012												
Monat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1
Laufender Projektmonat						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44
Aufbau Algenkulturen						■	■	■	■																																								
Startkulturen harpacticide Copepoden						■	■	■	■																																								
Neue harpacticide Copepodenarten						■	■	■	■																																								
Populationsparameter																																																	
Qualitätsparameter																																																	
Performance von Fischlarven Versuch																																																	
Auswertung																																																	
Auswaschdynamik in der Kreislaufanlage																																																	
Modellkalkulation ökonomische Rentabilität																																																	
Verhaltensanalyse Versuch																																																	
Auswertung																																																	
Verdauungstest																																																	
Doktorarbeit/ Publikation																																																	

Entwicklungsstand des Teilprojektes 4:

Entwicklung von Micro Diets als Ersatz für lebende Nahrung für frühe Lebensstadien mariner Fischarten.

Kurztitel: Microdiets (TL: Dr. Bernd Ueberschär, Ph.D Robert Tillner, Dr. Catriona Clemmesen)

Zusammenfassung des Themas

Die zuverlässige und kostengünstige Produktion von genügend Setzlingen ist einer der wesentlichen „Bottlenecks“ in der marinen Aquakultur und kann ein weiteres Wachstum bei der Produktion von hochwertigen Fischprodukten, vor allem unter europäischen Bedingungen, verhindern. Dabei ist die Bereitstellung und Qualität des geeigneten Larvenfutters eines der wichtigsten Faktoren, um hohe Überlebensraten bei den frühen Lebensstadien zu gewährleisten

Das NEMO-Teilprojekt 4 beschäftigt sich mit der larvalen Entwicklung, den Defiziten in der Verdauungsphysiologie und letztendlich mit der Entwicklung von vollwertigen künstlichen Futtermitteln (sog. Micro-Diets) für die Larvenstadien mariner Fischarten, mit dem Ziel, das bisher für eine akzeptable Überlebensrate notwendige Lebendfutter abzulösen. Ziel ist es, Es soll ein Trockenfutter für marine Fischlarven entwickelt werden, welches geeignet ist, das Lebendfutter von der Anfütterung nach dem Schlupf bis zur Metamorphose ("Weaning") weitgehend zu ersetzen und erkannte physiologische Defizite über gezielte Einarbeitung von entsprechend physiologisch wirksamen Substanzen auszubessern. Bisherige Forschungsansätze zu diesem Thema haben sich eher mit der Futterqualität selber, aber weniger mit den physiologischen Defiziten der sich entwickelnden Fischlarven beschäftigt. Die Probleme bei der Fütterung von jüngsten Larvenstadien mariner Fischarten mit Micro-Diets liegen aber eher im fehlenden Wissen um die larvale Verdauungsphysiologie.

Dieses Projekt richtet daher den Focus auf die Suche nach Trigger-Substanzen zur biochemischen Manipulation des Verdauungsprozesses mit dem Ziel, ein Futtermittel zu entwickeln, welches Substanzen enthält die natürliche Defizite in der frühen larvalen Verdauungskapazität ausgleichen können. Mit diesem Projekt lassen sich wichtige und neue Erkenntnisse im Bereich der Biologie der Zuchtorganismen, speziell für den Bereich der Ernährung früher Lebensstadien gewinnen. Die geplante Entwicklung der Micro Diets zur Aufzucht mariner Fischlarven ist eine ideale Ergänzung für die Kreislauftechnologie, die einen weitgehend autarken Charakter haben soll. Ständige Verfügbarkeit, gleichbleibende Qualität, Dosierung und Hygiene von künstlichen Futtermitteln sind wichtige Vorzüge für die Verwendung in einer Kreislaufanlage und könnten einen wichtigen Aspekt im Bereich „Technologietransfer“ innerhalb der Matrix im Kompetenzzentrum darstellen. Die Verbreitung der Kreislauftechnologie in Deutschland hängt zu einem großen Teil von der Verfügbarkeit von Setzlingen ab; dabei können Micro Diets in Zukunft eine wichtige Rolle spielen, da sie auch Nicht-Spezialisten, die die Aufzucht von Lebendfutter nicht beherrschen, ermöglichen, in diesem Sektor tätig zu werden (ein Beispiel dafür ist die Aufzucht von Regenbogenforellen, die sich ausschließlich mit künstlichen Futtermitteln für die Larvenstadien realisieren lässt).

Daneben sind Erkenntnisse aus diesem Bereich von so grundlegender Natur, dass die Erkenntnisse aus den Laborexperimenten auch hohe Relevanz für die unter natürlichen Bedingungen aufwachsenden Larven und Jugendstadien haben werden. So ist z.B. der Ernährungszustand von Fischlarven im Feld bzw. deren Bestimmung an natürlichen Beständen ein wichtiges Kriterium für die Vorhersage von Rekrutierungserfolgen. Hier verzahnen sich die Interessen von Larvenökologie und aquakulturrelevanter Forschung an den Jugendstadien von Fischen.

Im Einzelnen werden in diesem Forschungssegment gegenwärtig folgende Ziele verfolgt:

- a) Regelkreise zur Verdauungsphysiologie bei Fischlarven;
- b) Aufklärung ernährungsphysiologischer (und ontogenetischer) Defizite bei Fischlarven;
- c) aus a + b abgeleitete Tests zu Nahrungsergänzungsmitteln;
- d) Design von Microdiets mit optimierter Nahrungszusammensetzung und exemplarische Verifizierung bei Larven geeigneter Fischarten;

Ein besseres Verständnis der Verdauungsphysiologie ist eine wesentliche Voraussetzung, um die ernährungsphysiologischen Ansprüche sowohl in angebotenen Lebendfutter, als auch in künstlichem Futter abzudecken.

Das Verdauungssystem mariner Fischlarven ist zum Zeitpunkt des Fressbeginns eher simpel organisiert. Somit hängt die Verdauung von Proteinen größtenteils vom proteolytischen Enzym Trypsin ab, welches als inaktive Form von der Bauchspeicheldrüse in das Darmlumen sezerniert und durch das Enzym Enteropeptidase aktiviert wird.

Das gastrointestinal Hormon Cholecystokin (CCK) ist bekannt für seine regulatorische Rolle bei der Entleerung der Gallenblase, dem Durchmischen des Darminhaltes und der Sekretion der Proenzyme der Bauchspeicheldrüse, sowohl in Säugetieren, als auch in adulten Fischen. Obwohl die Existenz von CCK-produzierenden Zellen in verschiedenen Darmabschnitten von Fischlarven nachgewiesen wurde, sind die regulierenden Mechanismen zwischen CCK und Trypsin, wie z.B. bei Menschen, in Fischlarven noch weitestgehend unbekannt.

Bezüglich der CCK- und Trypsinsekretion, wurde das Glykoprotein Phytohämagglutinin (PHA) aus roten Bohnen als externer Auslöser für die Wachstumsstimulation der Bauchspeicheldrüse, des Darms und erhöhter CCK-Sekretion in Ratten und Meerschweinchen identifiziert. Ein ähnlicher Effekt der CCK- und Trypsinsekretion durch Stimulation durch PHA und somit die Erhöhung der Verdauungskapazität ist in marinen Fischlarven prinzipiell auch vorstellbar.

Ein wesentliches Ziel der Experimente in TP 4 ist daher die Aufklärung möglicher Sekretionsmuster von CCK und Trypsin für marine Fischlarven zum Zeitpunkt der ersten Futteraufnahme, sowie mögliche Regulationsmechanismen welche die Produktion und Sekretion beider Faktoren kontrollieren. Ein weiteres wichtiges Ziel ist die Evaluierung von Substanzen, welche möglicherweise die CCK-Trypsin-Achse manipulieren und damit die Verdauungskapazität in den frühen Lebensstadien erhöhen und möglicherweise auch die ontogenetischen Defizite ausgleichen können. Die wissenschaftlichen Ergebnisse aus

diesem Projekt tragen auch zur grundlegenden Aufklärung der endokrinen Kontrolle von Verdauungsmechanismen in frühen Stadien mariner Fischlarven bei.

Im Folgenden wird über die im Teilprojekt 4 durchgeführten Arbeiten vom 01. Januar bis 31. Dezember 2012 berichtet:



Erreichung der Meilensteine:

Meilenstein 3.3.3 Lebendfutteranreicherung, Mikroinjektion, Vergleich Futterorganismen, Auswertung

Die Arbeiten für diesen Meilenstein wurden bereits 2011 begonnen und in 2012 zum Abschluss gebracht (siehe dazu auch Jahresbericht 2011).

Die bereits 2011 begonnenen Analysen zum Tagesrhythmus von Trypsin und CCK aus den Versuchen mit Dorschlarven in Norwegen wurden fortgeführt und abgeschlossen.

Dafür wurde in einer geeigneten Auswahl der noch verbliebenen Proben das Hormon CCK¹ sowie die Trypsinaktivität mit den bereits bekannten hochsensiblen Verfahren bestimmt. Beide Indikatoren wurden individuell an jeweils derselben Fischlarve gemessen.

Die Ergebnisse wurden zum Teil bereits im Oktober 2011 auf der „Aquaculture Europe 2011“ auf Rhodos, Griechenland vorgestellt und in 2012 in einer Veröffentlichung zusammengefasst, die sich zurzeit in der Begutachtung befindet (siehe auch im Abschnitt: Veröffentlichungen, Manuskripte, Vorträge und Präsentationen in 2012 am Ende dieses Sachstandsberichtes).

In verschiedenen Versuchen in 2010 und 2011 (Norwegen: *Dorsch- und Heilbuttlarven*; Kiel: *Wolfsbarschlarven*) wurden über die Mikroinjektionsmethode der Einfluss verschiedener Substanzen auf die Verdauungsphysiologie als Gesamtprozess bzw. die Reaktion selektiv auf die Trypsinaktivität getestet. Ziel war es herauszufinden, in welcher Weise die Trypsinsynthese, Sezernierung und Aktivität beeinflusst werden kann.

Beim Heilbutt wurden hungernde Larven behandelt und analysiert, bei denen unter Anwendung der Mikroinjektionsmethode folgende Substanzen in den Darm appliziert wurden:

- (a) Kochsalzlösung als Kontrolle,
- (b) Albumin (BSA; 41,6mg/ml),

¹ mit freundlicher Unterstützung des Max-Rubner-Instituts in Kiel

- (c) CCK-Antagonist (Proglumide; 5ng/mg Frischmasse)
- (d) Albumin+CCK-Antagonist.

Bei gefütterten Dorschlarven unterschiedlichen Alters wurden folgende Substanzen injiziert:

- (a) Kochsalzlösung als Kontrolle
- (b) CCK (0,1143ng/mg Frischmasse)
- (c) CCK-antagonist (Proglumide; 5ng/mg Frischmasse)
- (d) PHA (0,003% Frischmasse)
- (e) Trypsin Inhibitor (Camostat; 50ng/mg Frischmasse)

sowie verschiedene Proteinkonzentrationen:

- (a) Kochsalzlösung als Kontrolle
- (b) Albumin (BSA; 41,6mg/ml),
- (c) Albumin (BSA; 150mg/ml)
- (d) Albumin (BSA; 291mg/ml)

Die aus diesen Versuchen stammenden Proben wurden 2012 analysiert und teilweise ausgewertet und zurzeit für eine Veröffentlichung aufbereitet. Als Indikator wurde wiederum Trypsin in individuellen Larven bestimmt.

Um die Dynamik der Trypsinsezernierung im Tagesverlauf im Zusammenhang mit mehreren Futtergaben zu untersuchen, wurden u.a. 2 Wochen alte Dorschlarven über einen Zeitraum von etwa 12 Stunden beprobt. An diesen Proben wurde die Trypsinaktivität individuell bestimmt. In Abb. 4.1 wird der Tagesverlauf beispielhaft für 2 Wochen alte Dorschlarven dargestellt.

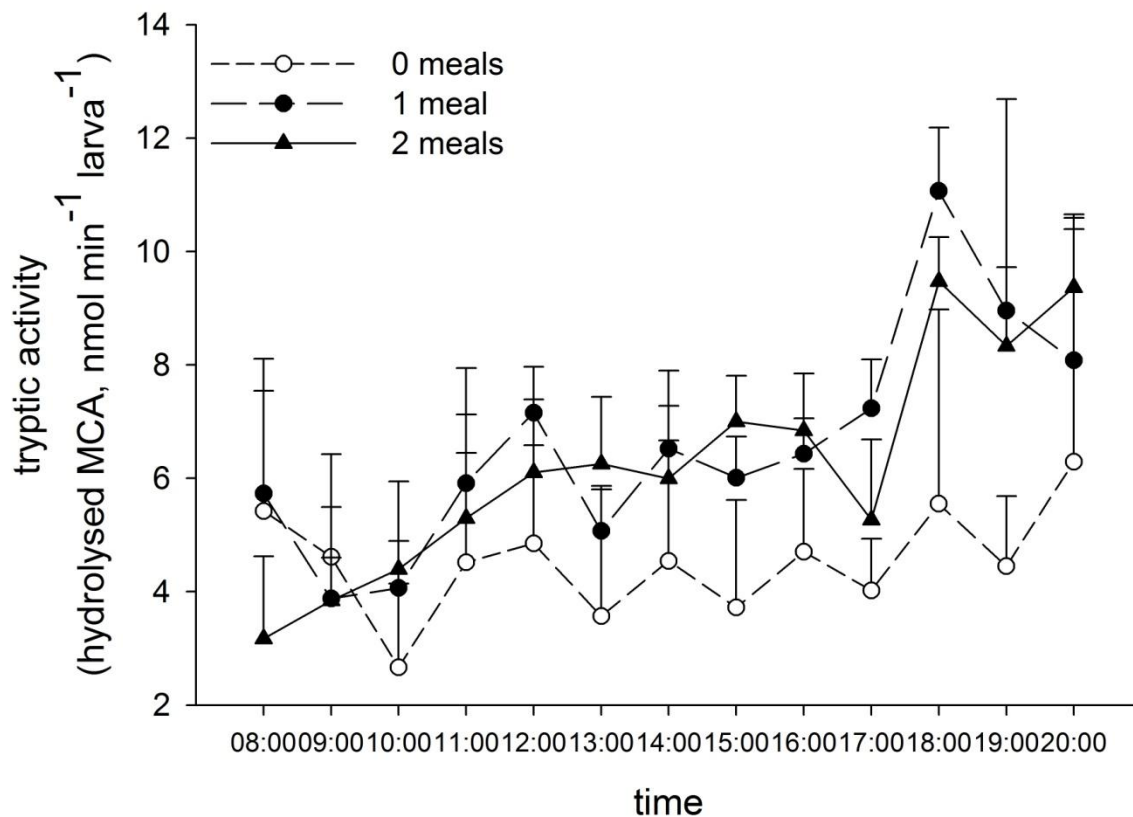


Abb. 4.1: Dynamik der Trypsinaktivität im Tagesverlauf bei 2-Wochen alten Dorschlarven. Drei verschiedene Bedingungen wurden untersucht: a) kein Futter, b) eine Futtergabe und c) zwei Futtergaben im Tagesverlauf. Die Unterschiede in der Trypsinaktivität sind besonders ausgeprägt zwischen den gefütterten und nicht gefütterten Gruppen.

Bei den ersten Injektionsversuchen mit Wolfsbarschlarven in 2010 war das Ziel, die Triggerwirkung des Hormons CCK und des Lectins PHA auf die Synthese bzw. Sezernierung von Trypsin zu untersuchen. Dazu wurden folgende Injektionsansätze getestet und deren Wirkung analysiert.

- (a) Kochsalzlösung als Kontrolle
- (b) PHA (0,003% Frischmasse)
- (c) PHA (0,012% Frischmasse)

sowie

- (a) Kochsalzlösung als Kontrolle,
- (b) CCK (0,1143ng/mg Frischmasse),
- (c) CCK (0,3429ng/mg Frischmasse),
- (d) CCK (0,6858ng/mg Frischmasse).

Die Daten werden zurzeit statistisch ausgewertet und für eine Publikation vorbereitet.

Erreichung der Meilensteine

3.3.4 MicroDiets (*Herstellung, Futtermittelversuche, Messungen, Auswertung*), Meilenstein erreicht.

Erste orientierende Versuche mit kommerziellen Microdiets wurden 2010 an Wolfsbarschlarven durchgeführt und biochemische Parameter, Wachstum und Mortalitätsraten mit den Ergebnissen aus den klassischen Fütterungsschemata (Lebendfutterketten) verglichen. Die ersten Ergebnisse dazu wurden bereits im Jahresbericht von 2010 dargestellt. Diese ersten Pilotversuche wurden mit Microdiets der Firma Seagarden ASA (Norwegen) durchgeführt (Brand "MiniPro") die durch die Firma Kraeber in Deutschland vertrieben wurden. Zusammen mit dieser Firma waren die weiteren Versuche mit Microdiets geplant.

Inzwischen hat sich die Firma Kraeber aber aus dieser Sparte zurückgezogen und es musste ein neuer Kooperationspartner gesucht werden, der für das Projekt Microdiets mit definierten Zusatzstoffen herstellen kann. Mit der Nutreco-Tochter Skretting konnte der weltweit führende Produzent von Fischfutter für dieses Projekt als Kooperationspartner gewonnen werden (www.skretting.com). Die Firma Skretting hat bereits Microdiets im Portfolio (Brand "Gemma Micro") und hält verschiedene Patente für die Herstellung solcher Microdiets. Die Microdiets von Skretting werden in verschiedenen professionellen Aufzuchtanlagen eingesetzt (jedoch noch nicht als Erstfutter und mit immer noch deutlich geringerem Wachstum), und eignen sich gut als Ausgangsmaterial für die vorgesehenen Experimente zur Verbesserung der Futterqualität.

Die Aufgaben, die zur Erreichung des Meilensteins 3.3.4 durchzuführen waren, werden in diesem Bericht mit den Aufgaben für den im folgenden Teil behandelten Meilenstein 3.3.5 zusammengefasst.

Erreichung der Meilensteine

3.3.5 Experimente (Aufzucht mit Microdiets mit speziellen Zusatzstoffen, Vergleich mit Standard Lebendfuttermitteln, Aufnahmestimulation, Auswertung). Bis auf die abschliessende Auswertung dieser Versuche wurden die Meilensteine erreicht.

Ein wesentliches Ziel dieses Forschungsprojektes (TP 4) war es, die Verbesserung von Micro Diets voranzutreiben, um dem Ziel, ein standardisiertes Futtermittel für die gesamte Larvenphase von der Erstfütterung bis zur Metamorphose zur Verfügung stellen zu können. Ein solches Futtermittel sollte mindestens die mit den Lebendfuttermitteln erreichbaren Werte bei Wachstum und Überlebensrate erzielen. Dieses Ziel ist immer noch eine große Herausforderung, wird aber als ein Meilenstein beim Ausbau und Wirtschaftlichkeit der Fischproduktion in der Aquakultur gesehen. Dies gilt insbesondere für die kreislaufbasierte Aquakultur.

Eine wichtige Aufgabe in diesem Projekt war daher die semi-professionell Aufzucht einer Wolfsbarschlarvenkohorte und die Erprobung von Micro Diets mit Triggersubstanzen, die die Effizienz der Verdauungsprozesse bei Fischlarven erhöhen sollen. Dieser Meilenstein stand

daher am Ende dieses Projektes, um möglichst alle bis dahin erzielten Ergebnisse aus den Untersuchungen zur Verdauungseffizienz bei Fischlarven einfließen zu lassen.

Für diese Aufgabe wurden die Hälterungseinrichtungen modifiziert und an die speziellen Ansprüche von Wolfsbarschlarven (*Dicentrarchus labrax*) angepasst. Auch wenn die Larvenstadien von Wolfsbarschen als recht robust gelten, so sind in den ersten Lebensstagen einige Bedingungen strikt einzuhalten um die Mortalität gering zu halten und die Schwimmblasenbefüllung zu ermöglichen.

Die die Aufzucht von Wolfsbarschlarven ein besonderes Lichtregime erfordert, mussten, vor allem in den ersten Lebensstagen, äussere Lichtquellen bzw. Tageslicht ausgeschlossen werden. Dafür wurde rund um die Anlage lichtdichte, schwarze Folie angebracht (Abb. 4.2). Damit war die Hälterungsanlage optisch isoliert, so dass ein für diese Art optimales Lichtregime eingehalten werden konnte. Bis zum Beginn der ersten Fütterung werden Wolfsbarschlarven in kompletter Dunkelheit gehalten, danach, zu Fütterungsbeginn, wurde die Beleuchtung zunächst stark gedimmt.

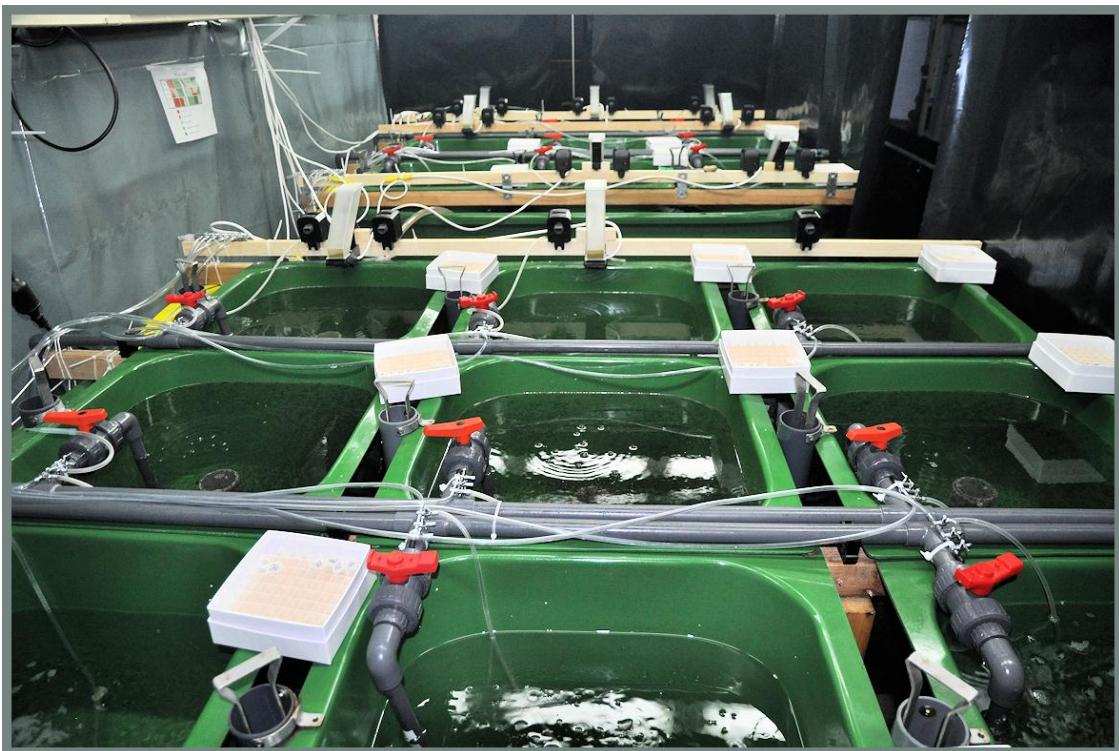


Abb. 4.2: Hälterungsanlage für die Wolfsbarschlarvenaufzucht. Gut zu erkennen ist die Umhüllung der Anlage mit schwarzer Folie. Das Photo wurde im bereits fortgeschrittenen verlauf der Aufzucht aufgenommen; daher ist die Beleuchtung bereits auf Tageslichtniveau eingestellt.

Entsprechend der Herkunft der frisch geschlüpften Larven aus der Aufzuchtanlage l'Ecloserie Marine de Gravelines an der französischen Atlantikküste in der Nähe von Gravelines mussten die Wolfsbarschlarven zumindest in den ersten Lebenswochen in vollsalinem

Wasser (35 psu) gehältert werden. Das verfügbare Salzwasser auf Ostseeneiveau (etwa 17 psu), wurde daher mit künstlichem Meersalz auf gesalzen. Dazu wurde kommerzielles Aquariumsalz genutzt, welches in zwei 500L Behältern mit Ostseewasser zu einer hochsalinen Lösung vermischt wurde. Diese Lösung wurde dann während des Versuchs täglich mit normalem Ostseewasser vermischt, um die gewünschte Salinität in den Larvenbecken einzustellen.

Um den Wolfsbarschlarven in der ersten Tagen das Schlucken einer Luftblase an der Grenzfläche Wasser/Luft zu ermöglichen, was zur Initialisierung der Schwimmblasenbildung essentiell ist, wurden in den Larvenbecken sogenannte „Surface Skimmer“ installiert, welche den Fett- bzw. Bakterienfilm („Kahmhaut“), der bei der Fütterung mit Lebend-, als auch mit Trockenfutter entsteht, von der Oberfläche entfernen können (Abb. 4.3). Diese „Skimmer“ bestanden aus Hartschaumringen mit einer Öffnung an einer Seite, an der ein Luftschlauch angebracht war. Die schräg zur Wasseroberfläche auftreffende Luft führt zu einem Einstrom des Oberflächenwassers durch die Öffnung in den Ring, wodurch der Fettfilm von der Wasseroberfläche abgetragen und in dem Ring aufkonzentriert wird. Die aufkonzentrierten, fettartigen Substanzen konnten dann täglich mit einem Haushaltstuch aus dem Ringinneren entfernt werden.

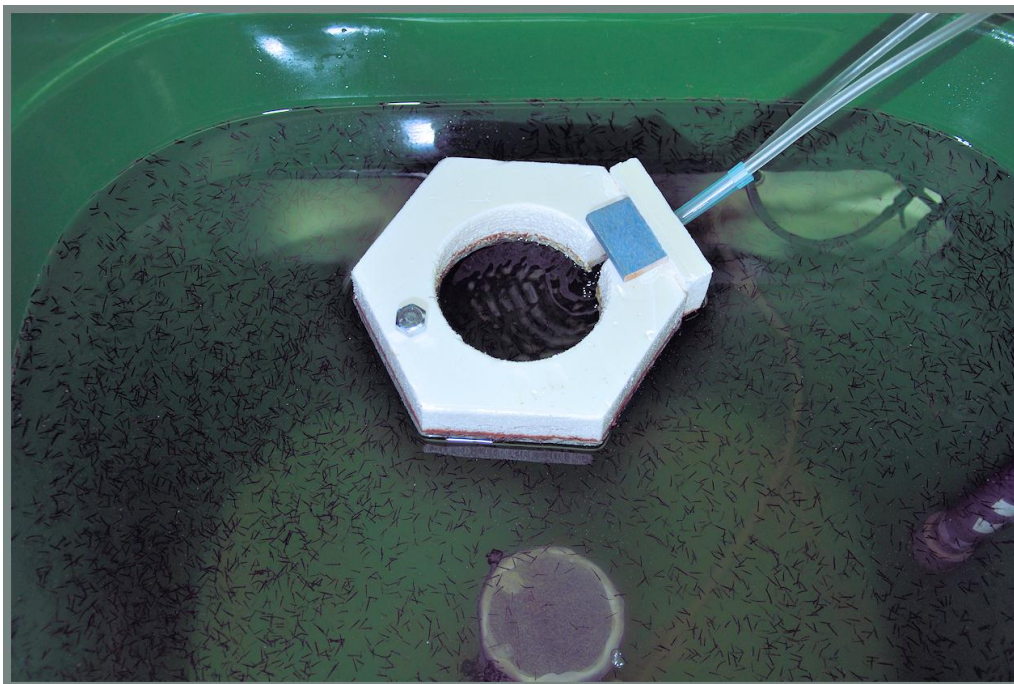


Abb. 4.3: Mit Druckluft betriebener Skimmer zur Reinigung der Wasseroberfläche in den Hälterungstanks von fettartigen Substanzen. Jedes Hälterungsbecken wurde mit einem Skimmer ausgerüstet. Die Skimmer wurden über einen Zeitraum von etwa 3 Wochen nach Fütterungsbeginn eingesetzt. Diese Skimmer sind eine Eigenentwicklung des Projektes und haben sich sehr bewährt.

Mit dieser Anordnung wurde eine effiziente Säuberung der Wasseroberfläche erreicht, so dass der Anteil von Wolfsbarschlarven mit einer intakten Schwimmblase etwa 80% betrug.

Eines der wichtigsten Ziele in diesem Versuch war es, die Standard Lebendfuttermittel (*Artemia Nauplien*) und mit Triggersubstanzen markierte Micro Diets hinsichtlich Wachstum und Überlebensrate zu vergleichen. Als Triggersubstanz wurde das Glykoprotein Phytohämagglutinin (PHA) ausgewählt, welches sich in vorangegangenen Experimenten als Trigger für das die Trypsinausschüttung regulierende Hormon CCK erwiesen hatte.

Die zugefügte Triggersubstanz hatte hier zum Ziel, die Enzymaktivität im Verdauungstrakt der Fischlarven zu erhöhen, um die Verdaulichkeit der angewendeten kommerziellen Mikrodiets zu verbessern (Abb. 4.4). Dafür wurde das PHA (Sigma-Aldrich, USA) als reines Produkt bei der Firma Skretting verschiedenen Chargen des von dieser Firma hergestellten Gemma-Micro in einer Konzentration von 0,001% und 0,002% (jeweils TG) zugesetzt. Von diesen markierten Micro Diets (wurden verschiedenen Grössen hergestellt (75 und 150 μ m). Diese wurden mit nicht markierten Micro Diets desselben Typs verglichen.



Abb. 4.4: Beispiele für verschiedene Micro Diets; ganz links die von Skretting hergestellten Micro Diets, die in diesen Versuchen verwendet wurden.

Die zu verfütternden Mengen an Micro Diets sind zu Beginn der Fütterungsperiode insgesamt sehr gering; allerdings müssen, im Gegensatz zur Fütterung mit lebenden Futterorganismen, sehr häufig kleine Futtergaben über den Tag verteilt verabreicht werden, da die Futterpartikel nicht lange in der Wassersäule verbleiben und von den Larven nicht vom Boden aufgenommen werden. So wurde zunächst „von Hand“ gefüttert, mit

Unterstützung von konventionellen Eheim-Futterautomaten aus der Aquaristik für die Abend- und Morgenstunden.

Im späteren Versuchsverlauf wurde ein professionelles Fütterungssystem welches speziell für die Verfütterung von Micro Diets entwickelt wurde, eingesetzt (AMD-System, Abb. 4.5). Die Futterautomaten werden hierbei über eine zentrale Steuereinheit individuell programmiert und gewährleisten in Häufigkeit und Dosis optimierte Fütterungsintervalle.

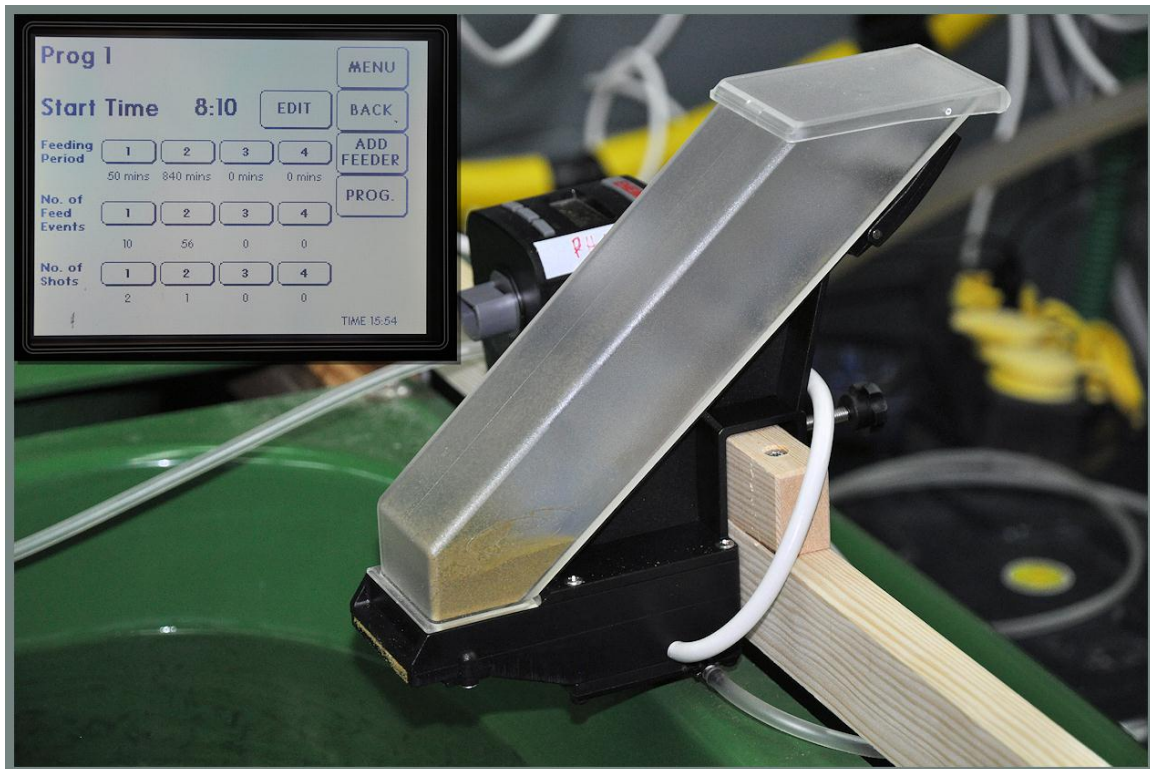


Abb. 4.5: Ein AMD-Futterautomat, befüllt mit Micro Diets (Gemma Micro von Skretting). Oben links beispielhaft das Display der Steuereinheit.

Nachdem die vorbereitenden Maßnahmen abgeschlossen waren, wurden am 6.7.2012 aus einer kommerziellen Brutanstalt für Wolfsbarsch in Frankreich (l'Écloserie Marine de Gravelines) ca. 200.000 frisch geschlüpfte Larven nach Kiel überführt. Diese waren am 4.7.2012 nach 4-tägiger Entwicklungszeit geschlüpft. Die fragilen Dottersacklarven wurden gleichmäßig auf alle Versuchsbecken verteilt, welche darauf mit Styroporplatten abgedeckt wurden. Diese sogenannte „französische Methode“ bewirkt durch die kompletter Dunkelheit eine geringere Aktivität der Larven und somit eine bessere Kondition nach Verbrauch des Dottersacks.

Der Zustand der Larven wurden täglich kontrolliert, bis zum 10.8.2012 (7 Tage nach Schlupf) wurde absolute Dunkelheit eingehalten. Insgesamt waren nur sehr geringe Sterblichkeiten in dieser Phase zu beobachten. Nach etwa 7 Tagen war die Absorption des Dottersacks fast

vollständig. Ebenso waren die Augen pigmentiert, sowie das Maul geöffnet und die Larven bereit für den Fütterungsbeginn.

Jeweils 3 Versuchsbecken wurden zufällig den folgenden Fütterungsbedingungen zugeordnet und nach dem folgenden Schema gefüttert.

- (a) Artemia
- (b) Artemia + Gemma-Micro
- (c) Gemma-Micro
- (d) Gemma-Micro inkl. 0,001% PHA
- (e) Gemma-Micro inkl. 0,002% PHA

Wolfsbarschlarven verfügen bei Beginn der Futteraufnahme über eine Maulgröße, die es erlaubt, sofort mit Artemia Nauplien zu füttern. Zu Beginn wurden spezielle, sehr kleine Artemien in 30‰ Salzwasser bei 30 °C in speziellen Brutcontainern unter einer starken Lichtquelle in ca. 20 Stunden erbrütet. Verfüttert wurden 3x täglich nur frischgeschlüpfte *Artemia* Nauplien, wobei die Artemiendichte in den Hälterungstanks im Versuchsverlauf stetig erhöht und damit dem steigenden Futterbedarf der Larven angepasst wurde. Nach ca. 20 Versuchstagen wurden größere, mit „Super Selco“ angereicherte Artemien verfüttert. Die Anreicherung hat das Ziel, den Proteingehalt, und vor allem den Gehalt an ungesättigten Fettsäuren der Artemien zu erhöhen.

Die Fütterungsgruppe „Artemien + Gemma-Micro“ wurde mit gleichen Mengen und zu gleichen Zeiten wie die Artemien-Gruppe gefüttert, zusätzlich jedoch 60 und 30 Minuten vorher mit Gemma-Micro gefüttert. Dieses „Co-feeding“ ist der erste Schritt um bei der Aufzucht den Bedarf an Lebendfutter zu verringern und dieses langsam durch Micro Diets zu ersetzen. Die ausschließlich mit Micro Diets gefütterten Gruppen wurden stündlich mit der jeweiligen Futtersorte gefüttert (siehe Schema oben) wie oben bereits beschrieben.

In alle Haltungsbecken wurde jeweils zweimal am Tag eine geringe Menge Mikroalgenkonzentrat zugegeben, welches u.a. den Kontrast zu Futterpartikeln erhöht („Green water“ Technik) und günstige biologische und mikrobiologische Verhältnisse unterstützt. Die tägliche Fütterungsperiode erstreckte sich von 9:00 und 23:00, wobei Licht zwischen 7:00 und 23:00 eingeschaltet war. Die täglichen Routinearbeiten bestanden im Wesentlichen aus dem Ablassen und der Neubefüllung der Puffertanks, dem Reinigen der Larvenbecken und dem Erfassen der Wasserparameter.

In unregelmäßigen Abständen wurden einiger Larven aus jedem Becken in einem Becherglas begutachtet, um die Futteraufnahme zu kontrollieren. Beprobt wurde täglich aus allen Becken vor der ersten täglichen Morgenfütterung. Dafür wurden ca. 10 Larven aus jedem Becken mit einer Einwegpipette gefangen und mit etwas Wasser in jeweils 1 Eppendorf-Cap überführt und unmittelbar danach tiefgefroren. Zusätzlich zu den gefütterten Larven wurden in regelmäßigen Abständen Larven in leere Becken überführt, ohne Zufütterung gehalten und an den darauffolgenden Tagen beprobt.

In einwöchigem Abstand, insgesamt 3x, wurden alle Becken von 6:00 bis 23:00 stündlich beprobt, um einen möglichen Effekt in Abhängigkeit von den verschiedenen Futtermitteln für Trypsin und CCK zu ermitteln. Zusätzlich zu den Fütterungsgruppen wurden jeweils aus einem Artemien- und einem Gemma-Micro-Becken Larven während der Beprobungszeit unter Futterentzug gehalten und ebenfalls Proben genommen. Ein Teil dieser Proben zum Tagesrhythmus wird zurzeit für die Anfertigung einer Bachelorarbeit ausgewertet.

Unterschiede im Wachstum zwischen den Fütterungsgruppen (Artemia – Micro Diets) waren relativ frühzeitig bereits optisch zu erkennen, wobei die mit Artemien gefütterten Larven besser wuchsen (Abb. 4.6).



Abb. 4.6: Mit Artemien (oben) und Gemma-Micro gefütterte Larve (unten). Der Größenunterschied zwischen den Futterregimen, die auf unterschiedlich schnelles Wachstum zurückzuführen sind, ist deutlich zu erkennen.

Der reguläre Versuch mit den verschiedenen Futtermitteln wurde am 3.8.2012 nach ca. 4 Wochen mit der Metamorphose der Larven beendet (Abb. 4.10).

Unmittelbar nach Beendigung des Versuchs wurde mit den Analysen für Trypsin und CCK begonnen. Dabei lag der Fokus auf der ontogenetischen Entwicklung von CCK und Trypsinaktivität (tägliche Probenahme), sowie der Dynamik dieser Parameter im Tagesverlauf. Die Larven wurden dafür aufgetaut (ca. 100 pro Labortag), die Standardlänge unter einem Binokular vermessen und der Darminhalt quantifiziert. Darauf folgend wurde bei den Larven individuell die Trypsinaktivität mit einer hochsensiblen Fluoreszenzmethode

analysiert. Die Laborarbeiten für die Trypsinmessung wurden 2012 abgeschlossen, die Arbeiten zur Analyse von CCK dauern noch an.

Exemplarisch werden im folgenden Abschnitt erste Ergebnisse aus den Futterexperimenten gezeigt.

Betrachtet man das Wachstum (Länge über Alter) so sind deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Futtermitteln erkennbar. Während die zwei mit Artemia Nauplien gefütterten Gruppen am schnellsten gewachsen sind, blieben die Trockenfuttergruppen im Wachstum zurück. Innerhalb der ausschließlich mit Micro Diets gefütterten Gruppen ist mit zunehmendem PHA Gehalt ein geringeres Wachstum festzustellen (Abb. 4.7).

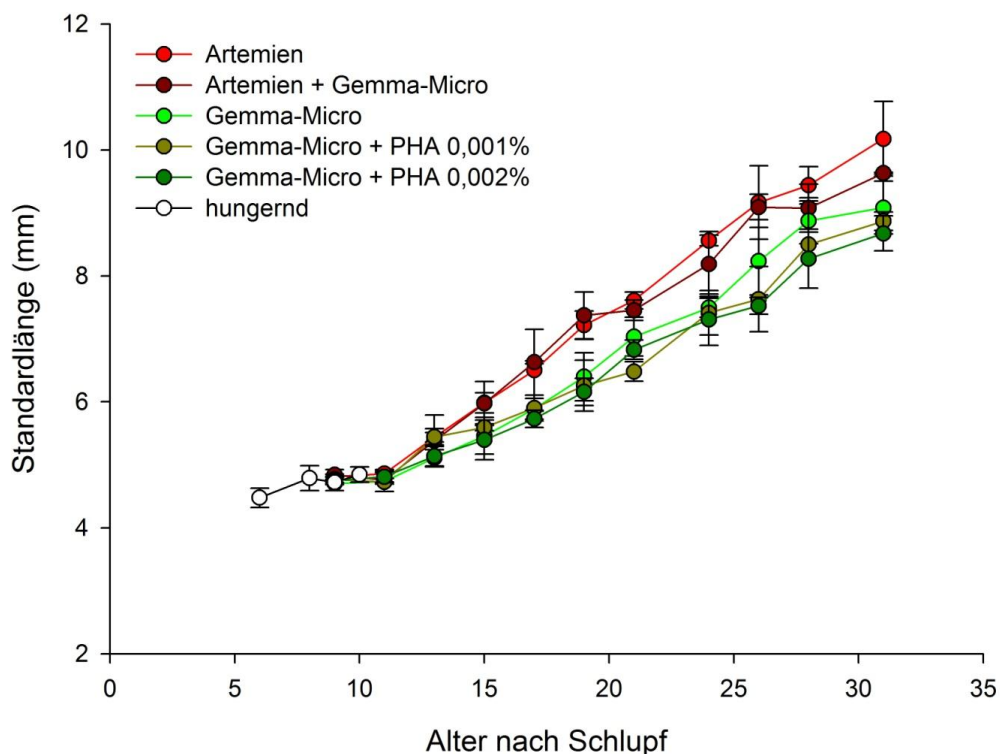


Abb. 4.7: Entwicklung von Länge über Alter (nach Schlupf) im Vergleich zwischen den verschiedenen Fütterungskonditionen bei allen Fütterungsgruppen (Mittelwert \pm Standardabweichung von jeweils 3 Becken).

Die feinskalige Wirkung der PHA Anreicherung im Vergleich mit dem Standardfutter zeigt ganz deutlich, dass es möglich ist, auch kleinste Mengen einer Triggersubstanz zuverlässig in Micro Diets einzuarbeiten und vor allem, dass diese Substanzen dann auch aufgenommen und im Darm der Larven bioverfügbar sind. Diese Erkenntnis ist überaus wichtig für die weitere Verbesserung von Micro Diets mit Spurenelementen bzw. Triggersubstanzen.

Da die absolute Trypsinaktivität in Fischlarven abhängig vom jeweiligen individuellen Entwicklungszustand ist, ist es wichtig für die Vergleichbarkeit, die Trypsinaktivität auf die

Länge zu normieren und nicht dasselbe Alter zu vergleichen. Die Abb. 4.8 zeigt, dass die Trypsinaktivität bei den mit Micro Diets gefütterten Gruppen höher ist als bei den Lebendfuttergruppen, mit Ausnahme der höchsten PHA Konzentration, die etwa auf dem Niveau der mit Artemia Nauplien gefütterten Gruppen liegt.

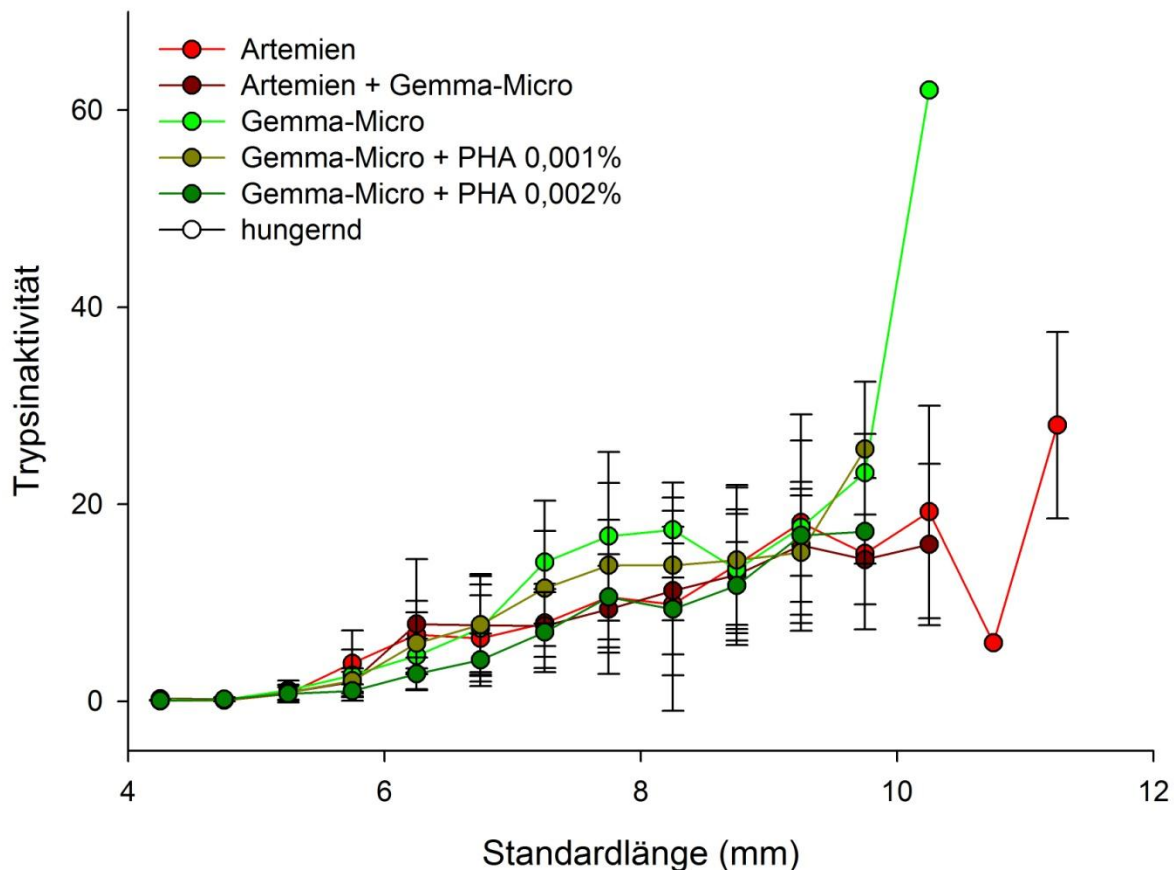


Abb. 4.8: Entwicklung der Trypsinaktivität aller Fütterungsgruppen über die Standardlänge (Mittelwert \pm Standardabweichung von jeweils 3 Becken). Die mit Micro Diets gefütterten Gruppen zeigen eine tendenziell höhere Trypsinaktivität bei gleichem Entwicklungsstand.

Aus der Beobachtung der Trypsinaktivität im Tagesverlauf werden wertvolle Rückschlüsse auf die Verdauungsenzymkapazität erwartet. Unterschiedlich alte Larven einer Art werden auch über unterschiedliche Verdauungsenzymkapazitäten verfügen, so dass eine Anpassung der Futtermenge und Häufigkeit sinnvoll ist. Da es zu diesem Themenbereich in der Literatur wenige Erkenntnisse gibt, wurden in diesem Projekt auch Untersuchungen zum Tagesrhythmus bei verschiedenen alten Wolfsbarschlarven durchgeführt. Der Verlauf der Trypsinaktivität aller Gruppen zeigte einen Anstieg während des Tages in allen gefütterten Gruppen, wobei die Aktivitäten in den Lebendfuttergruppen tendenziell höher waren im Vergleich mit den ausschließlich mit Micro Diets gefütterten Gruppen. Wie zu erwarten war, lagen die Trypsinaktivitäten der Kontrollgruppen, die nicht mit Futter versorgt wurden, besonders am Ende des Tages am niedrigsten (Abb. 4.9).

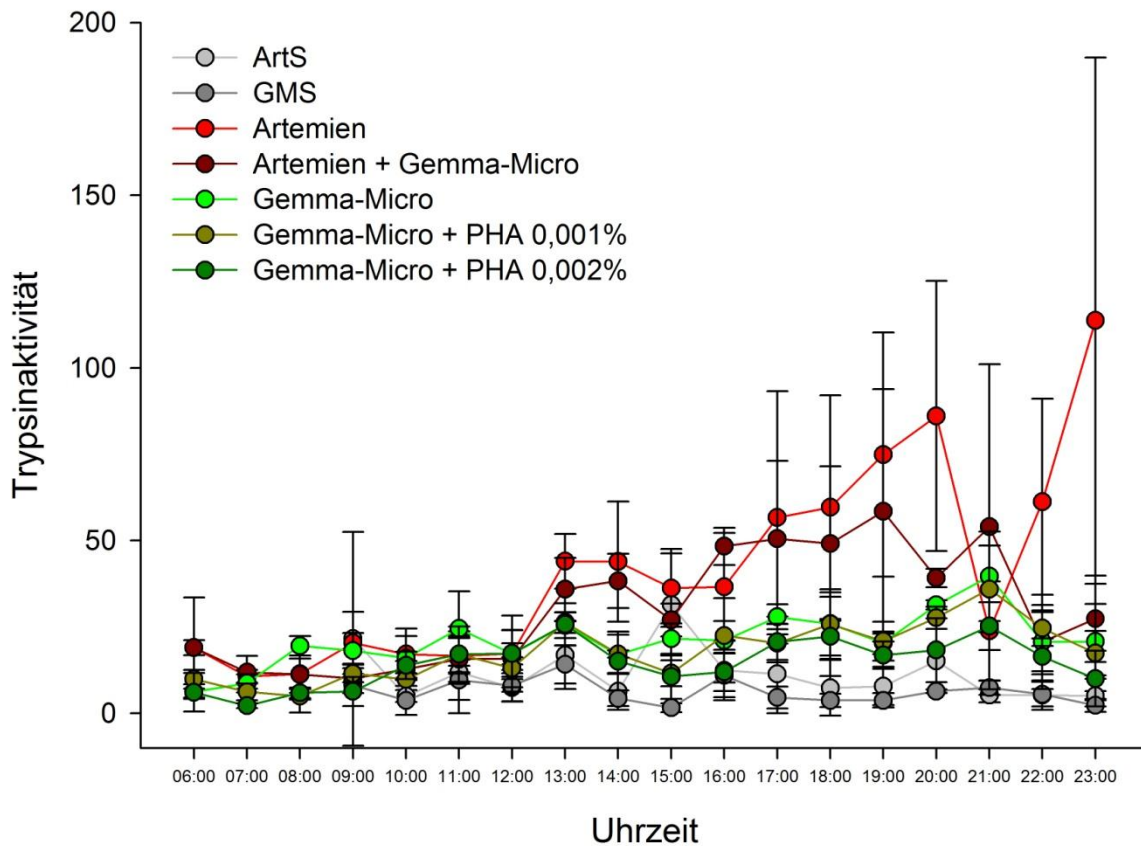


Abb. 4.9: Tagesverlauf der Trypsinaktivität aller Fütterungsgruppen (Mittelwert \pm Standardabweichung von jeweils 3 Becken). Die mit Lebendfutter versorgten Gruppen zeigten einen ausgeprägteren Rhythmus bei der Trypsinaktivität.

Mit dem derzeitigen Kenntnisstand bei der Auswertung der Messungen an den Wolfsbarschlarven sind diese Unterschiede noch nicht vollständig interpretierbar, hierzu sind die Ergebnisse der CCK Messungen abzuwarten, die derzeit berechnet werden.

Erreichung der Meilensteine

3.3.6 Auswertung (Zwischenberichte, Abschlussbericht, Publikationen). Meilenstein teilweise erreicht.

Mit diesem 3. Tätigkeitsbericht für das Jahr 2012 ist die Sachstandsberichtspflicht für das Teilprojekt 4 an den Mittelgeber erfüllt.

Ein Teil der Resultate aus diesem Projekt wurde inzwischen in Form von Manuskripten angefertigt und zur Veröffentlichung vorbereitet oder eingereicht. Hierzu sind im folgenden Abschnitt einige detaillierte Angaben zu finden.



Abb. 4.10: Wolfsbarsche nach der Metamorphose am Ende der Experimente in TP 4

Erreichung der Meilensteine

Website, Kooperation. Meilensteine erreicht.

Die NEMO Projektpartner standen stets in engem Kontakt mit den Mitarbeitern der GMA und den Mitarbeitern an der Agrarfakultät der Universität Kiel (Lehrstuhl für Aquakultur). In regelmäßigen gemeinsamen Treffen werden Projektfortschritte und allgemein wissenschaftliche Erfahrungen und aquakulturrelevante Visionen ausgetauscht.

Die NEMO Website (www.nemo.ph) wurde Anfang 2011 eingerichtet um generell das NEMO Projekt zu präsentieren sowie über die Projektziele der einzelnen Teilprojekte zu informieren und stets über die aktuellen Fortschritte in den Teilprojekten zu berichten (Abb. 4.11). Die Site wird technisch und redaktionell vom Teilprojektleiter Dr. B. Ueberschär betreut; soweit aus den einzelnen Teilprojekten in 2012 neue Beiträge zur Verfügung standen, wurden diese online gestellt. Im Downloadbereich stehen verschiedene Ressourcen zur Verfügung, neben Fachvorträgen auch unter anderem eine allgemeinverständliche Präsentation des NEMO Projektes für externe Zwecke. Eine weitere Pflege der NEMO Webpage wird wegen fehlender Mittel nicht erfolgen, in Kürze wird auf der Website auf diesen Umstand hingewiesen.

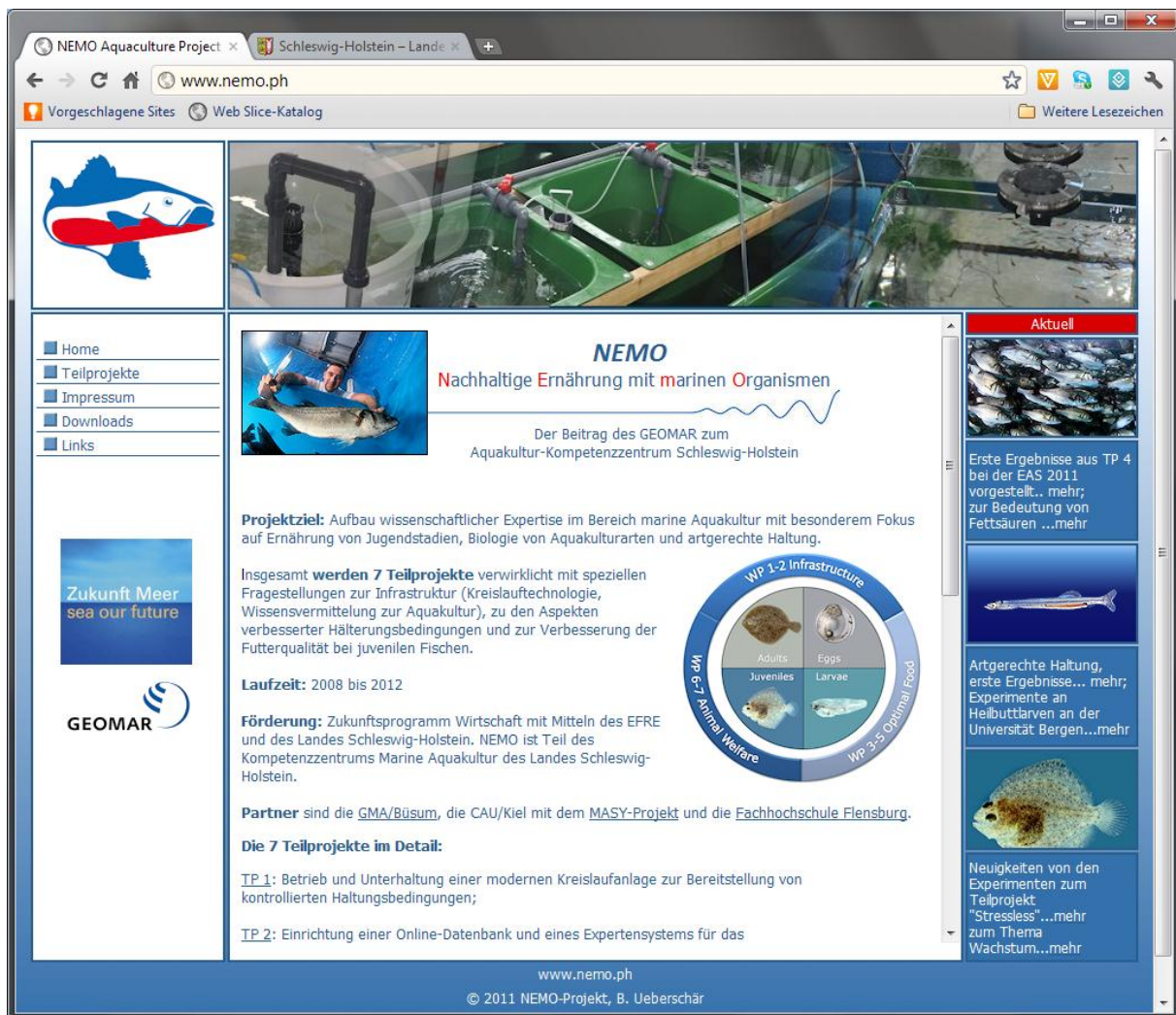


Abb. 4.11: Die aktuelle Homepage der NEMO Website, www.nemo.ph

Arbeitsplan und Meilensteine

Auf der folgenden Seite ist der Arbeitsplan für TP 4 abgebildet mit der Darstellung der durchgeführten Aufgaben und der jeweils erreichten Meilensteine. Alle Meilensteine wurden, bis auf die noch anzufertigenden Publikationen, erreicht.



Teilprojekt TP4																																																												
Aktivität (grau)/ Meilenstein (schwarz)	2008												2009												2010												2011												2012											
Monat	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
Laufender Projektmonat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54						
3.3.1 Vorbereitung Arbeitsplan, Aufbau Versuchsanlage, Laboraufbau																																																												
3.3.2 AuzuchVersuche Mikroinjektion, Messungen, Auswertung																																																												
3.3.3 Lebendfutter- anreicherung, Vergleich Futterorganismen, Auswertung																																																												
3.3.4 MicroDiets, Herstellung, Futtermittelversuche, Messungen, Auswertung																																																												
3.3.5 Experimente Aufnahmestimulation, Auswertung																																																												
3.3.6 Auswertung, Zwischenberichte, Abschlussbericht, Publikationen																																																												
Kooperation, Website																																																												

Entwicklungsstand des Teilprojektes 5:

„Entwicklung eines Genexpressionsanalyse-Verfahrens zur Bestimmung von ernährungs- und haltungsbedingtem Stress bei Steinbutt und Dorsch“

Kurztitel: Stressless (TL: Prof. Thorsten Reusch, Prof. Reinhold Hanel, Doktorand Bernd Hermann)

Zusammenfassung des Themas

Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es, mittels differenzieller Genexpressionsanalyse ein einfaches und kostengünstiges Verfahren zur Erfassung des physiologischen Zustandes wichtiger Zuchtfisch-Arten zu entwickeln. Dabei sollen die Auswirkungen von unterschiedlichen Futtermitteln sowie haltungsbedingtem Stress auf die Expressionsstärke von Indikatorgenen erfasst und quantifiziert werden. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen einen wesentlichen Beitrag zur Beurteilung der Auswirkungen von Futterqualität und Futtermittelförderung sowie der Gestaltung von Hälterungsanlagen auf den Gesundheitszustand der Fische leisten und damit sowohl zu einer Optimierung in Hinblick auf Wachstumsleistung und Futtereffizienz als auch zu Fragen des Tierschutzes, wichtigen in der Matrix des Kompetenzzentrums vorgegebenen Forschungsschwerpunkten, beitragen.

Durch das Monitoring des physiologischen Zustandes der Zielarten können Prozessabläufe hinsichtlich Futterqualität und Hälterungsbedingungen nicht nur besser eingeschätzt und weitere Prozessschritte optimiert werden, sondern es lassen sich auch wertvolle Erkenntnisse zur physiologischen Bandbreite von Stresstoleranz und damit zur Zuchtselktion erwarten. Die Messung des physiologischen Zustandes auf RNA-Ebene ermöglicht, unabhängig von art- und geschlechtsspezifischem Verhalten, gezielte Untersuchungen zum Einfluss von Einzelfaktoren auf Nutzfische verschiedener Entwicklungsstadien. Die Entwicklung eines Genexpressionsanalyse-Verfahrens zur Bestimmung von ernährungs- und haltungsbedingtem Stress soll damit einen wesentlichen Beitrag zur Objektivierung von Versuchsergebnissen liefern.

Meilensteine

Neue Technologie – Verbesserte Analyse

Neue technologische Entwicklungen auf dem Gebiet der Transkriptom-Forschung erlaubten uns im letzten Jahr des TP 5 den Datendurchsatz und somit die Aussagekraft der Genexpressions-Analysen deutlich zu verbessern. Mit Hilfe des BioMark™ HD Systems (FLUIDIGM®) können gegenüber der klassischen RT-qPCR, bei gleichen Kosten ein vielfaches an Proben und Genen in deutlich kürzerer Zeit gemessen und analysiert werden. Aufgrund dessen wurden im ersten Drittel des vergangenen Jahres weitere Assays für die Messung potentieller Ziel-Gene entwickelt und etabliert. Das Set an Genen von Interesse (**GOIs** = engl. „genes of interest“) wurde daher auf über 45 erweitert. Wir sind nun in der Lage, nicht nur Änderungen in der Expressionsrate von Stress-assoziierten Genen im Steinbutt zu messen, sondern auch alle wichtigen physiologischen Prozesse im Fisch durch die Analyse repräsentativer GOIs abzudecken. Darunter fallen Gene, die in somatisches

Wachstum, Immunabwehr, zelluläre Homöostase sowie den Lipid- Aminosäuren und Kohlenhydrat-Stoffwechsel involviert sind.

Im Zuge dieser Möglichkeiten wurden nicht nur die Proben des abschließenden Versuchs (siehe unten) mit dieser neuen Technik untersucht, sondern auch die Proben der vorangegangenen Experimente neu bearbeitet und ausgewertet.

Chronischer Stress im Steinbutt

Im Sommer 2012 wurde, in Kooperation mit Herrn Kevin Stiller und Prof. Dr. Carsten Schulz von der Gesellschaft für Marine Aquakultur (GMA), der Einfluss eines chronischen Stressors auf juvenile Steinbutte untersucht. Tiere aus Aquakulturbeständen (A/S Maximus, Dänemark) wurden für die Dauer von 12 Wochen einer moderaten (15000 ppm, 25mg/l), beziehungsweise hohen Kohlenstoff-Dioxid Konzentration 25000 ppm, 42 mg/l) ausgesetzt. Eine weitere Gruppe wurde unter regulären Bedingungen gehalten (>5 mg/l) und fungierte somit als Kontrolle.

Nach Sauerstoff gilt CO₂ (neben dem pH Wert des Wassers) als einer der limitierenden Faktoren in der Aufzucht von sowohl marinen- als auch Süßwasserfischen. Hohe Kohlenstoffdioxid-Konzentrationen können dabei vor allem bei hohen Besatzdichten (wie im Steinbutt üblich) und/oder vorübergehender mangelnder Versorgung mit sauerstoffreichem Wasser entstehen. Dabei wirkt die Erhöhung der CO₂ Konzentration direkt und indirekt auf das Tier. Indirekt, da durch einen Anstieg der CO₂-Konzentration im Wasser andere Parameter wie etwa der pH-Wert beeinflusst werden. Direkt, da es durch eine erhöhte Aufnahme über die Kiemenoberfläche zu einem Anstiegs des pCO₂ Wertes im Blut (=Hyperkapnie) kommt. Daraus resultieren unter anderem eine Reduktion des Plasma pH-Wertes was wiederum die Sauerstoff-Transportkapazität des Blutes vermindert. Weiter Folgen sind Hyperventilation und erhöhte Adrenalin-Ausschüttung (Fivelstad 2012). Vor allem letzteres weist auf die Auslösung einer Stress-Reaktion hin.

Nach Versuchsende wurden, neben der Erfassung wichtiger physiologischer Parameter wie etwa der Wachstumsrate oder allgemeinen Kondition, Kiemen-Proben für eine anschließende Genexpressions-Analyse entnommen. Bereits die physiologischen Daten lassen darauf schließen, dass vor allem Steinbutte unter hohen CO₂-Konzentrationen deutlich mehr Aufwand betreiben mussten, um grundlegende physiologische Prozesse am Laufen zu halten (Abb.5.1).

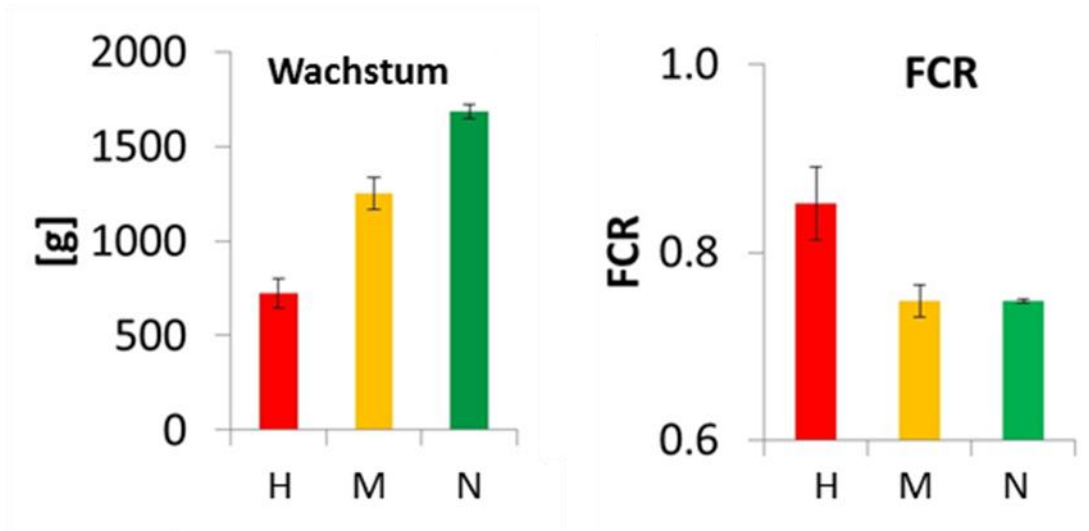


Abb. 5.1: Wachstumsrate (=Zunahme an Gewicht) und Nahrungsverwertungseffizienz (FRC = food conversion efficiency) nach zwölf-wöchiger Hälterung von juvenilen Steinbutt bei verschiedenen Kohlenstoff-Dioxid Konzentrationen. Rot = hohe CO₂ Konzentration, Gelb = moderate CO₂ Konzentration, Grün = niedrige CO₂ Konzentration (= Kontrolle).

Für den Versuch stand das von der GMA konstruierte Durchfluss-Respirometer zur Verfügung (Abb. 5.2, Stiller et al. 2013). Es erlaubt die Manipulation und Messung wichtiger Wasserwerte (CO₂, O₂, NH₃, pH) mit sehr hoher Präzision. Die Möglichkeit, ansonsten schwankungsanfällige Parameter über einen langen Zeitraum konstant zu halten, macht diese Studie besonders wertvoll für die Untersuchung von chronischem Stress auf molekularer Ebene. Gerade Genexpressions-Daten leiden oftmals unter einer hohen Varianz, da die Transkripte von Genen in der Regel durch eine Vielzahl verschiedener Faktoren reguliert werden und daher, gerade mit zunehmender Experiment-Dauer, dazu tendieren zu streuen. Die Analyse der Kiemen aus diesem Versuch wird daher nicht nur zum ersten Mal die umfassende und vor allem akkurate Charakterisierung eines Transkriptoms nach einem Langzeit-Experiment erlauben, sondern möglicherweise auch die zuverlässige Identifizierung von möglichen Indikatorgenen für chronischen Stress ermöglichen.

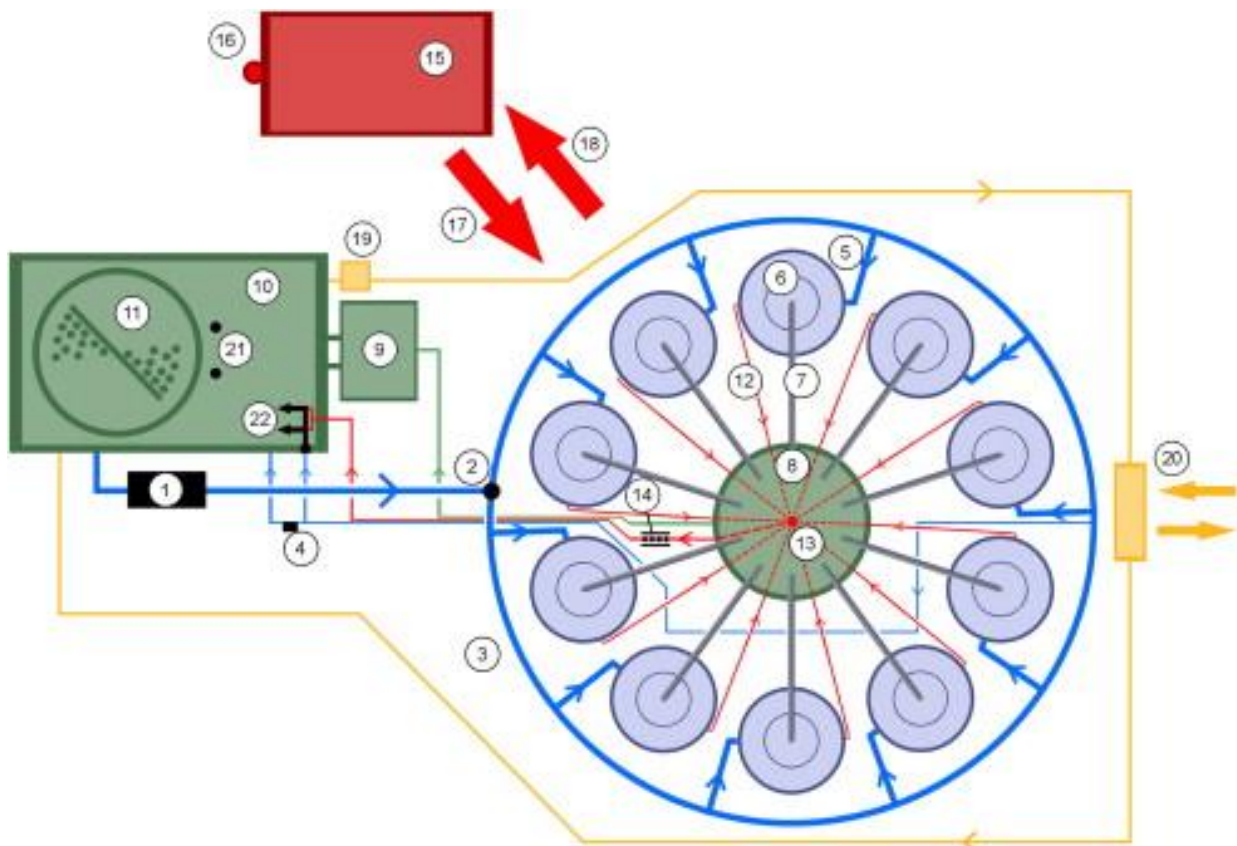


Abb. 5.2: Aus Stiller et al. 2013; Plan des Respirometer-Systems: (1) Kreislaufpumpe; (2) Manometer; (3) Wasserverteilungs-Netzwerk; (4) Überfluss-Ventil; (5) Zufluss; (6) Respirometrietank; und (7) Überlauf-linie; (8) Sediment-Filter; (9) Sedimentations-Tank; (10) Pumpensumpf; (11) Rieselfilter; (12) Metabolite-Beprobungs-Kreislauf des Tanks; (13) Richtungsventil; (14) Sensoren; (15) Online Kontroll-Einheit; (16) Haupt-Stromschalter; (17) Online Kontroll-Einheit; (18) Daten-Transfer; (19) Temperatur- Kreislaufpumpe; (20) Wärmetauscher; (21) Temperatur-Sensoren ; und (22) Wasser Düsen-Pumpen.

Tatsächlich weisen die Ergebnisse daraufhin, dass sich „klassische“ Stress-Gene wie etwa HSP70, HSP90 oder Cathepsin D nicht signifikant zwischen den experimentellen Gruppen unterscheiden, wohl aber Gene welche in die Synthese poly-ungesättigter Fettsäuren (PUFAs = engl. „poly unsaturated fatty acids“) oder der Immunabwehr involviert sind (für erstere Gruppe siehe Abb. 5.3). Diese Resultate implizieren das übliche mit Stress-assoziierte GOIs in ihrer Eignung als Biomarker zumindest für chronischen Stress nicht uneingeschränkt nutzbar sind. Darüber hinaus erlauben unsere Funde zum ersten Mal eine Korrelation von chronischem Stress (und den damit zusammenhängenden physiologischen Einschränkungen) mit anderen Klassen von Genen. So sind mit der Delta-Fettsäuren-Desaturase (DFAD) und dem Apolipoprotein E (alpE) gleich zwei wichtiger Vertreter des Fettsäurestoffwechsels bei hoher CO₂-Konzentration nach oben reguliert. Diese Ergebnisse lassen, im Kontext mit anderen physiologischen Daten, auf eine deutlich erhöhten Lipid-Stoffwechsel und damit erhöhten Energieumsatz schließen. Funde die mit dem allostatischen Modell für Stress (McEwen & Wingfield 2003) in Einklang stehen. Darüber

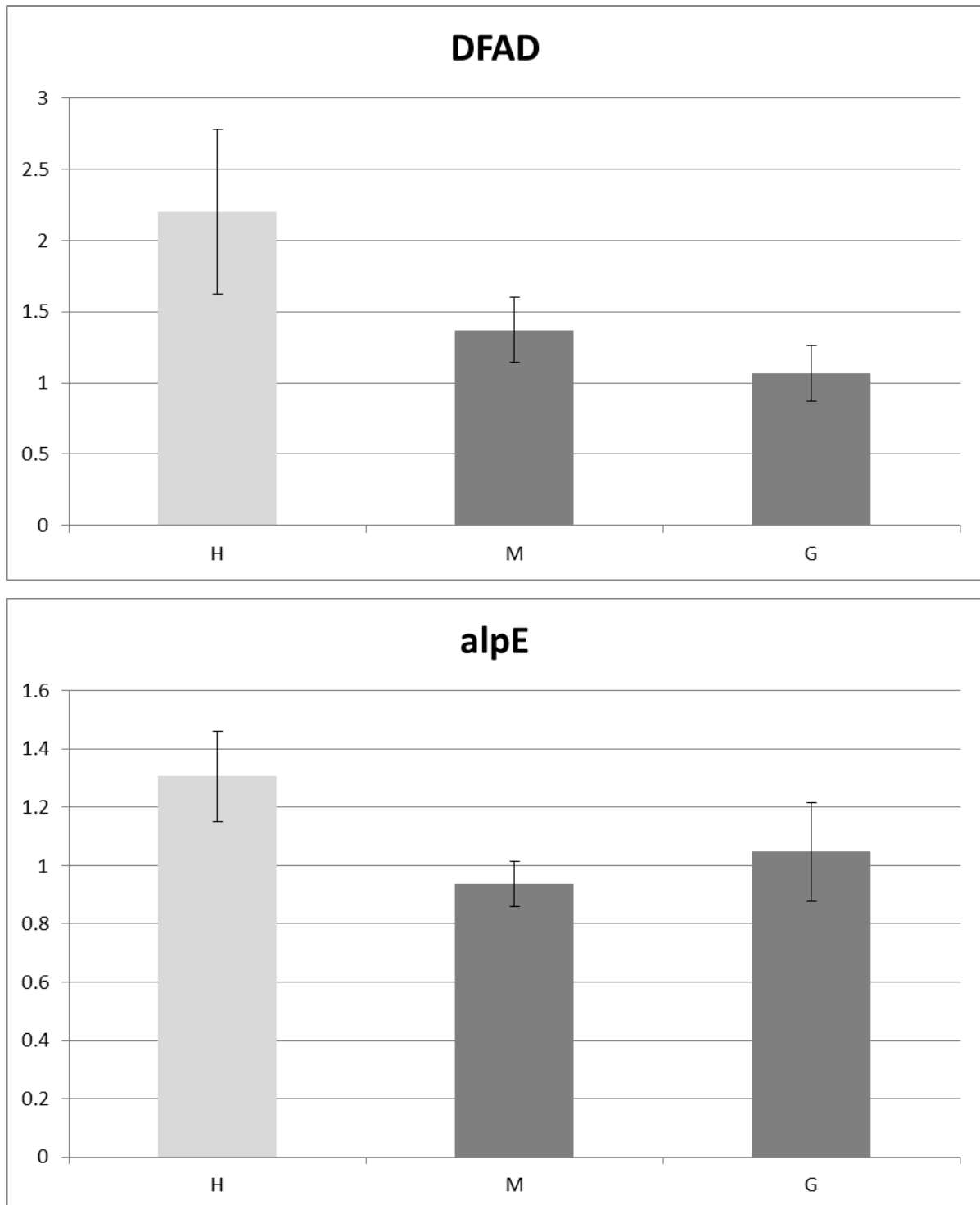


Abb. 5.3: Unterschiede in der Expressionsstärke zweier im Fettsäure-Stoffwechsel involvierter Gene aufgrund chronischer Exponierung an verschiedene CO₂-Konzentration, H (Hoch, 42 mg/l), M (Moderat, 25mg/l) und G (Gering, >5mg/l, entspricht optimalen Hälterungs-Bedingungen). Die Y-Achse zeigt die relative Expressions-stärke verglichen mit ausgewählten, in allen Gruppen gleichmäßig exprimierten Referenz-Genen. Oben: DFAD = Delta Fettsäure-Desaturase; Unten: alpE = Apolipoprotein E. Signifikante Unterschiede zwischen experimentellen Gruppen sind durch verschiedene Graustufen hervorgehoben.

hinaus sind mit GRIM19 und Interleukin-1 (IL-1) zwei Gene des Immunsystems betroffen. GRIM19 gilt vor allem als Zelltod-regulierendes Enzym während Interleukin-1 als Zytokin hauptsächlich mit der Induktion von Fieber assoziiert ist. Eine Zunahme der Expression dieser beiden Gene, unter erhöhter CO₂-Konzentration, kann auf eine bereits induzierte unspezifische Immunreaktion hinweisen. Jedoch sind hier noch die Untersuchungsergebnisse der entnommenen Blut- und Nierenproben abzuwarten.

Chronische Mangelernährung im Steinbutt

Auch ein früheres Experiment zur Untersuchung des Einflusses chronischer Mangelernährung wurde mit Hilfe des erweiterten Gen-Sets neu analysiert. In dem Versuch wurde der Einfluss von drei verschiedenen Futtermitteln auf juvenilen Steinbutt untersucht. Während eine Gruppe mit aus Fischmehl produzierten Pellets gefüttert wurde (= R0, Kontrolle), erhielten die anderen beiden Gruppen Nahrung, in denen das Fischmehl zu 33% bzw. 66% durch pflanzliche Bestandteile (Raps) ersetzt wurden (= R33 & R66). Obgleich pflanzliches Material aufgrund eines fast identischen Aminosäure-Profiles als guter Ersatz für Fischmehl gilt, beinhalten selbst aufgereinigte Produkte immer noch signifikante Mengen sogenannter ANFs (engl. „anti-nutritional factors“), welche die Bioverfügbarkeit von Phosphaten- und Aminosäuren aus der Nahrung drastisch reduzieren können. In Folge dessen gewinnen Fische aus den experimentellen Gruppen bei gleicher Nahrungsmenge weniger Energie und Nährstoffe als Fische in der Kontrollgruppe. Dies wiederum führt zu einer insgesamt verringerten Energie-Verfügbarkeit und kann, neben einer negativen Beeinflussung von Wachstum und Entwicklung, auch die Anfälligkeit für Stress erhöhen (Abb. 5.4, modifiziert von Romero et al. 2009).

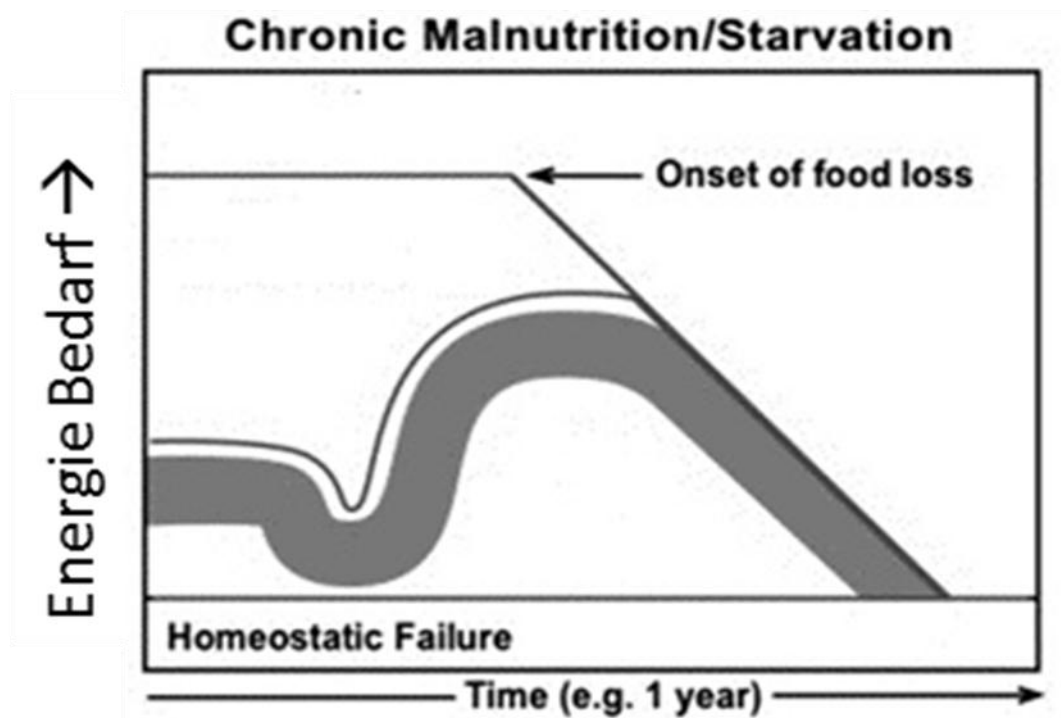


Abb. 5.4: Darstellung der Wirkung von Hunger oder chronischer Fehlernährung auf den Organismus unter Stress-relevanter Betrachtungsweise (nach Romero et al., 2009). Die obere Linie stellt den Betrag an Energie da, welcher dem Organismus für grundlegende lebenserhaltene Prozesse und tägliche Aktivitäten zur Verfügung stehen (in Form von Nahrung und körpereigenen Energie-Reserven). Fehlende Nahrung oder Nahrung mit verminderter Bioverfügbarkeit von Energie (wie etwa durch erhöhte ANF-Werte in der Nahrung), lassen diesen Betrag sinken bis der Bedarf an täglicher erforderlicher Energie (grauer Streifen) nicht mehr gedeckt werden kann und es zu Einschränkungen in diversen Prozessen (wie etwa Wachstum) kommt. Sinkt die verfügbare Energie unter einen bestimmten Wert (untere Linie) können nicht einmal mehr grundlegende lebenserhaltende Prozesse uneingeschränkt ausgeführt werden („Homeostatic Failure“) und der Organismus erleidet ernsthafte pathologische Schäden bis hin zum Tod.

Eine umfassende molekulare Charakterisierung von Leberproben mittels GenExpressions-Analyse ermöglichte uns den Einfluss chronischer Mangelernährung sowie eine mögliche erhöhte Stress-Anfälligkeit im Steinbutt zu untersuchen. Auch hier zeigte sich das erweiterte Set an GOIs als sehr nützlich. Erneut waren keine signifikanten Unterschiede in den Expressionsraten typischer Stress-assoziiierter Gene zu detektieren. Dafür zeigten Gene der Metaboliten-Regulation (vor allem des Fettsäure- und Eisenmetabolismus) eine Reaktion auf die chronische Fehlernährung (Abb. 5.5). Vor allem die verminderte Syntheserate an ungesättigten Fettsäuren ist ein starker Indikator dafür, dass betroffene Tiere keine neuen Energie-Reserven aufbauen. Ein Fund, der durch eine signifikante Verminderung der allgemeinen Kondition der R66 Tiere gegenüber den anderen beiden Gruppen untermauert wird.

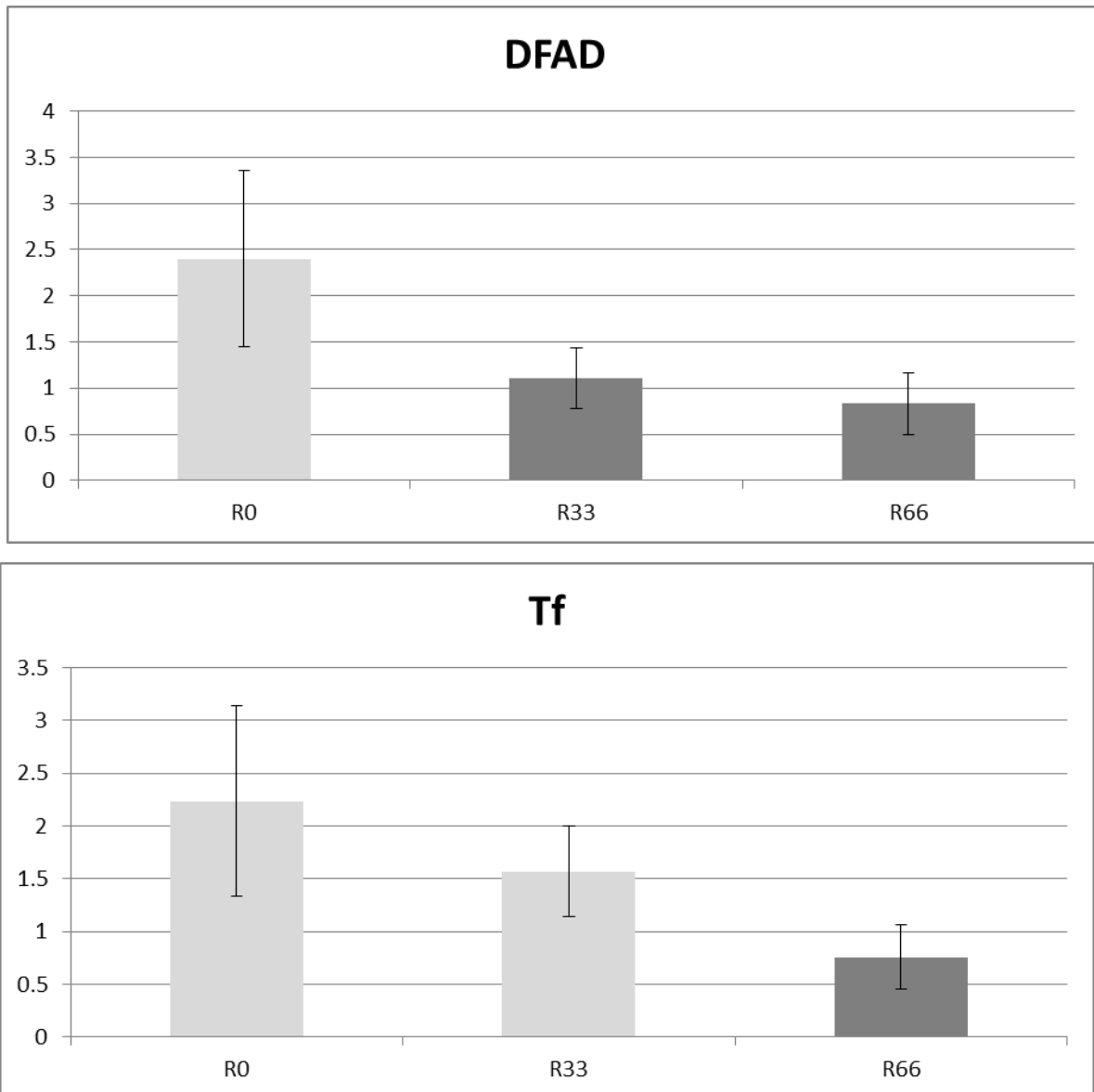


Abb. 5.5: Zwei der am stärksten betroffenen Gene. Die Y-Achse zeigt die relative Expressionsstärke verglichen mit ausgewählten, in allen Gruppen gleichmäßig exprimierten Referenz-Genen. Oben: DFAD = Delta Fettsäure-Desaturase; Unten: Tf = Transferrin. Signifikante Unterschiede zwischen Experimentellen Gruppen sind durch verschieden Graustufen hervorgehoben.

Zwar zeigen die Ergebnisse keine erhöhte Anfälligkeit für Stress *per se*, deuten jedoch tatsächlich auf eine Reduzierung der Energieverfügbarkeit aufgrund von Fehlernährung hin. Dies wiederum würde die Fähigkeit eines Individuums, auf plötzlich auftretenden Stress adäquat zu reagieren, vermindern.

Zusammenfassung und Ausblick

Die Auswertung beider Versuch mit dem neuen, umfassenderem Set an GOIs, hat den Erkenntnisgewinn aus dem TP5 deutlich erhöht. Unsere früheren Analysen wiesen bereits darauf hin, dass „klassische“ Stress-Gene lediglich in der Anfangsphase der Anpassung an sich ändernde Umweltbedingungen reagieren und somit eher als Indikatoren für eine reguläre Adaptation verstanden werden können. Bei chronischer Exponierung an einen Stressor wie etwa erhöhte CO₂ Werte oder Verminderung der Energiezufuhr wie etwa bei Fehlernährung scheinen sie, zumindest im Steinbutt, als Biomarker zur Identifizierung von schädlichen Einflüssen ungeeignet. Hingegen deuten unsere Ergebnisse auf eine Bedeutung des Fettsäure-Metabolismus in der Langzeit-Bewältigung schädlicher Umweltbedingung hin. Vor allem DFAD reagierte in beiden Langzeit-Experimenten mit einem deutlichen Signal. Weitere Experimente mit anderen Stressoren und auch anderen Fisch-Arten wären notwendig um dieses Gen als Biomarker für chronischen Stress zu verifizieren.

Die hier vorgestellten Ergebnisse sollen in internationalen Fachzeitschriften publiziert werden. Dabei befindet sich das Manuskript zur Chronischen Fehlernährung im Steinbutt in fortgeschrittenem Stadium. Darüber hinaus sollen die Resultate des TP5 auf internationalen Fachkonferenzen wie etwa der „Aquaculture Europe 2013“ vorgestellt werden.

Im Februar 2013 sollen abschließend auch die Proben des ersten Versuchs zur Untersuchung der zeitlichen Veränderung der Genexpressions-Profile in Folge eines sich plötzlich ändernden Umweltfaktors (Temperatur) mittels des BioMark™ HD Systems neu analysiert werden. Die Ergebnisse werden vor allem im Zusammenhang mit den anderen Studien weiteren Aufschluss über die Sensibilität diverser GOIs gegenüber potentiell Stress liefern und das in diesem Projekt untersuchte Muster komplettieren.

Literatur

- Fivelstad, S. (2012). Long-term carbon dioxide experiments with salmonids. *Aquacultural Engineering*, (0144). doi:10.1016/j.aquaeng.2012.11.006
- McEwen, B., & Wingfield, J. (2003). The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Hormones and behavior*, 43(1), 2–15. doi:10.1016/S0018-506X(02)00024-7
- Romero, L. M., Dickens, M. J., & Cyr, N. E. (2009). The Reactive Scope Model - a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. *Hormones and behavior*, 55(3), 375–89. doi:10.1016/j.yhbeh.2008.12.009
- Stiller, K. T., Moran, D., Vanselow, K. H., Marxen, K., Wuertz, S., & Schulz, C. (2013). A novel respirometer for online detection of metabolites in aquaculture research: Evaluation and first applications. *Aquacultural Engineering*, (2010). doi:10.1016/j.aquaeng.2013.01.004



Teilprojekt TP5																																	
Aktivität (grau)/ Meielstein (schwarz)	2010												2011												2012								
Monat	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Laufender Projektmonat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
Aufbau der Versuchsanlage, Beschaffung und Akklimatisierung von Versuchstieren	■	■	■	■	■	■	■	■																									
Versuch I: Untersuchung der Auswirkung von sich plötzlich ändernder Umweltfaktoren im Steinbutt (Planung, Durchführung, Probennahme)					■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■													
Gen Expression Assay Design I (Design & Entwicklung eines Grund-Sets aus Referenz Genen und Stress-relevanten GOIs , Tests auf Effizienz und Sensitivität)									■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■													
Genexpressions-Analyse von Proben aus Versuch zur chronische Mangelernährung im Steinbutt (Labor, Datenerhebung, Datenanalyse)																																	
Genexpressionsanalyse der Proben aus Versuch I (Labor, Datenerhebung, Datenanalyse)																																	
Gen Expression Assay Design II (Erweiterung des Grund-Sets um 33 GOIs, Tests auf Effizienz und Sensitivität)																																	
Versuch II: Untersuchung von chronischem Stress im Steinbutt (Planung, Durchführung, Probennahme)																																	
Genexpressionsanalyse "chronischer Stress" (Labor, Datenerhebung, Datenanalyse)																																	

Entwicklungsstand des Teilprojektes 6:

„Artgerechte Haltungsbedingungen für Fische in der kreislaufbasierten Aquakultur“

Kurztitel: Artgerechte Haltung (TL: Dr. Helmut Thetmeyer)

Zusammenfassung des Themas

In diesem Teilprojekt sollen geeignete Stressindikatoren identifiziert und erprobt werden, um die Haltungsbedingungen von Fischen in der kreislaufbasierten Aquakultur unter ethischen und wirtschaftliche Gesichtspunkten zu optimieren. *A priori* stehen als Einflussgrößen Besatzdichte, Fütterung, Sauerstoffpartialdruck, Beleuchtung, pH, gelöste Stickstoffverbindung und organische Belastung im Fokus. Als *Welfare*-Indikatoren sollen insbesondere Verhaltensmerkmale (z.B. Aktivität, Aggressionen, Verteilung), physiologische Reaktionen (Metabolismus, hormonelle Reaktionen), Gesundheit (Läsionen, Parasitierung, Kondition, Sterblichkeit) und Wachstum betrachtet werden. Nach einer aktuellen Studie an der Regenbogenforelle ist die im Haltungswasser messbare Cortisol-Konzentration (ausgeschieden vor allem über die Kiemen) ein besonders vielversprechender Stressindikator bei Fischen (Scott & Ellis 2006). Die Aussagekraft und Praxistauglichkeit der Cortisol-Ausscheidung als Stressindikator beim Steinbutt, unter Berücksichtigung von Kreislaufsystemen, soll geprüft werden. Umgekehrt soll in Zusammenarbeit mit TP 1 und TP 5 untersucht werden, ob im Haltungswasser gelöstes Cortisol eine Rückwirkung auf die Fische hat und wie die Cortisolkonzentration durch die Wasseraufbereitung im Kreislaufsystem beeinflusst werden kann. Die daraus resultierenden Forschungsergebnisse werden das Wissen zur Biologie der Zuchtorganismen speziell in dem Bereich von Haltung und Verhalten und damit den Kenntnisstand im Kompetenzzentrum in diesem Bereich der Matrix wesentlich erweitern.

Stand der Arbeiten

Die Ergebnisse zur artgerechten Haltung von Fischen in der kreislaufbasierten Aquakultur waren zum Großteil in 2011 abgeschlossen und sind im Sachstandsbericht 2011 ausführlich dargestellt worden. Hier werden nochmal auf die wichtigsten Ergebnisse hingewiesen und Ergänzungen eingefügt.

Haltungsbedingungen vs. Welfare Indikatoren

Da für die Versuche nur eine Kreislaufanlage mit einer zentralen Wasseraufbereitung zur Verfügung stand und wegen den Erfordernissen der Cortisol-Analytik der Durchfluss kaum variiert werden konnte, haben wir uns bei der Optimierung der Haltungsbedingungen auf Beleuchtung und Störungen durch Menschen konzentriert, da diese Parameter unabhängig vom Wasser sind. Wir haben Beleuchtungsstärken variiert, unterschiedliche Tag-Nacht-Wechsel verglichen und den Einfluss eines Sichtschutzes untersucht. Als Indikatoren wurden Bewegungsaktivität und die Cortisolkonzentration im Wasser getestet.

Unter den Versuchsbedingungen dieser Studie zeigten die Steinbutte nach allen untersuchten Kriterien – Anzahl schwimmender Fische, Schwimmstrecke und Anzahl der Fische mit stationären Bewegungen – einen eindeutig diurnalen Aktivitätsrhythmus. In einem Beobachtungszeitraum von 90 s schwammen nachts 72 % weniger Fische als am Tag. Nach dem künstlichen Tagesanbruch stieg die Bewegungsaktivität der Fische sprunghaft an und nahm nach bzw. während des Ausschaltens des Lichts wieder ab.

Die Messung des Cortisols im Wasser bestätigt die diurnale Rhythmik. Der Unterschied der Cortisol-Konzentration zwischen Fischtanks und Pumpensumpf (Delta Cortisol) war nach Mitternacht am niedrigsten. Bei der Messung um 1:00 Uhr wurden sogar negative Werte gemessen, das bedeutet in den Fischtanks war die Cortisol-Konzentration etwas niedriger als im Pumpensumpf. Auch beim abrupten Einschalten des Lichts am Morgen bestätigen die Cortisol-Messungen die tendenziell erhöhte Aktivität gegenüber der künstlichen Morgendämmerung.

Durch den Vergleich der Beleuchtung mit und ohne Dämmerungsphasen sollte untersucht werden, ob das abrupte Ein- und Ausschalten des Lichts, wie es in den meisten Aquakulturbetrieben üblich ist, die Fische erschreckt und zu einer erhöhten Aktivität anregt. Andererseits wäre vorstellbar, dass präadulte Steinbutte, als in der Natur vorwiegend piscivore Räuber, dämmerungsaktiv sind und einen bimodalen Aktivitätsrhythmus zeigen, mit Akrophasen während der Morgen- und Abenddämmerung. Die Ergebnisse der hier vorgestellten Experimente lieferten jedoch für keinen Tagesabschnitt signifikante Unterschiede zwischen den beiden Behandlungen. Es gibt keine Hinweise auf eine erhöhte Aktivität während den künstlichen Dämmerungsphasen und auch keinen Aktivitäts-Peak nach dem abrupten Ausschalten des Lichts. Lediglich zur Zeit des Tagesanbruchs wurde beim abrupten Lichtwechsel (Switch) tendenziell eine höhere Anzahl schwimmender Fische beobachtet als beim kontinuierlichen (Dimmer), die Signifikanzschwelle wurde beim einseitigen Test bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % nur knapp verfehlt. Beim Annehmen der Nullhypothese, dass die Art des Lichteinschaltens (Switch versus Dimmer) keinen Einfluss auf die Schwimmaktivität hat, bestünde daher eine sehr große Wahrscheinlichkeit eines Fehlers 2. Art (irrtümliche Annahme von H_0). Die Hypothese sollte deshalb mit einem größeren Stichprobenumfang nochmals überprüft werden, bevor zu einem Verzicht auf eine kontinuierliche Lichtregulierung bei der Haltung von Steinbutten geraten wird. Daher wurde noch ein komplettes Experiment zum Tagesgang der Cortisolkonzentration durchgeführt, mit Fokussierung der Beprobungszeiten auf die Morgendämmerung, um zu untersuchen, ob die Fische bei einem abrupten Einschalten des Lichts mehr Cortisol ausscheiden und mehr Schwimmaktivität zeigen als bei einer kontinuierlichen Erhöhung der Beleuchtungsstärke. Dazu sollten die Ergebnisse, wie sie im letzten Bericht vorgestellt wurden, für die Veröffentlichung statistisch besser abgesichert werden. Es wurden jeweils um 6:00, 7:00, 7:30, 8:00 und 12:00 Uhr Wasserproben genommen und das Verhalten aufgezeichnet. Die endgültige Auswertung ist noch nicht abgeschlossen.

Cortisol-Leaching aus Futterpellets

Steinbutte werden, wie die meisten anderen in moderner Aquakultur gehaltenen Fische, mit pelletiertem Futter ernährt. Dieses Futter enthält, neben pflanzlichen Bestandteilen, in der Regel auch Fischmehl und Fischöl. Da man davon ausgehen muss, dass diese tierischen Produkte, zumindest im frischen Zustand, Cortisol enthalten, wurden Experimente durchgeführt, um zu überprüfen, ob sich Cortisol aus dem Futter im Anlagenwasser löst. Dazu wurden Futterpellets mit einem Teesieb unterschiedlich lange in Seewasser eingetaucht (10 s, 1 min, 10 min, 1 h, 12 h, Kontrolle ohne Pellets bei $t=0$ und $t=12$ h) und gemessen wie stark dadurch die Cortisol-Konzentration im Wasser ansteigt. Die Betrachtung der Extinktionswerte aus der photometrischen Analyse zeigte eindeutig, dass die Cortisol-Konzentration im Seewasser mit der Anzahl der Pellets und der Dauer des Eintauchens positiv korreliert ist. Fütterungen verfälschen deshalb Cortisol-Messungen im Anlagenwasser. Im Verlauf von Cortisol-Experimente muß folglich auf eine Fütterung der Fische verzichtet werden.

Zusammenfassung

Zusammenfassend ziehen wir aus unseren Experimenten zur Wirkung von Cortisol in einer Kreislaufanlage die Schlussfolgerung, dass die Verwendung von Cortisol als Indikator in einer Kreislaufanlage problematischer ist als wir zu Projektbeginn vermutet haben. Während wir optimistisch sind, dass die analytischen Schwierigkeiten, insbesondere bedingt durch eine Vielzahl unbekannter gelöster Verbindungen im Kreislaufwasser, mit zunehmender Erfahrung beherrschbar sind, gibt es zwei grundsätzliche Probleme, die die Verwendung der Methode einschränken:

1. Bei den hohen Durchflusssgeschwindigkeiten, die in der intensiven Aquakultur angestrebt werden, sind die Unterschiede in der Cortisol-Konzentration zwischen Pumpensumpf (Zulauf) und Fischtank (Ablauf) sehr gering, sodass Unterschiede in der Cortisolausscheidung der Fische nicht mit hinreichender Genauigkeit gemessen werden können. Deshalb muss die Durchflusssgeschwindigkeit deutlich herabgesetzt werden, was negative Auswirkungen auf die Wasserqualität zur Folge hat und eine Belüftung innerhalb der Versuchstanks erforderlich macht.
2. Die tierischen Bestandteile des Fischfutters enthalten Cortisol, welches sich, wenn die Futterpellets nicht sofort gefressen werden, im Wasser löst und die Messungen verfälscht. Deshalb muss für Cortisol-Messungen im Anlagenwasser die Fütterung unterbrochen werden.

Entwicklungsstand des Teilprojektes 7:

„Wachstum bei Fischen unter Berücksichtigung von Gonadenreifung und Sauerstoffbedarf“

Kurztitel: Wachstum (TL: Dr. Rainer Froese, , Dr. Bernd Ueberschär, Kristina Neef)

Zusammenfassung des Themas

Fische wachsen zeitlebens und nähern sich dabei asymptotisch einer Maximalgröße an. Die Wachstumskurve hat einen Wendepunkt, nach dem das Wachstum abnimmt. Für die Ursache dieser Abnahme gibt es zwei Theorien, die in Experimenten mit untersucht werden sollen:

1) "Reproductive Drain Hypothesis": Wenn die Tiere beginnen sich fortzupflanzen, fehlt diese Energie dann für das Wachstum.

Unter absolut gleichen Bedingungen wird das Wachstum von verwandten Weibchen mit und ohne Fortpflanzung verfolgt. Wenn die Wachstumskurve der Weibchen ohne Fortpflanzung ebenso abflacht wie die der Weibchen mit Fortpflanzung (i.e., kein signifikanter Unterschied zwischen den Wachstumskurven), dann ist diese Hypothese widerlegt.

2) "Oxygen-is-Limiting Hypothesis": Die Kiemenoberfläche wächst langsamer als das Körpergewicht, Mangel an Sauerstoff begrenzt das Wachstum.

a) In parallelen Gruppen verwandter Fische wird nach dem Abflachen der Wachstumskurve eine Gruppe mit zusätzlichem Sauerstoff versorgt. Wenn dieses nicht zu erhöhtem Wachstum führt, ist diese Hypothese widerlegt.

b) Nach Abschluss des Experiments in a) wird die Normalgruppe, die dann ihre Maximalgröße erreicht hat, in zwei Gruppen unterteilt, wovon die eine erhöhten Sauerstoff bekommt. Wenn die Sauerstoffgruppe nicht erneut zu wachsen beginnt und eine größere Endgröße erreicht, ist die Hypothese widerlegt.

Ergebnisse aus den geplanten Experimenten haben einerseits grundlegenden Charakter und tragen damit generell zum besseren Verständnis der biologisch möglichen spezifischen Wachstumsleistungen von Fischen unter Aquakulturbedingungen bei. Hierzu können die geplanten Experimente zur Wachstumsleistung von Fischen wichtiges Grundlagenwissen beisteuern: a) zum Verständnis und zur Beeinflussung des Eintritts der Geschlechtsreife; und b) zum Zusammenhang zwischen Kiemenoberfläche und Wachstum.

Erreichung der Meilensteine

Die Datenaufnahme und Auswertung im Teilprojekt 7 sind seit Juli 2012 abgeschlossen.

Die Daten aus Versuchsreihe 1 und 2 wurden zusammen ausgewertet. Die „Reproductive-Drain-Hypothese“ konnte widerlegt werden und der positive Einfluss von erhöhter Sauerstoffsättigung auf das Wachstum der Fische wurde belegt. Die Ergebnisse werden demnächst veröffentlicht, es können Empfehlungen hinsichtlich einer optimalen Sauerstoffsättigung für die praktische Aquakultur ausgesprochen werden. Die erzielten Ergebnisse sind außerdem im Bereich der biologischen Grundlagenforschung von Bedeutung.

Kurzfassung der Ergebnisse

Eine Übersicht über die verschiedenen Versuchsansätze ist in Tab. 7.1 zusammengestellt. Für nähere Informationen wird auf die Sachstandsberichte 2010 und 2011 verwiesen.

Tab. 7.1. Übersicht über die durchgeführten Versuchsansätze

	Versuch 1: „Reproductive Drain“	Versuch 2: „erhöhter Sauerstoff und Reproductive Drain“
Versuchszeitraum	Juni 2010 – Januar 2011	Juni 2011 – Januar 2012
Gruppeneinteilung	„Mütter“ = M1-M4 „Jungfrauen“ = V1-V4	„Mütter“, Oxynormal = M5, M6 „Mütter“, Oxyplus = M7, M8 „Jungfrauen“, Oxynormal = V5, V6 „Jungfrauen“, Oxyplus = V7, V8

Beim Vergleich der Wachstumsparameter zwischen Fischen mit und ohne Fortpflanzung wird deutlich, dass „Mütter“ eine höhere Endgröße erreichen als „Jungfrauen“ (Abb. 7.1, Tab. 7.2), was in direktem Widerspruch zur „Reproductive-Drain-Hypothese“ steht.

Tab. 7.2: VBGF Parameter Abschätzungen, Standard Fehler und obere und untere Konfidenzbereiche für Mütter und Jungfrauen

Group	Parameter	Estimate	Std. Error	CI 2,5%	CI 97,5%
Mütter	Linf	63,446	1,153	61,181	65,711
	K	1,601	0,096	1,411	1,791
	t0	-0,157	0,017	-0,191	-0,124
Jungfrauen	Linf	57,397	0,590	56,236	58,557
	K	2,368	0,115	2,142	2,594
	t0	-0,082	0,013	-0,109	-0,055

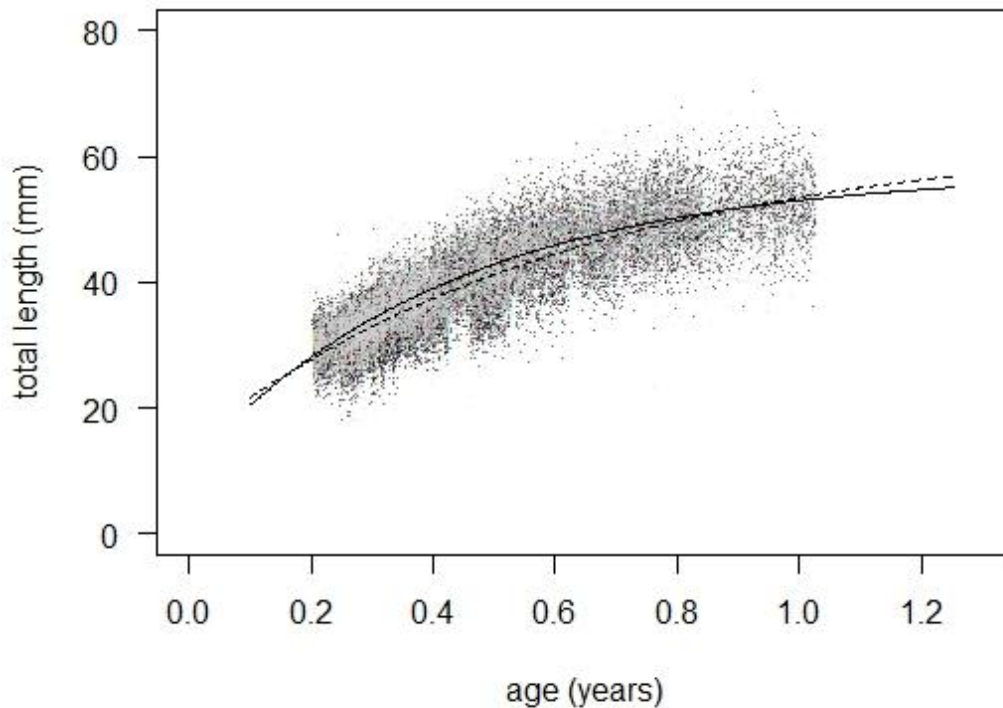


Abb. 7.1. Wachstumsvergleich von „Müttern“ (schwarze, gestrichelte Linie) und „Jungfrauen“ (graue durchgezogene Linie) von Experiment 1 und 2 kombiniert, mit VBGF (Von Bertalanffy Growth function) Anpassung.

Vergleicht man die Wachstumsparameter der Versuchsgruppen die unter erhöhter Sauerstoffsättigung lebten, mit den Gruppen bei normaler Sauerstoffzufuhr erkennt man ebenfalls eine höhere Endgröße bei der „oxyplus“ Gruppe. Dies entspricht der Oxygen-is-limiting-Hypothese, da die Tiere auf diesem Wege größere Mengen an Sauerstoff aufnehmen können ohne ihre Atmungsfrequenz steigern zu müssen (Abb. 7.2, Tab. 7.3).

Die Sauerstoffversuchsgruppen wurden des Weiteren wiederum in Mütter und Jungfrauen aufgeteilt um eine kausale Verbindung zwischen Sauerstoff und Fortpflanzungsregime zu untersuchen. Man erkennt dass vor allem „Mütter“ unter erhöhter Sauerstoffsättigung die besten Wachstumsraten (Abb. 7.4, Tab. 7.4) erzielen, da sie ihren erhöhten Energiebedarf durch die hohe O₂-Sättigung und erhöhte Futteraufnahme (Abb. 7.5) scheinbar mehr als ausgleichen können ohne die mittlere Atmungsfrequenz zu verändern (Abb. 7.3).

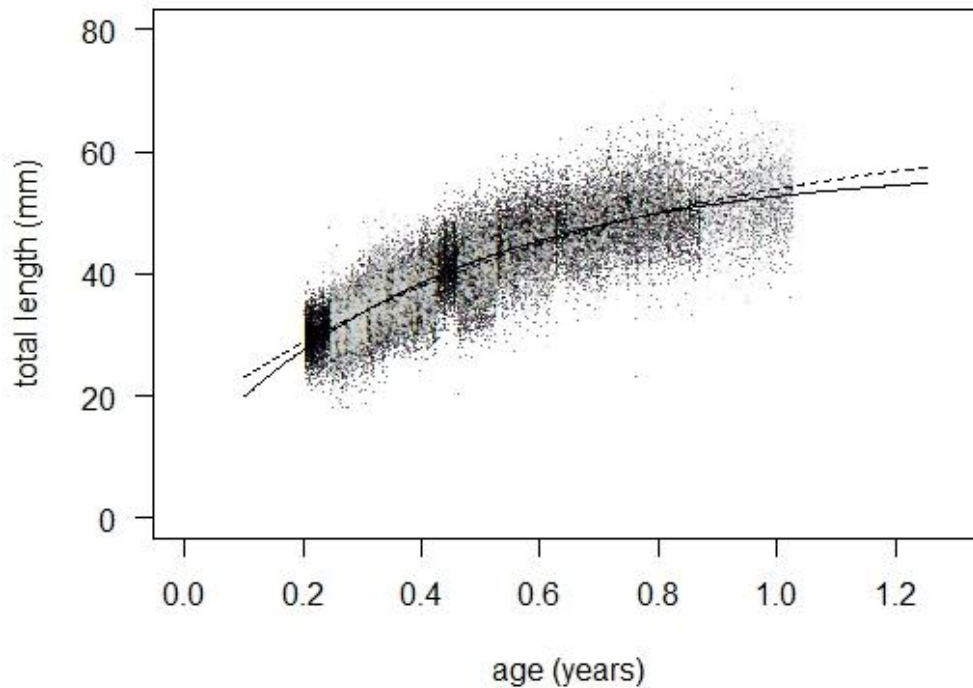


Abb. 7.2: Wachstumsvergleich der “Oxynorm” (schwarze durchgezogene Linie) und “Oxyplus” (graue gestrichelte Linie) von Experiment 1 und 2 kombiniert mit VBGF (Von Bertalanffy Growth function) Anpassung. “Oxynorm” Gruppen wurden bei 92% Sauerstoff Sättigung, “Oxyplus” Gruppen bei 127% Sauerstoff Sättigung gehältert.

Tab.7.3: VBGF Parameter Abschätzungen, Standard Fehler und obere und untere Konfidenzbereiche für Oxyplus und Oxynorm Behandlungen.

Group	Parameter	Estimate	Std. Error	CI 2,5%	CI 97,5%
Oxynorm	Linf	57,590	0,4591	56,688	58,492
	K	2,270	0,079	2,115	2,426
	t0	-0,086	0,009	-0,105	-0,068
Oxyplus	Linf	65,470	2,483	60,592	70,348
	K	1,446	0,176	1,100	1,792
	t0	-0,199	0,037	-0,272	-0,126

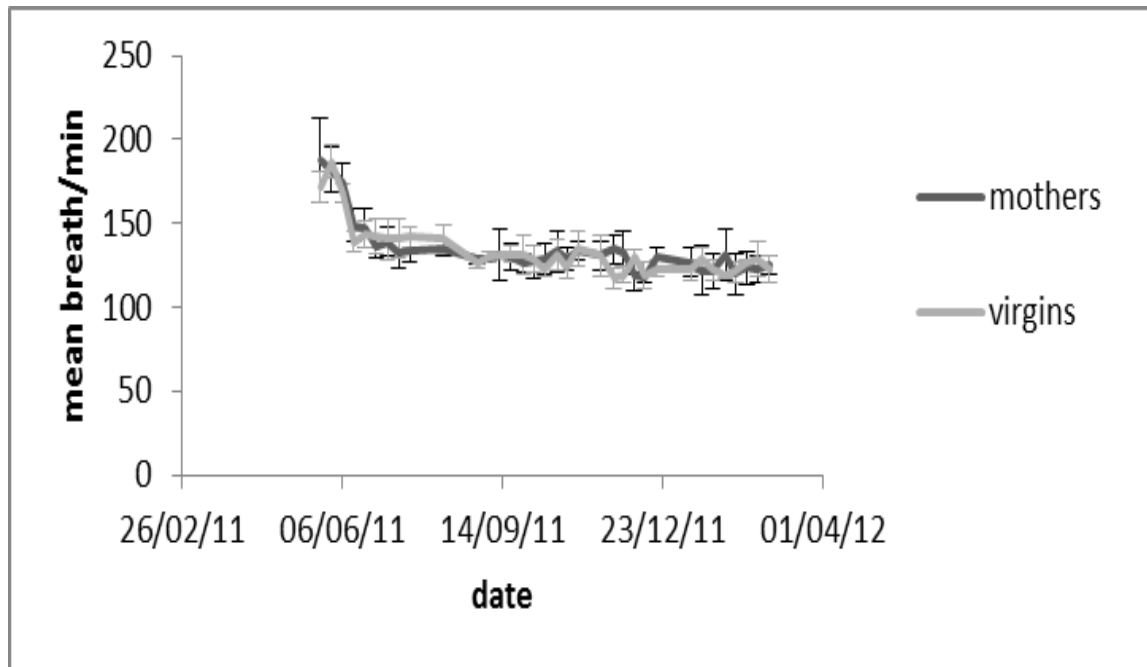


Abb. 7.3: Mittlere Atmungsfrequenz pro Minute und Standardabweichung für „Mütter“ (Schwarze Symbole) und „Jungfrauen“ (graue Symbole)

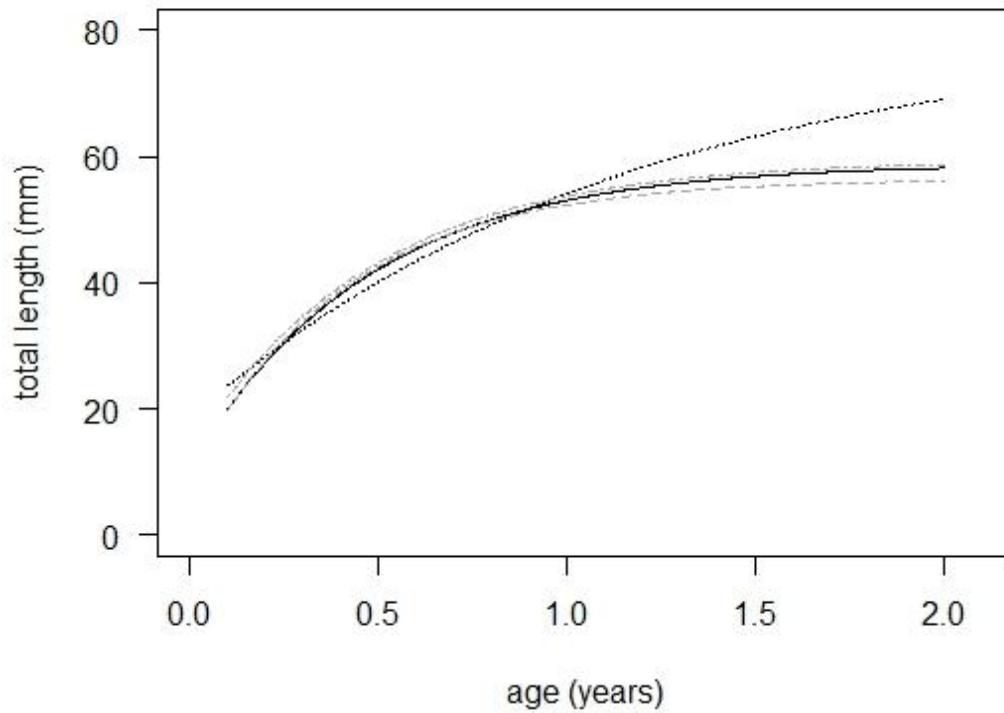


Abb. 7.4: VBGF Anpassungen für “Oxynorme Mütter” (durchgezogene schwarze Linie), “Oxyplus Mütter” (gestrichelte schwarze Linie), “Oxynorm Jungfrauen” (gestrichelte graue Linie) und “Oxyplus Jungfrauen” (Punkt-gestrichelte graue Linie)

Tab.7.4: VBGF Parameter Abschätzungen, Standard Fehler und obere und untere Konfidenzbereiche für alle Behandlungen

Group	Parameter	Estimate	Std. Error	CI 2,5%	CI 97,5%
Mütter	Linf	58,867	0,747	57,397	60,338
Oxynorm	K	2,113	0,109	1,898	2,327
	t0	-0,096	0,014	-0,123	-0,068
Mütter Oxyplus	Linf	79,888	8,214	63,709	96,065
	K	0,868	0,199	0,476	1,260
	t0	-0,304	0,062	-0,428	-0,181
Jungfrauen Oxynorm	Linf	56,459	0,555	55,367	57,552
	K	2,433	0,112	2,211	2,655
	t0	-0,076	0,013	-0,102	-0,051
Jungfrauen Oxyplus	Linf	59,464	1,672	56,169	62,758
	K	2,095	0,262	1,578	2,612
	t0	-0,118	0,038	-0,194	-0,043

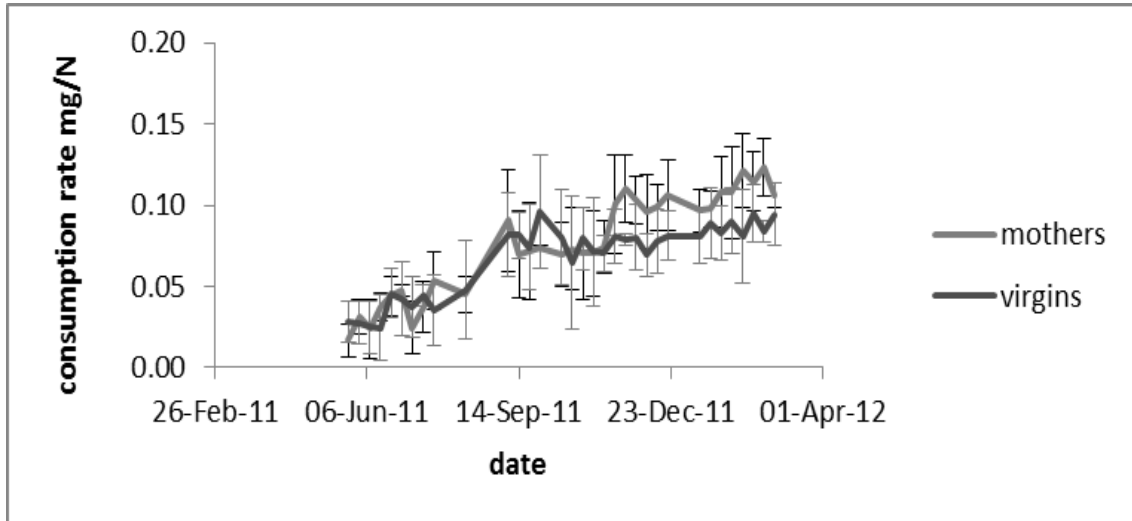


Abb. 7.5: Wöchentliche Nahrungsaufnahme im mg/ Fisch für Mütter (Graue Linien) und Jungfrauen (schwarze Linien)



Aktivitäten(grau) / Meilensteine (schwarz)	2010												2011												2012					
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6		
Monat	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6		
Laufender Projektmonat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
Planung und Aufbau der Versuchsanlage, Beschaffung von Versuchstieren	■	■	■																											
Versuch 1: "Reproductive Drain": Wachstum ohne/mit Fortpflanzung				■	■	■	■	■	■	■	■																			
Zusatzversuch: Wachstumsschub unter erhöhtem Sauerstoff												■	■																	
Datenauswertung "Reproductive Drain"											■	■	■																	
Versuchsplanung, Beschaffung von Zubehör und Versuchstieren												■	■	■	■															
Versuch 2: "Reproductive Drain" vs. "Oxygen is limiting"																■	■	■	■	■	■	■	■							
Datenauswertung, Bericht																							■	■	■	■	■	■		

Outreach:

Poster und Präsentationen:

Arndt, C., Moison, M., Sommer, U., 2011. Fish larval behaviour and energy demand - A matter of food source and supply method. Poster-Präsentation. EAS-Aqua 2012 Konferenz in Prag, Tschechien. 01. – 05.09.2012

B. Ueberschär & R. Tillner: Lebendfuttersysteme und Microdiets für die Larvenanfütterung. EuroTier 2012. *Fisch im Fokus! Aquakulturforum auf der EuroTier-Messe in Hannover.* Fachvortrag am 14.11.2012.

B. Ueberschär & R. Tillner: NEMO Teilprojekt 4 – Entwicklung von Micro Diets (künstliche Futtermittel kleinster Partikelgröße) als Ersatz für lebende Nahrung für frühe Lebensstadien mariner Fischarten. Poster beim 3. Büsumer Fischtag (07. Juni 2012 im mariCUBE, Büsum)

Publikationen:

Bi R., **Arndt C.**, **Sommer U.**, 2012. Stoichiometric responses of phytoplankton species to the interactive effect of nutrient supply ratios and growth rates. *Journal of Phycology*. 48, 539-549.

Arndt C., **Sommer U.**, 2013. Effect of algal species and concentration on development and fatty acid composition of two harpacticoid copepods, *Tisbe* sp. and *Tachidius discipes*, and a discussion about their suitability for marine fish larvae. *Accepted for publication in Aquaculture Nutrition*

Rønnestad I., M. Yúfera, **B. Ueberschär**, L. Ribeiro, Ø. Sæle, M. Izquierdo, C. Boglione (2012) Feeding behavior and digestion physiology in larval fish – current knowledge and gaps and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture* (2012) 4, 1–40 doi: 10.1111/raq.12010.

Tillner, R., Rønnestad, I., Harboe, T., **Ueberschär, B.** : Hormonal control of tryptic enzyme activity in Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*): involvement of cholecystinin during ontogeny and diurnal rhythm. Accepted for publication in „*Aquaculture*“.

Eingereichte Manuskripte oder Manuskripte in Vorbereitung:

Arndt, C., Moison, M., **Sommer, U.**, (subm.) Providing harpacticoid copepods via floating sieve improves fish larval feeding success. *Submitted to Aquaculture*

Arndt, C., **Sommer, U.**, **Ueberschär, B.** Evaluation of the suitability of benthic copepods as food for fish larvae and the potential digestibility of prey. (in Vorbereitung).

Froese, R., **Neef, K.** Refuting the Reproductive Drain Hypothesis. (in Vorbereitung).

Frommel, A.Y., Michael, K., **Hermann, B.T.**, **Clemmesen, C.**, Reusch, T., Lucassen, M. Differential gene expression patterns in response to ocean acidification in larvae of commercially important fish species, *Gadus morhua*. (In Vorbereitung)

Hermann, B.T, Hanel, R., Reusch, T.: Transcriptional regulation of the maintenance of Homeostasis under malnutrition in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). (In Vorbereitung)

Hermann, B.T., Stiller, K.T., Schulz, C., Hanel, R., Reusch, T.: Characterization of Allostatic Load via gene expression analysis in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). (In Vorbereitung)

Hermann, B.T, Hanel, R., Reusch, T.: Stress or Adaptation? Evaluating expression changes of stress-related genes in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) as response to a sudden temperature change. (In Vorbereitung)

Tillner, R., Rønnestad, I., Ueberschär, B. Hormonal control of tryptic enzyme activity in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae: involvement of cholecystokinin. (in Vorbereitung).

Ueberschär B., Drossou A., Tillner, R. Improvements in the efficiency and precision of a highly sensitive method to measure tryptic enzyme activities in fish larvae. (in Vorbereitung).

Examensarbeiten:

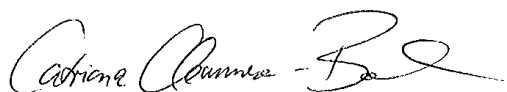
Arndt, C., 2013. Testing the suitability of harpacticoid copepods as food for marine fish larvae. PhD-Dissertation. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 115 pp.

Hermann, B. : Entwicklung eines Genexpressionsanalyse-Verfahrens zur Bestimmung von ernährungs- und haltungsbedingtem Stress im Steinbutt (*Scophthalmus maximus* L.). PhD-Dissertation, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, in Vorbereitung.

Tillner, R.: Hormonal control of tryptic enzyme activity in marine fish larvae, involvement of cholecystokinin and implications for microdiets. PhD-Dissertation, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, in Vorbereitung.

Gronemeier, M. Untersuchungen zum diurnalen Aktivitätsrhythmus des Steinbutts (*Scophthalmus maximus* L.) in Abhängigkeit von gediminten und ungediminten Tag/Nacht-Wechsel. Semesterarbeit GEOMAR, 18pp.

NEMO Homepage: www.nemo.ph



Bericht Editor
Dr. Catriona Clemmesen-Bockelmann
Projektkoordination NEMO
GEOMAR Helmholtz Zentrum für Ozeanforschung Kiel