

# Produktion af vandlopper til anvendelse ved opdræt af marin fiskeyngel



**Projektrapport  
Af Svend Steinfeldt**

Finansieret af Den Europæiske Unions Fiskerisektorprogram FIUF og Fødevareministeriet

Juli 2008

DTU Aqua-rapport nr. 201-08

ISBN 978-87-7481-092-6

**DTU Aqua**  
Institut for Akvatiske Ressourcer

---

## INDHOLDSFORTEGNELSE

<b>Akvakulturens udvikling.....</b>	<b>4</b>
<b>Produktion af yngel af marine arter i akvakultur .....</b>	<b>4</b>
<b>Perspektiver for intensiv yngelproduktion.....</b>	<b>4</b>
<b>Produktion af yngel i akvakultur. Eksempler på potentielle arter.....</b>	<b>5</b>
Marine varmtvandsfisk .....	5
Pighvar ( <i>Psetta maxima</i> ).....	5
Tunge ( <i>Solea solea</i> ).....	5
Europæisk havbars ( <i>Dicentratus labrax</i> ) og guldbrasen ( <i>Sparus aurata</i> ).....	5
Marine koldt vandsfisk .....	6
Torsk ( <i>Gadhus morhua</i> ).....	6
Havkat ( <i>Anarhichas lupus</i> ).....	6
Helleflynder ( <i>Hippoglossus hippoglossus</i> ).....	7
Rødspætte ( <i>Pleuronectes platessa</i> ).....	7
Ferskvandsfisk .....	7
Aborre ( <i>Perca fluviatilis</i> ) og sandart ( <i>Sander lucioperca</i> ) .....	7
<b>Metoder til produktion af fiskeyngel i ekstensive og intensive anlæg .....</b>	<b>7</b>
DTU's intensive yngelanlæg.....	8
Fiskelarver .....	8
Startfodring .....	9
Ernæring .....	9
Lipider.....	9
Proteiner .....	11
Anvendelse af forskellige typer foderdyr.....	11
<b>Opdræt af harpacticoide copepoder (Tisbe holothuriae) i intensive anlæg.....</b>	<b>12</b>
Tisbe holothuriae taxonomi og livscyklus.....	12
Ernæringsrelaterede forhold.....	15
Opdrætsrelaterede forhold.....	16
Intensivt opdræt af Tisbe holothuriae i bakkesystemer (enheder på under 5 liter) .....	17
Intensivt opdræt af Tisbe holothuriae i større systemer (enheder på over 5 liter) uden kontinuerligt vandskifte .....	19
Opdræt af Tisbe holothuriae i større systemer (enheder på over 5 liter) med kontinuerlig vandudskiftning .....	20
<b>Projektets produktionssystem .....</b>	<b>21</b>
Beskrivelse af produktionssystemet.....	21
Stamkultursystemet i bakker.....	21
Test af unikfilterets evne til at tilbageholde nauplier og copepoder .....	24
Drift af produktionssystemet .....	24
<b>Centrale resultater af projektets produktionsforsøg.....</b>	<b>26</b>
Anlæggets produktion af nauplier over en sammenhængende 4 måneders periode.....	26
Effekt af øget indfodring på nauplieproduktionen .....	29
Effekt af fodersupplement i form af fiskefoder.....	30
Effekt af rengøring af anlæg i ferskvand en gang ugentligt .....	31
Protozoer i produktionsanlægget .....	33
<b>Kvantificering af plankton med fokus på copepoder vha. optisk partikeltæller.....</b>	<b>35</b>
Oprensning af copdpoder vha sedimentation .....	40
Oprensning af copepoder vha. GF filter.....	43
<b>Fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer.....</b>	<b>43</b>
Fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer med periodisk vandskifte vha. hjælpestof .....	44
Fjernelse af hjuldyr fra copdpodkulturer dyrket vha. recirkulation .....	48
<b>Konklusion .....</b>	<b>49</b>

<b>Referencer .....</b>	<b>52</b>
<b>Apendix-oversigt</b>	
Appendix I .....	55
<i>Preben Kristensen 2006: Dokumentation af partikeltæller PSS 780 Accusizer's anvendelighed i forbindelse med tælling af mikroalger og zooplankton</i>	
Appendix II .....	55
<i>Henrik Skibsted Als Jørgensen, BSc rapport KU: Fedtsyresammensætning og vækst hos copepoden <i>Tisbe holothuriae</i></i>	
Appendix III.....	56
<i>Johan Nielsen, BSc rapport KU: Kemisk fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer</i>	

## **Akvakulturens udvikling**

Ifølge FAO udgør akvakultur i dag på verdensplan over 25 % af de samlede landinger fra fiskerisektoren. Landingerne fra det traditionelle fiskeri er faldende, hvorimod akvakulturerhvervets bidrag er steget fra 14 % i 1989 til 26 % i 1995. FAO forudsiger at denne stigning vil fortsætte fremover.

Akvakultur er på verdensplan i dag en af de hurtigst voksende industrier. Alene i Europa udgjorde førstehåndsværdien af fisk produceret i akvakultur i 2006 25 mia. kr. Hertil kommer skaldyrsopdræt med en værdi på over 6 mia. kr. I lande som Skotland og Norge spiller akvakultur en central rolle i nationaløkonomien. For Norges vedkommende er opdrætsslaks den vigtigste eksportvare efter olie. Nordmændene arbejder seriøst med at udvikle akvakultursektoren til en størrelsesorden, hvor den kan modsvare nedgangen i olieproduktionen i det kommende århundrede.

I Danmark findes et veletableret og betydeligt akvakulturerhverv. De tre vigtigste produktionsformer er ørredopdræt i ferskvandsdambrug, opdræt af ørred i havbrug og opdræt af ål i landbaserede recirkulerede ferskvandsanlæg. Førstehåndsværdien af denne produktion udgør omkring 1 mia. kroner. Dette er af samme størrelsesorden som værdien af det danske industrifiskeri og udgør over 20 % af førstehåndsværdien af det samlede danske fiskeri. Opdrættet fisk udgør i dag ca. 1/3 af de råvarer, der anvendes/oparbejdes til humant konsum og er således en meget væsentlig råvare for den danske fødevareresektor.

## **Produktion af yngel af marine arter i akvakultur**

Udviklingen af teknikker til produktion af marin fiskeyngel startede for over 20 år siden. Danmark har deltaget i denne udvikling og besidder derfor i dag en stor ekspertise indenfor området, og har flere aktive producenter af marin fiskeyngel. Produktionen er teknisk krævende idet yngel af marine arter kræver levende foder i form af planktonorganismer. Det er derfor nødvendigt at dyrke disse organismer sideløbende med fiskeyngelen. En stor del af den dansk producerede yngel eksporteres til udlandet som sættefisk til havdambrug. Næringsstoffabet ved yngelopdræt er, som følge af det lave foderforbrug, mindre end ved produktion af fisk til konsumstørrelse. Der er derfor muligheder for ekspansion af denne produktion indenfor den eksisterende miljølovgivning.

## **Perspektiver for intensiv yngelproduktion**

Danmark har med sine geografiske forhold og sin 'know-how' gode muligheder for at ekspandere sin produktion af sættefisk af marine arter.

Etablering af landbaserede anlæg der anvender recirkulationsteknologi indebærer høje investeringsomkostninger. De nuværende priser på laksefisk gør ikke produktion i intensive recirkulationsanlæg rentabel, men marine arter som pighvar og tunge vil med fordel kunne produceres i sådanne anlæg. Danmark har været med helt fremme i udvikling af recirkulationsteknologi til fiskeopdræt, primært til opdræt af ål i ferskvand, men teknikken anvendes også i dag til saltvandsbaseret opdræt.

Teknikken gør det muligt at placere fiskefarme på land og behandle udledningen på lige fod med andet spildevand. Disse systemers høje grad af kontrol med væsentlige parametre som temperatur, saltholdighed og lys giver høj grad af fleksibilitet.

Der er behov for en øget erhvervspolitisk opbakning til etablering af nye recirkulationssystemer til produktion af marine fisk, samt til en langsigtet forsknings- og udviklingsindsats til løsning af de

tekniske og biologiske problemstillinger i forbindelse med introduktion af nye marine arter i opdræt.

Fraværet af et hjemmemarked vanskeliggør yderligere yngelproducenternes markedsvilkår. Den nødvendige viden vedrørende seneste teknologi findes i Danmark og bør inddrages i en satsning på marint opdræt i Danmark.

Danmark har muligheden for at deltage i udviklingsarbejdet til produktion af yngel af nye arter. På kortere sigt vil kun arter med høje markedspriser være aktuelle, men udviklingen i fiskeriet og en stigende efterspørgsel efter fisk kan vise sig at gøre dyrkning af yngel af adskillige nye arter rentabel.

## **Produktion af yngel i akvakultur. Eksempler på potentielle arter**

### ***Marine varmtvandsfisk***

Marine varmtvandsfisk som pighvar, havbars og guldbrasen er velegnede til opdræt i landbaserede recirkulerede anlæg, idet de trives bedst ved de 18-23°C, som opnås i de fuldt recirkulerede anlæg. De fundamentale tekniske og biologiske problemer i forbindelse med opdræt af disse arter er løst og det er derfor i dag muligt at starte en produktion i fuld kommerciel skala.

### ***Pighvar (Psetta maxima)***

Der produceres p.t. årligt omkring en halv million pighvar sættefisk i Danmark. Fiskene eksporteres til sydeuropæiske konsumfiskeanlæg, eller afsættes til den marine fiskepleje, hvor de udsættes i danske farvande. Fiskene produceres ved den ekstensive metode. De ernæringsmæssige problemer i intensivt opdræt er løst og størstedelen af den europæiske produktion af pighvar sættefisk foregår i dag ved den intensive metode i det sydlige Europa. Frankrig er den største europæiske producent af pighvaryngel og producerede i 1998 2,5 millioner stk. yngel. I dag er produktionen det dobbelte. Der produceres i Europa omkring 9000 tons pighvar til konsum årligt med Spanien og Frankrig som største europæiske producenter. I Skandinavien produceres pighvar i Danmark og Norge.

Dansk opdræt af pighvar til konsumstørrelse har fundet sted, men blev nedprioriteret bl.a. til fordel for produktion af ål. Der er imidlertid ingen tekniske hindringer for produktion af pighvar. En kobling mellem den danske sættefiskeproduktion og et opdræt til konsumstørrelse er oplagt. En omlægning til intensiv sættefiskeproduktion vil gøre danske sættefisk konkurrencedygtige på det danske marked, idet transporten af levende sættefisk fra sydeuropæiske anlæg er bekostelig.

Pighvar er i dag nok den mest lovende art for et kommende dansk opdræt af marine fisk til konsumstørrelse.

### ***Tunge (Solea solea)***

Der har i Europa været udført et stort arbejde på udvikling af opdræt af tunge. Engelske og franske erfaringer har været gode, men dens relativt langsomme vækst har gjort den mindre attraktiv end pighvar. Yngelopdræt ( figur 1) er dog lettere for tunge end for pighvar. Fisken trives i recirkulerede anlæg og markedspriserne er høje. Som kommende opdrætsfisk i dansk akvakultur virker tunge lovende.

### ***Europæisk havbars (Dicentratus labrax) og guldbrasen (Sparus aurata)***

Europæisk havbars og guldbrasen er begge varmtvandsarter. Der produceres i Europa årligt omkring 200.000 tons af disse arter.

Yngelproduktion i kommerciel skala har fundet sted i Danmark til eksperimentelle formål. Der er ingen tekniske hindringer for en sådan produktion og den forekommer i dag i fuld industriel skala i Sydeuropa. Fiskene trives i landbaserede recirkulerede anlæg, men opdræt til konsumstørrelse i sådanne systemer er i dag ikke konkurrencedygtig med det i Middelhavet fremherskende opdræt i netbure.

En satsning på dansk yngelproduktion til eksport vil vanskeliggøres af prisen på transport af levende sættefisk gennem Europa.

### **Marine koldtvandsfisk**

Marine koldtvandsfisk som torsk, rødspætte, helleflynder og havkat trives alle ved lavere temperaturer end varmtvandsfiskene og er derfor fordelagtige at producere under danske klimatiske forhold. Generelt må det dog konstateres at omkostningerne ved produktion af nedenstående arter er relativt høje i relation til markedspriserne på fiskene. Markedspriserne svinger dog konstant og hvis eksempelvis priserne på marine koldtvandsfisk fordobles vil akvakultur blive aktuelt.

Metoderne til produktion af yngel og videre vækst af koldtvandsfisk til konsumstørrelse svarer i grove træk til metoderne som anvendes for de marine varmtvandsfisk. Dog er der for alle arters vedkommende tale om individuelle krav til fysisk/kemiske samt ernæringsmæssige forhold. Dette hindrer en direkte kopiering af produktionsmetoderne mellem arterne og nødvendiggør et forsknings- og udviklingsarbejde før hver ny art kan masseproduceres.

Alle de nævnte arters naturlige bestande er genstand for et traditionelt fiskeri. Dette kan være fordelagtigt i den indledende markedsføring, idet arterne er kendt af forbrugerne. Udnyttelse af muligheden for at producere særlige kvaliteter og levere på særlige tidspunkter kan øge efterspørgslen og gøre akvakulturerhvervet til et væsentligt fremtidigt supplement til det eksisterende fiskeri.

### **Torsk (*Gadhus morhua*)**

Interessen for produktion af torsk i akvakultur er stor. Norge og Skotland er absolut førende. Produktionen er dog stadig på pilotstadiet og eksempelvis producerede Norge i 1999 kun omkring 150.000 stk. torskeyngel ved ekstensive metoder. Der satses på at udvikle den intensive produktion, idet produktionen af torsk i norsk akvakultur er begrænset af mangelen på yngel trods flere års forskning. Der er stor interesse for at opdrætte torsk til konsumstørrelse, idet denne produktionsform svarer til den velkendte og særdeles succesfulde produktion af laks i netbure. Der er dog identificeret adskillige problemer i produktionsforløbet. Der ligger stadig et udviklingsarbejde forude, før torsk kan produceres på kommercielle vilkår. Markedet for torsk er stort og priserne derfor alt andet lige robuste for øget udbud. Dog vil fisk fra akvakultur være nødt til at konkurrere på markedet for højkvalitetsfisk. Dette marked er mindre og mere følsomt for kvantitetsændringer.

### **Havkat (*Anarhichas lupus*)**

Der er i Norge gennemført et betydeligt forsknings- og udviklingsarbejde på havkat. Det er i dag muligt at producere havkat fra æg til konsum. Havkat er krævende at dyrke. Moderfiskene kræver særligt lave temperaturer for at udvikle æg af acceptabel kvalitet. Der produceres ikke havkat til konsummarkedet endnu, idet produktionsomkostningerne stadig ligger over de priser det er muligt at opnå på markedet.

### **Helleflynder (*Hippoglossus hippoglossus*)**

Helleflynder forventes at spille en stor rolle i fremtidig norsk marin akvakultur. Yngelen produceres ved den intensive metode og det videre opdræt finder sted i landbaserede kar. Opdræt i netbure giver lovende resultater og kan være med til at øge rentabiliteten af produktionen. Hvorledes opdræt af helleflynder vil udvikle sig, afhænger i høj grad af den prisudvikling, der følger den betragtelige stigning i den eksisterende mængde fisk på markedet. Helleflynder har ikke været dyrket i Danmark.

### **Rødspætte (*Pleuronectes platessa*)**

Produktionen af rødspætteyngel foregår i dag ved den ekstensive metode. Én dansk producent producerer mindre mængder til udsætning.

Rødspættens biologi gør den egnet til akvakultur. Den har dog stået i skyggen af andre fladfish på grund af dens lavere markedspris og er derfor ikke blevet dyrket i kommerciel skala til konsum.

### **Ferskvandsfisk**

#### **Aborre (*Perca fluviatilis*) og sandart (*Sander lucioperca*)**

En række ferskvandsfisk kan produceres ved hjælp af samme teknologi som anvendes til de marine arter. Arter som gedde, aborre og sandart er gode eksempler herpå.

Der er i de senere år gennemført et udviklingsarbejde til intensiv produktion af aborreyngel.

Produktionsmetoderne er kendt og der er gennemført forsøgsproduktioner med succes.

For sandarts vedkommende eksisterer der ongrowinganlæg som indkøber ekstensivt produceret yngel til produktionen. Der pågår et intensivt udviklingsarbejde med henblik på at få etableret en intensiv produktion af sandart sættefisk.

Der gøres opmærksom på at projektets produktion af copepoder af arten *Tisbe holothuriae* er en marin copepod, og derfor ikke vil kunne finde anvendelse til produktion af ferskvandsfisk.

## **Metoder til produktion af fiskeyngel i ekstensive og intensive anlæg**

I Norge påbegyndte man arbejdet med opdræt af marine arter i laguner i 1975.

Forskningsinstitutionerne udviklede løbende systemer til prøveproduktioner og i 1983 havde man et egentligt gennembrud, idet det lykkedes at opdrætte større hold torsk (Kvenseth & Øiestad 1984).

Systemet baserede sig på inddæmning af mindre fjordarme eller polde, hvor fisk og større krebsdyr blev fjernet vha. gift, hvorefter der blev introduceret plankton til systemerne. Poldene var lavvandede og kunne derfor understøtte en tilvækst af alger af samme størrelsesorden som finder sted under forårsopblomstringen i havet. De rige forekomster af planteplankton gav gode vækstforhold for zooplankton som hjuldyr og copepoder, og disse ville derefter fungere som byttedyr for fiskelarverne, som blev udsat i systemerne når mængder af zooplankton og dennes reproduktion var tilstrækkelig til at understøtte fiskenes fødeindtag.

De store polde var meget velegnede til fiskelarvernes tidlige stadier, hvor fødeindtaget var begrænset. De egnede sig ikke til udfiskning af yngel og det var vanskeligt at opretholde en zooplanktonbestand når larvernes fødeindtag voksede hen mod slutningen af larvefasen. Dette førte til en udvikling mod mindre systemer med højere grad af kontrol. Først blev der anvendt flydeposer i poldene. Herved blev det muligt at prøvetage med større sikkerhed, og det blev desuden muligt at opkoncentrere foderet ved at pumpe plankton fra det omgivende vand ind i

poserne. Hen mod slutningen af produktionsforløbet når fiskelarvernes fødeindtag var størst kunne der suppleres med Artemia. Poserne blev efterfølgende afløst af landbaserede tanke, hvortil der blev tilført zooplankton og intensivt dyrkede hjuldyr og Artemia (saltsøkrebs). Produktionsmetoden fik navnet semiintensiv, idet der både blev anvendt metoder fra det intensive system såvel som det ekstensive system

Sideløbende med denne udvikling skete der en betydelig udvikling af de intensive produktionsformer i Sydeuropa. Udviklingen blev båret af en ekspanderende havbrugsproduktion af havbars (*Dicentrarchus labrax*) og guldbrasen (*Sparus aurata*).

De intensive produktionssystemer anvender kun intensivt produceret levendefoder. Fordelene ved de intensive produktionssystemers metodik er en høj grad af kontrol med produktionsparametrene og deraf følgende høje reproducerbarhed.



*Figur 1. Tunge-larve 2-3 dage efter klækning lige før den er klar til at tage føde til sig.*

### **DTU's intensive yngelanlæg**

I Hirtshals anvendes et recirkuleret anlæg med 12 stk. 150 liters cylindrisk-koniske tanke af klar pvc. I tankene er der monteret et udløbsfilter som tilbageholder fiskelarverne, men lader zooplankton passere. Dette gør det muligt at fjerne overskydende zooplankton fra tankene således at fiskene er sultne ved næste udfodring og her præsenteres for friskt foder med høj næringsværdi. Vandet fra tankene passerer efterfølgende et mekanisk filter hvor zooplankton bliver fjernet før vandet ledes til det dykkede biofilter; efterfulgt af risefilteret før det i højdereservoiret temperaturreguleres og via en UV behandling føres tilbage som indløb i karrene gennem bunden af disse.

### **Fiskelarver**

Fiskelarver er meget skrøbelige og derfor meget følsomme overfor fysiske påvirkninger. Tanke til startfodring af fiskelarver er derfor kendetegnet ved nærmest stillestående vand, måske med en skånsom beluftning til fordeling af foder og larver i vandsøjlen. Blommesæk-larverne samt de tidligt fødesøgende larver er næsten uden egenbevægelse, og vil derfor passivt flyde med vandstrømmen i karrene. Senere i larvefasen bliver larvernes egenbevægelse gradvist mere tydelig og de vil ofte aktivt søge hen i områder i tanken med særlige lys- eller strømforhold.

Larverne vil ud over det omgivende vand og dets fysiske kemiske egenskaber være i kontakt med bakterier, mikroalger, foderorganismer og større partikulært materiale som fækalier og døde foderorganismer. Produktionssystemets evne til at opretholde gunstige betingelser er selvsagt afgørende for larvernes overlevelse og vækst. Mikroalger kan have en gavnlig indflydelse på



larverne, dels fordi mikroalger konditionerer vandet ved at optage opløste næringsstoffer fra dette og ved at fungere som føde for zooplanktonorganismene, som herved opretholder en bedre næringsværdi. Fiskelarver indtager også mikroalger. Mikroalgerne indtages ikke kun ved at fiskelarverne drikker vand. Det er vist, at for eksempel pighvar indtager 10-1000 gange så mange mikroalger som forventet, hvis indtaget skulle baseres på drikket vand. Larvernes indtag er dog ikke tilstrækkeligt til at understøtte den vækst og det deraf følgende behov for næringsstoffer som kræves, og indtaget kan derfor betragtes som et supplement, som evt. kan have en sekundær effekt ved at konditionere fordøjelsesapparatet og igangsætte de enzymproducerende systemer, som efterfølgende skal forestå fødens nedbrydning.

## **Startfodring**

Egentlig startfodring af fiskelarver påbegyndes med zooplanktonorganismer. I naturen og i de ekstensive systemer udgør copepoder den dominerende foderorganisme. Copepoder er den foderorganisme, som oftest findes i fiskelarver i naturen herunder tunger (Drake. & Arias, 1993). Copepodernes mange livsstadier fra æg over nauplie og copepoditstadier til voksen copepod gør, at en art kan dække et stort størrelsesinterval. Dette er af væsentlig betydning for fiskelarver, idet deres fødeindtag begrænses af den partikelstørrelse de kan gabe over. Anvendelse af for store fødeorganismer umuliggør selvsagt larvernes fødeindtag. Der er til gengæld en eksponentiel sammenhæng mellem byttedyrlængde og energiindhold, hvilket er samstemmende med at fiskelarver viser aktiv præference for størst mulige byttedyr. I opdræt er det derfor også hensigtsmæssigt at kunne øge fødedyrenes størrelse efterhånden som fiskelarverne vokser og kan gabe over større fødeemner.

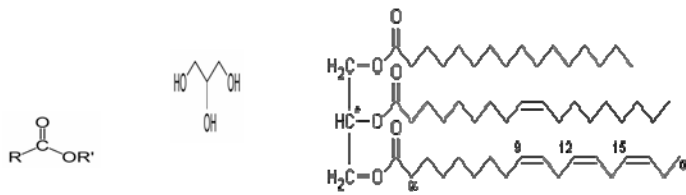
I praktisk opdræt er der et begrænset antal mulige foderorganismer til rådighed. Der anvendes traditionelt hjuldyr og *Artemia*. Hjuldyr kan fås i flere størrelser idet arten *Brachionus rotundiformis* har en længde på 100-160  $\mu\text{m}$  og de større *B. plicatilis* har en længde på 130-340  $\mu\text{m}$ . I kommercielt europæisk opdræt anvendes kun *B. plicatilis*, idet de fiskearter som opdrættes, alle kan startfodres på denne art. *Artemia* er større med en minimumlængde på 400 til 500  $\mu\text{m}$ . *Artemia* har den store fordel, at hvileæg kan indkøbes i store mængder og klækkes et døgn før anvendelsen, hvilket giver mulighed for at fodre store mængder larver helt op til tidspunktet for tilvæning til tørfoder.

## **Ernæring**

Efter at larverne har opbrugt blommesækken afhænger deres næringsindtag af indholdet af det plankton de æder. I intensiv akvakultur tilbydes larverne et begrænset udbud af foderdyr. Disse vælger opdrætteren ud fra kriterier vedrørende deres egnethed for produktion i store mængder. Lipidernes fedtsyreprofil svarer ofte ikke til det næringsbehov som fiskelarver har.

## **Lipider**

Lipider har i særlig grad tiltrukket sig opmærksomhed i forbindelse med opdræt af marin fiskeyngel. Lipider er en samlebetegnelse for fedtstoffer og fedtstoffer er estere af glycerol og højere fedtsyrer. De almindeligste fedtstoffer er triacylglycerolerne, der består af glycerol (en alkohol) hvorpå der sidder tre fedtsyrekæder (bundet via esterbinding) (figur 2). Triglyceriderne er fedtets oplagringsform og det er den form det har i planteolier og synligt fedt hos dyr (f.eks. synligt fedt i fiskevæv og mesenterie). Der findes også en lang række andre lipider, f.eks. kolesterol og phospholipider, der er vigtige byggestene for hormonsyntese. Fosfolipiderne er hovedbestanddelene i bl.a. cellemembraner.

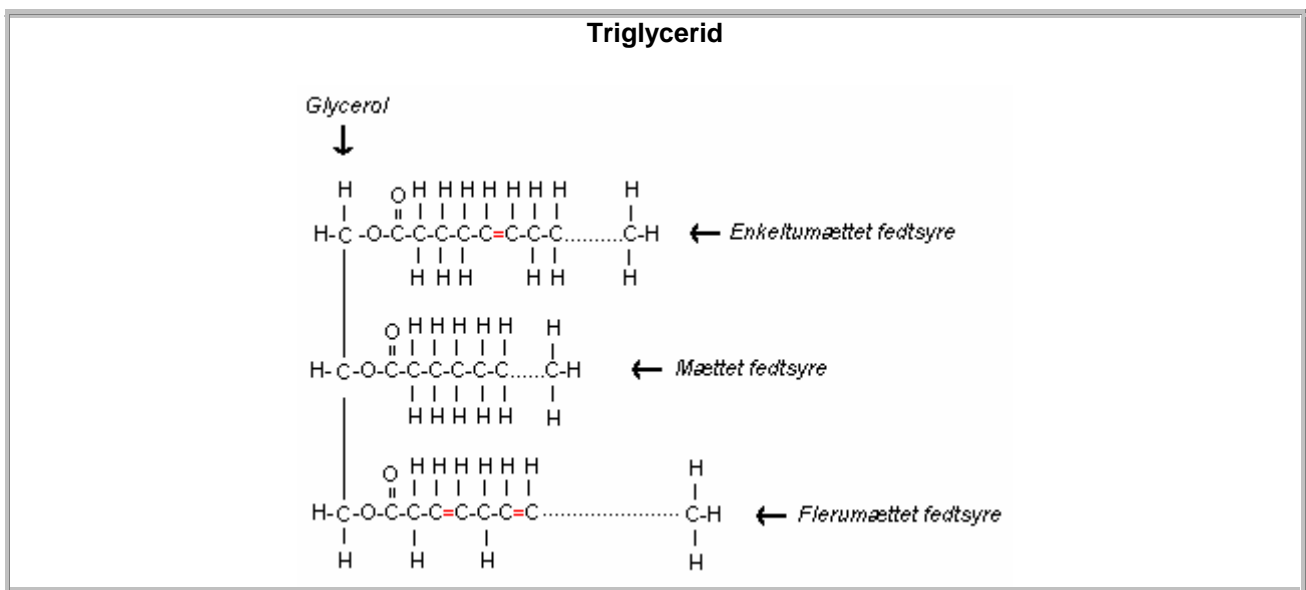


Figur 2. Illustration af opbygning af ester, glycerol og triacylglycerol.

Frie fedtsyrer er opbygget med en syregruppe i den ene ende, mens resten af molekylet er en lang kulbrinte-kæde. Fedtsyrer er uopløselige i vand, er organiske og har det fælles, at de består af lange, ofte uforgrenede kæder af kulstofatomer (mellem 4 og 24) med netop én carboxylsyregruppe (-COOH) i den ene ende. Generel formel:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$  hvor antallet af kulstofatomer ( $n$ ) kan gå fra 0 til i princippet uendeligt, men i praksis til omkring de 40.

Fedtsyrene kan inddeles i tre grupper (figur 3):

- *Mættede fedtsyrer* - fedtsyrer, hvis kulbrintekæden er mættet med H- atomer og de indeholder ikke dobbeltbindinger.
- *Monumættede fedtsyrer* - fedtsyrer, hvis kulbrintekæde mangler 2 H-atomer der dannes således en en dobbeltbinding og fedtsyren er umættet
- *Polyumættede fedtsyrer* - fedtsyrer som indeholder to eller flere dobbeltbindinger



Figur 3. Illustration af opbygning af mættede, umættede og flerumættede fedtsyrer.

Fisk kan syntetisere umættede og enkeltumættede fedtsyrer i leveren og kan derfor klare sig uden tilførsel af disse i diæten. Fedtsyrer med 2 eller flere dobbeltbindinger syntetiseres primært af organismer lavere i fødekæden og skal derfor tilføres fiskene i diæten – heraf navnet essentielle fedtsyrer. Fisk har som andre hvirveldyr behov for de 3 essentielle fedtsyrer eicosapentaen syre (EPA),  $\text{C}_{20:5n-3}$ , docosahexaen syre (DHA),  $\text{C}_{22:6n-3}$  og arachidon syre, (ARA),  $\text{C}_{20:4n-6}$  for at kunne vokse og udvikle sig normalt (Sargent et al., 1996).

Hjuldyr og Artemia indeholder relativt lave mængder af disse essentielle fedtsyrer, hvilket har ført til problemer i yngelproduktionen af en række primært marine fisk. Et typisk problem hos fladfisk er mangel på pigmentering. Dette har kunnet relateres til indholdet af de essentielle fedtsyrer i føden. Problemet kan delvist overkommes ved at berige foderdyrene med emulsioner indeholdende de essentielle komponenter i rette mængder.

## **Proteiner**

Proteiner er en anden væsentlig byggesten for fiskelarver. Proteiners opbygning af aminosyrer er kontrolleret af DNA sekvensen og er derfor fælles for alle trofiske niveauer. Forskning i fiskelarvers krav til proteiner har ikke fået samme fokus som forskning i lipiders betydning. På trods af at fiskelarver vokser med op til 100 % om dagen og proteiner er en central komponent i denne vækst er der ikke gennemført en forskningsindsats vedrørende proteiner i nær samme størrelsesorden som det er tilfældet for lipidene. Det område indenfor proteinnæring hos larver som er bedst beskrevet omhandler enzymapparatets evne til at omsætte proteiner, men viden om fiskenes optag af næringskomponenterne er kun lidt belyst (Rønnestad et al 2007).

## **Anvendelse af forskellige typer foderdyr**

Siden 70'erne har der været arbejdet intensivt med produktion af marine fiskelarver med akvakultur for øje. Allerede på et tidligt tidspunkt blev foderorgansimerene hjuldyr og Artemia identificeret som værende velegnede til opdræt, idet de var til at producere i tilstrækkelige mængder til anvendelse i kommerciel skala.

Hjuldyr er væsentlig mindre end Artemia. Dette kan være en afgørende fordel for fisk som producerer små larver, hvor indtag af Artemia ikke er mulig. Hjuldyr bevæger sig langsommere end Artemia og kan derfor være lettere at fange for larver, som kun lige er begyndt at tage føde til sig. Hjuldyr har desuden ikke et exoskelet, og passerer derfor lettere gennem fordøjelsessystemet end krebsdyr som Artemia og copepoder.

Generelt vil fiskelarver som præsenteres for fødeemner af forskellig størrelse, vælge de størst mulige. Forudsat at fødeemnerne kræver lige megen energi at fange, vil larven få mere energi ved indtagelse af de større fødeemner.

Netop Artemia kan give problemer hos nogle arter fisk, idet de med deres exoskelet kan blokere fordøjelseskanaalen. Fiskelarvers fødeindtag reduceres ikke forholdsmæssigt med byttedyrtætheden. Dette kan føre til problemer ved høje tætheder af byttedyr, idet fordøjeligheden af føden reduceres. Sideløbende med det intensive arbejde med at udvikle teknikkerne vedrørende anvendelse af hjuldyr og Artemia, blev der gennemført forsøg med føde af mere naturlig karakter for fiskelarver. Tilgangsvinklen var indledningsvis mere ekstensiv, idet fiskelarvernes naturlige miljøer blev forsøgt efterlignet med henblik på at opfylde deres krav. Disse ekstensive systemer baserede sig på produktion af phyto- og zooplankton i systemer hvor naturligt sollys fungerede som energikilde og fiskelarverne blev udsat i systemerne når en produktion af zooplankton var etableret. Disse mesokosmossystemer bidrog med viden om fiskelarvernes fødeindtag (van der Meeren, T. 1991) og om vækstpoterentialer hos fiskelarver i naturlige systemer (van der Meeren, T. & Naas, K. E. 1997). Det viste sig at copepoder var en ideel kilde til ernæring hos marine fiskelarver hvilket understøttedes af viden om at fiskelarver i naturen hovedsagelig levede af copepoder og disses naupliestadier (Heath & Moore 1997; Naess et al 1995.)

## Opdræt af harpacticoide copepoder (*Tisbe holothuriae*) i intensive anlæg

Harpacticoide copepoder er i sammenligning med andre ordener af copepoder velegnede til intensiveret opdræt; bl.a. grundet deres evne til at tolerere miljøer karakteriseret af en vis organisk belastning, deres evner til at tolerere relativt store ændringer i det fysisk-kemiske miljø og deres høje fekunditet og korte generationstid (Lee Sheng-Sheng et al 2005). Seks forskellige arter harpacticoider tilhørende fem forskellige slægter har været anvendt til opdrætsforsøg. (Støttrup & Mcevoy 2003).

For *Tisbe holothuriae*s vedkommende ligger temperaturoptimum på 19°C (Milliou & Moraitou-Apostolopoulou 1991) og ifølge samme reference ligger salinitetsoptimum på 38 ppt. Sidstnævnte er overraskende, idet arten er udbredt i Atlanten hvor saliniteten ikke overskrider 34 ppt.

En ulempe som harpacticoiderne har i forhold til andre klasser af copepoder, er deres manglende evne til at producere hvileæg. Dette stiller krav til opdrættets udformning, idet det er nødvendigt at vedligeholde kulturer året igennem hvis ikke hver ny produktionsperiode skal påbegyndes baseret på materiale indhentet fra naturen. Det er heller ikke muligt at lagre produktionen uden for perioder hvor der skal startfodres larver. Der drives ikke som for f.eks. algers vedkommende kommercielt baserede stamkulturer hvorfra kulturer kan rekvireres. Kulturer af copepoder baseres derfor på materiale indfanget fra naturen, eller fra kulturer som opretholdes i forbindelse med videnskabelige projekter.

## *Tisbe holothuriae*s taxonomi og livscyklus

*Tisbe holothuriae* er en benthisk harpacticoid copepod. Taxonomisk kan arten klassificeres under:

Række: Crustacea

Klasse: Maxilliopoda

Underklasse: Copepoda

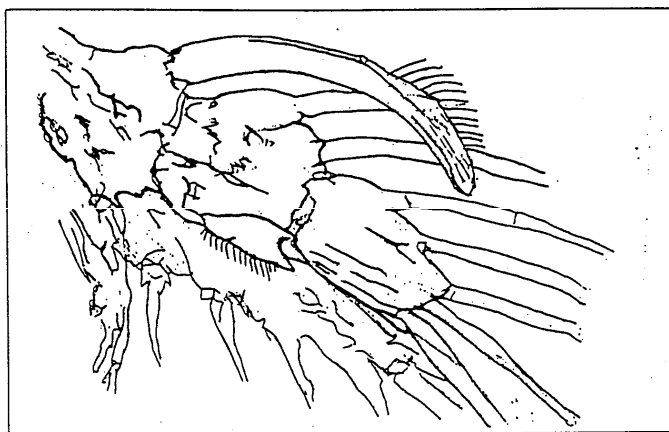
Orden: Harpacticoida (Sars 1903)

Familie: Tisbidae (Stebbing 1910)

Underfamilie: Tisbinae

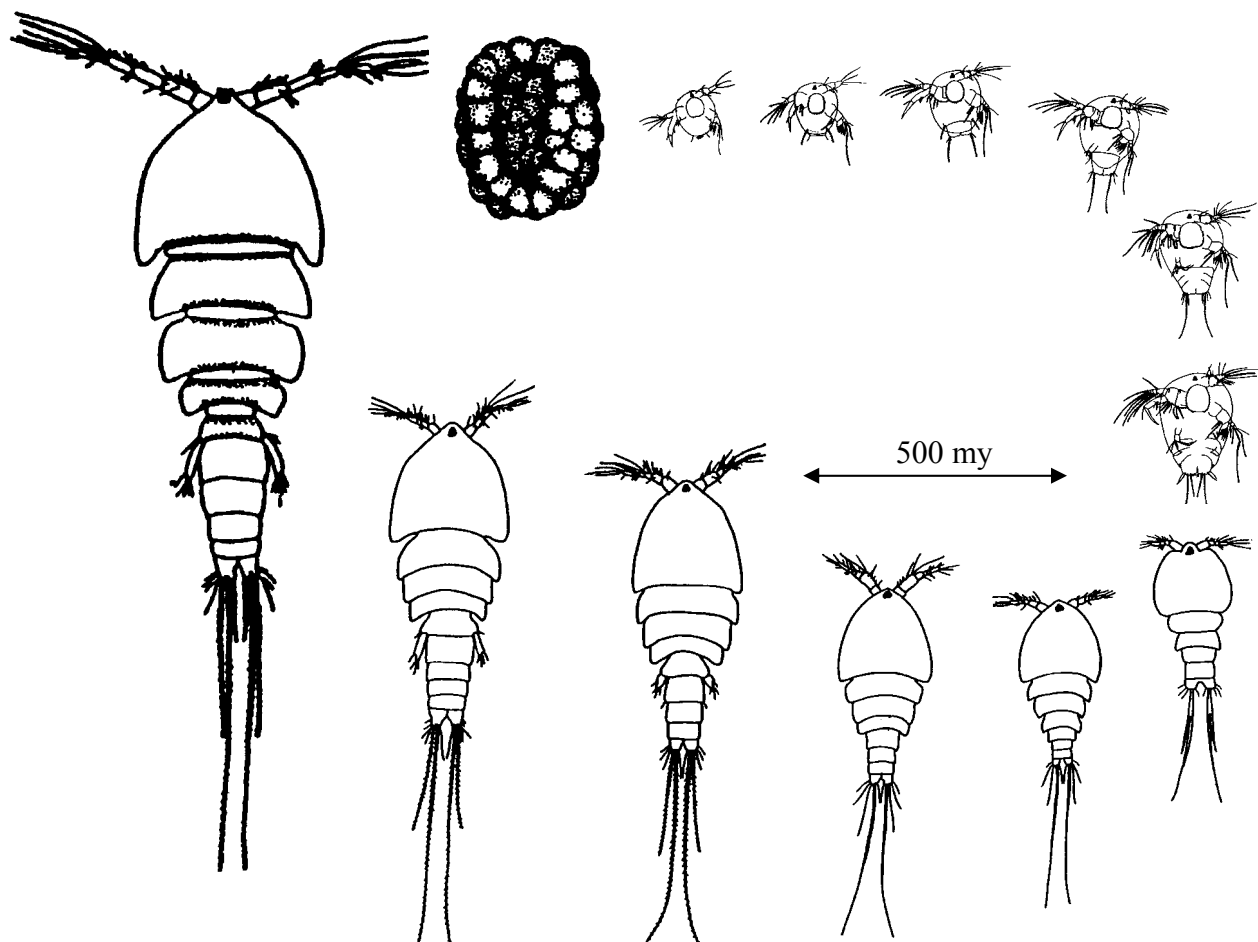
Art: *Tisbe holothuriae* (Humes 1957)

*Tisbe holothuriae* tilhører en gruppe nært beslægtede arter hvor hunnerne ikke kan adskilles morfologisk. De forskellige arters hanner kan adskilles baseret på morfologiske karakterer på antenner og ben. *Tisbe holothuriae* er karakteriseret ved at besidde et modificeret seta på det proximale endopod segment på andet benpar (Bergmans 1979) (figur 4).



Figur 4. Det artsspecifikke modificerede setae fra proximal endopod på ben nr. 2.

*Tisbe holothuriae* har seks nauplie stadier, fem copepoditstadier og et adult stadie (figur 5).



**Figur 5. Livscyklus for *Tisbe holothuriae*. Modificeret fra Park (1976) af Preben Christensen (figur 21 i Appendix 1).**

Nauplietadierne er primært pelagiske og copepoditstadierne er primært er benthiske.

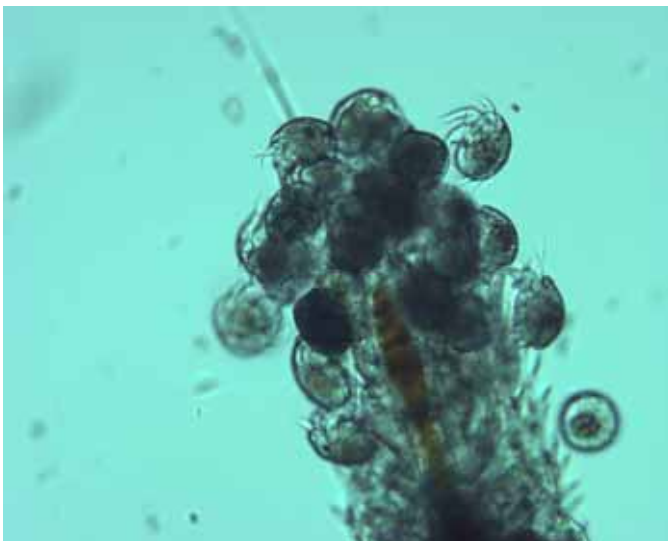
*Tisbe* er en fritlevende organsime, men som navnet indikerer blev arten oprindeligt beskrevet som parasit på søpølsen *Holothuriae stellati* (Humes 1957). Arten er siden fundet fritlevende i nordsøen, middelhavet og langs USA's østkyst (Gotto 1993). Fava (1975) gennemførte en undersøgelse af copepoder tilhørende slægten *Tisbe* fra Middelhavet ud for Venedig. *Tisbe holothuriae* viste sig at være den mest hårdføre art blandt de 12 testede *Tisbe* arter, med hensyn til pH og temperatur. *Tisbe holothuriae* var også i stand til at udkonkurrere andre arter i polykulturer, og blev derfor konkluderet som værende den bedst egnede art til kultur.

Tilvæksten fra æg til voksen gennemføres på 10-18 dage. De 6 nauplietadier gennemløbes på 3 til 4 dage og det reproduktive voksenstadie (figur 6) kan nås allerede efter 10 dage, men tager typisk 15-18 dage ved 18 °C. Parring finder sted en gang, og hunnen vil derefter være i stand til at producere æg i omkring 10 dage.



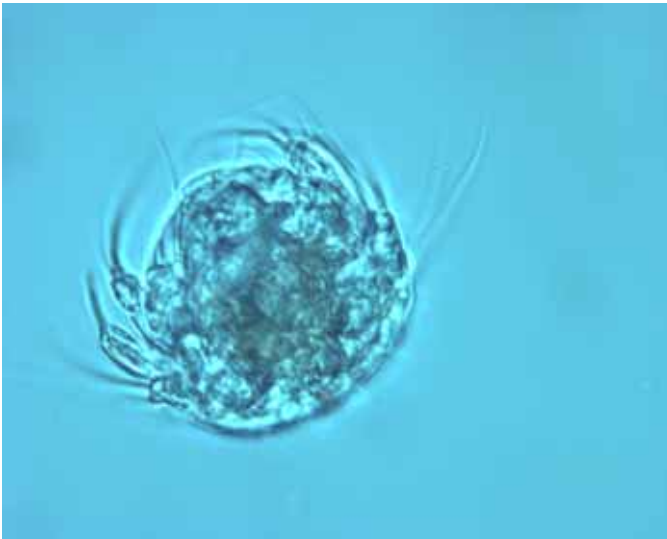
**Figur 6. Voksen *Tisbe holothuriae* hun med æg.**

Der produceres 3 til 7 ægsække (figur 7), hver indeholdende 10-60 æg. Total levetid for et individ er omkring 30 dage.



**Figur 7. *Tisbe holothuriae* æg under klækning hvor nauplierne frigives.**

En typisk nauplieoverlevelse ved lave tætheder på 80% resulterer i vækstrater på mellem 20 og 30 % dagligt. Lavere overlevelse af naupliestadierne (figur 8) kan dog forventes ved højere tætheder. Optimal salinitet er 38 ppt. *Tisbe holothuriae* dør ved saliniteter under 20 ppt og over 48 ppt. Optimal væksttemperatur er 19°C.



**Figur 8. *Tisbe holothuriae* nauplie stadie 1 umiddelbart efter klækning.**

*Tisbe holothuriae* er omnivor og æder ved at græsse overflader. Forsøg har vist at *Tisbe holothuriae* vokser bedst, hvis der gives en algebaseret diæt kombineret med et animalsk tilskud. Fiskefoder har med succes været anvendt som dette animalske tilskud og dette har resulteret i højere registreret fekunditet og reduceret mortalitet i copepodritstadiene. Ulempen ved at anvende animalsk tilskud er en negativ effekt på vandkvaliteten. I praksis bør anvendelse af animalsk tilskud i batch systemer følges op af øget vandudskiftning.

Analyser af fedtsyreprofiler har indikeret at *Tisbe holothuriae* er i stand til at syntetisere de flerumættede fedtsyrer EPA og DHA. Dette i modsætning til hhv. *Artemia* og hjuldyr som ikke besidder denne evne (Norsker & Støttrup 1994). *Tisbe holothuriae* ser således ud til at være i stand til at forlænge omega 3 fedtsyrer med kortere kulstofkæder til C20 og C22. Egenskaber som ellers er forbeholdt fotosyntetiserende organismer. Hovedparten af de langkædede fedtsyrer incl. EPA og DHA må dog forventes at komme fra copepodernes diæt.

Det relative lipidindhold tiltager igennem copepoditstadiene og skyldes formentlig de voksne hunners behov for lipid til allokering til æggene.

## **Ernæringsrelaterede forhold**

Copepoder udgør hovedparten af mange fiskelarvers naturlige føde (Pauly & Christensen 1995). Der er derfor et naturligt sammenfald mellem copepoders næringssammensætning og fiskelarvers næringskrav.

Proteiner udgør en stor del af marine copepoders næringsindhold 24-82 % (Båmstedt 1986). Hos *Tisbe holothuriae* udgør proteinindholdet 71 % (Miliou et al. 1992).

Kulstofindholdet i copepoder udgør 28-68 % for calanoider (Båmstedt 1986) og for *Tisbe holothuriae* udgør Kulstofindholdet omkring 40% (Guérin & Gaudy 1977). C:N forholdet kan variere betydeligt inden for intervallet fra 5 til 12 som funktion af den tilbudte algediæt (Guérin & Gaudy 1977).

Lipider har været intensivt undersøgt hos plankton idet fedtsyresammensætningen har stor indflydelse på fiskelarvers udvikling og efterfølgende kvalitet.

De langkædede flerumættede fedtsyrer udgør en stor del af fosfolipiderne i cellemembraner hos marine fisk. Fiskelarver kan selv syntetisere kortere kædede fedtsyrer som C:18, men er ikke i stand til at forlænge disse kortere fedtsyrer til C:20 eller C:22. Disse langkædede flerumættede fedtsyrer

der derfor er essentielle i diæten for fiskelarverne, kan derfor grundet fiskelarvernes hurtige vækst komme i underskud, hvis ikke tilstrækkelige mængder kan ekstraheres fra diæten.

En række studier har verificeret effekter af fedtsyresammensætning på eksempelvis pigmentering af yngel af fladfisk, (Seikai et al 1987; Lund et al 2008; Næss et al 1995). De flerumættede fedtsyrer eicosapentaen syre (EPA), docosahexaen syre (DHA) og arachidon syre (ARA) har vist sig at have relativt stor indflydelse på fiskelarvers vækst og udvikling. For en række studiers vedkommende har det vist sig at forholdene mellem de 3 nævnte fedtsyrer har større betydning end de specifikke mængder (Sargent et al 1997). Andre studier har vist effekter som funktion af netop de specifikke indhold af fedtsyrer og ikke af forholdene mellem disse (Lund et al 2008).

Det er i fiskelarvernes tidlige stadier før metamorfosen af fedtsyreindholdet i føden spiller en særlig stor rolle, idet der på dette tidspunkt kan ske irreversible ændringer af fiskenes morfologi som funktion af fedtsyreindholdet. Som udgangspunkt må det forventes at æggene indeholder den optimale fedtsyresammensætning for fiskelarver i blommesæk- og umiddelbart efterfølgende stadier. En sammenligning af fedtsyreindholdet af hhv. æg af torsk, nyklækkede larver og indholdet i Artemia og copepoder viser en stor ensartethed mellem æg, larver og copepoder, men ringe ensartethed med Artemia's indhold af centrale fedtsyrer (Tabel 1).

**Tabel 1. Sammenligning af fedtsyresammensætningen (vægt%) af total lipid fra hhv. torskeæg, torskelarver og copepoder og Artemia (Sargent et al 1999).**

	22:6 n-3	20:5-n-3	20:4n-6	18:3n-3	18:2n-6	18:1n-9	16:0
Torskeæg	29,3	14,8	1,7	0,3	1,1	11,5	18,5
Torskelarver	30,2	15,0	1,8	0,6	1,7	7,6	17,4
Copepoder	32,2	12,1	1,0	1,7	2,0	7,0	18,1
Artemia	0,0	3,9	1,1	22,1	5,9	17,4	11,6

Talrige studier har vist at næringsammensætningen af copepoder afhænger af den føde de indtager (Moreno et al. 1979 & Støttrup 1994). I startfodringsfasen af marine larver vil nauplierne udgøre den primære fødekilde. Næringsindholdet af nauplierne er derfor afgørende for copepodproduktionens anvendelighed. Det har vist sig at næringsindholdet af nauplierne umiddelbart efter klækning ikke ændrer sig i forhold til copepodernes næringsammensætning og dermed copepodernes fødeindtag. Copepoderne allokerer altså samme næringsammensætning til nauplierne uafhængigt af næringsammensætningen af deres føde eller af copepoderne selv (Norsker & Støttrup 1994).

## Opdrætsrelaterede forhold

Produktionen af æg hos *Tisbe holothuriae* har vist sig at afhænge af tætheden af individer (Zhang et al 1993). Ligeledes har det vist sig, at klækkeraten og overlevelsen af nauplier reduceres ved øgede tætheder af individer i en kultur (Hoppenheit 1976).

Hoppenheit (1976) fandt at øget udskiftning af vand fra kulturen til en vis grad kunne kompensere for denne effekt; en observation som også er gjort af Fava (1979).

Mekanismerne er ikke kendte, men forsinkelse af klækketidspunktet kan være medvirkende årsag (Kahan et al 1988 og Walker 1979) og kan medvirke til at komplicere dataanalyserne.



Høje tætheder medfører mindre individstørrelse af voksne individer (Hoppenhiit 1976). Dette kan skyldes lavere fødeindtag som funktion af øget konkurrence om foderet eller lavere trivsel grundet ringere kvalitet af vandet.

Zhang & Uhlig (1993) fandt en reduktion af tørvægten af hunner med ægsæk fra 10,79  $\mu\text{g}$  til 6,58  $\mu\text{g}$  som effekt af at øge densiteten af individer fra 60 individer/ $\text{cm}^2$  til 540 individer/ $\text{cm}^2$ .

### **Intensivt opdræt af *Tisbe holothuriae* i bakkesystemer (enheder på under 5 liter)**

Harpacticoide copepoder kræver et overfladeareal at græsse på. Dette har medført at harpacticoider traditionelt har været dyrket i mindre enheder med horisontale overflader. Typisk har bakkesystemer været anvendt med en vanddybde på 4-10 cm. Sådanne systemer har et relativt stort horisontalt overfladeareal i forhold til den overliggende vandsøjle, hvorfra mikroalger kan sedimentere. Metodens fordele inkluderer umiddelbar visuel overskuelighed over kulturens status. Det er med det blotte øje muligt at inspicere kulturen og vurdere indholdet af foder og eksempelvis tilstedeværelse af aggregeret materiale som kan forårsage reduceret vandkvalitet (figur 9). Det er ligeledes muligt direkte at vurdere copepodernes antal i kulturen og deres reproduktive potentiale, idet andelen af ægbærende hunner kan vurderes.

Systemerne fungerer ved at ved at kulturene dyrkes som batchkulturer. Dette indebærer at der ikke er kontinuerligt vandskifte i kulturen. Kulturene i bakkerne fodres dagligt i 3-4 dage, hvorefter vandet skiftes ved at kulturene filtreres gennem planktondug som tilbageholder copepoderne og lader vand og mikroalger passere.



**Figur 9. Copepodkultur i bakker, illustrerende hvorledes materiale efter blot 3 timers henstand i bakke kan aggregeres. Foto: Preben Kristensen, DTU (figur 24 i Appendix 1).**

Copepoderne kan størrelsesfraktioneres vha. planktonfiltrene. Et 40  $\mu\text{m}$  filter vil tilbageholde alle stadier af copepoder, et 80  $\mu\text{m}$  filter vil tilbageholde copepoditter og copepoder, men lade nauplierne passere, mens et 200  $\mu\text{m}$  filter vil tilbageholde ægbærende hunner.

Bakkesystemer fodres typisk med mikroalger. *Rhodomonas* sp. har vist sig velegnet til fodring af copepodkulturer (Støttrup & Norsker 1997). Fodring baseres i bakkesystemer på visuel observation af vandsøjleens farvning af mikroalger. Foderrationen ligger for nyvaskede kulturer på omkring 10 % af bakkens vandvolumen; dvs. en bakke med 4 liter vand tilføres 400 ml *Rhodomonas* sp. algekultur. I løbet af de 3-4 dage mellem vandudskiftning vil kulturene ændre karakter, idet protozoer hurtigt vil reproducere sig i bakkerne og konkurrere med copepoderne om føden. Dette kan observeres ved at algemængden i vandsøjlen hurtigt reduceres efter fodring. Kompenseres der

ikke for dette vil fodermængden hurtigt blive så reduceret, at vandet i bakken vil være klart som rent vand. Hyppigere fodringer kan kompensere for dette tab, men det vil være mere hensigtsmæssigt at vaske kulturen vha. filtrering.

Det er ikke kendt hvor stor del af copepodernes næringsbehov som dækkes direkte af mikroalger og hvor stor del der udgøres af sedimenteret materiale i form af fækalier og delvist hydrolyserede komponenter associeret til bunden.

Bakterier har vist sig at udgøre en betydelig del af harpacticoide copepoders næringsindtag. (Rieper 1978). Dette er interessant, idet det giver mulighed for at copepoder evt. kan reducere patogener i larvekulturanlæg. Forsøg med dyrkning af *Tisbe holothuriae* på *Vibrio* bakterier har vist, at der ikke er negative effekter af bakterierne, tværtimod valgte copepoderne aktivt at opholde sig i områder hvor der var udfodret *Vibrio anguillarum* (Rieper 1982). Der var ikke forskel på copepodernes overlevelse ved anvendelse af hhv. levende eller døde *V. Anguillarum*, hvilket indikerer at bakterierne ikke har patogen effekt på copepoderne.

Produktiviteten i bakkesystemer kan være betydelig. Støttrup (1997) fandt en gennemsnitsproduktion af nauplier i bakker på 125 nauplier pr cm<sup>2</sup> pr dag.

## **Intensivt opdræt af *Tisbe holothuriae* i større systemer (enheder på over 5 liter) uden kontinuerligt vandskifte**

*Tisbe holothuriae* har i en årrække før dette projekts påbegyndelse (1996-1998) været dyrket i DTU Aquas faciliteter i Hirtshals. Der er anvendt 30 liters enheder med cylindriske sider og konisk bund (foderautomater til fiskeopdræt). Disse enheder blev fyldt med biofiltermateriale og beluftet vha. en luftsten placeret i bunden af tankene. Det er væsentligt at biofiltermaterialet tillader vertikal transport af partikulært materiale. Dette fremmer sedimentation af skalfragmenter, som kan fjernes fra kulturerne ved choktømning af tankene.

Den daglige drift indebar choktømning af tanken med henblik på fjernelse af skalfragmenter, og efterfølgende aftapning af omkring 5 liter vand gennem planktonfilter og returnering af tilbageholdte copepoder til tanken.

Systemet blev fodret dagligt med omkring 20 volumenprocent algekultur baseret på kulturens farvning af alger før fodring.

To gange ugentligt blev kulturen vasket gennem planktondug hvorefter tank og biofilterelementer blev rensed ved spuling før copepoderne returneredes til tanken.

Produktionen af nauplier var meget svingende. Der så ud til at være en sammenhæng mellem kvaliteten/kvantiteten af de alger som blev anvendt som foder og kulturens produktion af nauplier. I perioder hvor algekulturene ikke fungerede optimalt sås typisk reducerede nauplieproduktioner i produktionsanlægget.

Der var tydeligvis perioder hvor copepoderne formerede sig hurtigt og dette afspejlede sig i betydelige nauplieproduktioner.

I perioder med højt udbytte, blev der konstateret en produktion på omkring 20 nauplier/ml kulturvand pr dag. Dette indikerer at *Tisbe holothuriae* har et betydeligt produktionspotentiale, men også at det er vanskeligt at opfylde artens krav på kontinuerlig basis og derved opnå en stabiliseret produktion.

I 2001 offentliggjordes en rapport inkluderende en beskrivelse af design og drift af et større skala produktionssystem baseret på bakker (Miles et al 2001). Systemet kan betegnes som en udvidelse af det bakkesystem som er beskrevet af Støttrup (1997). Dette produktionssystem var baseret på reoler med 12 bakker oven over hinanden. Reolerne blev placeret i klimarum med kraftig belysning af den type som anvendes ved produktion af mikroalger i poser.

Driften af systemet kendetegnede et typisk produktionsforløb for *Tisbe holothuriae* i batchkultur. Systemet blev hurtigt koloniseret af en række fremmede arter inkluderende protozoer, nematoder og ikke mindst hjuldyr. Sidstnævnte blev karakteriseret som et alvorligt problem som det var meget vanskeligt at overvinde. Hjuldyrenes antal kunne reduceres betydeligt ved filtrering. Dette gav en midlertidig bedring, men da alle hjuldyr og æg ikke kunne fjernes på denne måde var gentagne behandlinger nødvendige. Behandlingen ved filtrering indebar at en stor del af copepoditterne og nauplierne blev tabt, idet disse ikke kunne adskilles fra hjuldyrene og derved måtte kasseres.

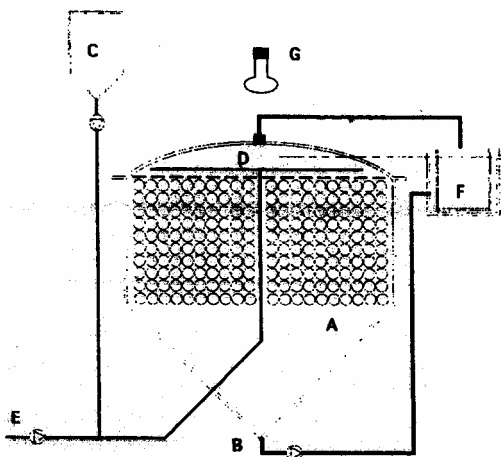
Egentlige produktionsestimater for dagligt antal producerede nauplier/ml er ikke opgivet i rapporten. Et interessant resultat er, at der blev forsøgt anvendt en øget overflade i bakkerne ved introduktion af småsten til bakkerne. En sammenligning af produktionen i bakker med og uden småsten viste dog at produktionen i bakkerne med småsten var signifikant lavere sammenlignet med produktionen i bakkerne uden småsten.

Dette umiddelbart overraskende resultat blev tilskrevet signifikant højere ammoniumkoncentrationer i bakkerne med småsten end i bakkerne uden, idet bakkerne med småsten var vanskeligere at rengøre.

## **Opdræt af *Tisbe holothuriae* i større systemer (enheder på over 5 liter) med kontinuerlig vandudskiftning**

De tilbagevendende problemer og den betydelige arbejdsbyrde forbundet med produktion af harpacticoider i batchsystemer har inspireret til eksperimenter med henblik på at designe et produktionsanlæg som kan levere en kontinuerlig og stabil forsyning af nauplier med et minimeret tidsforbrug.

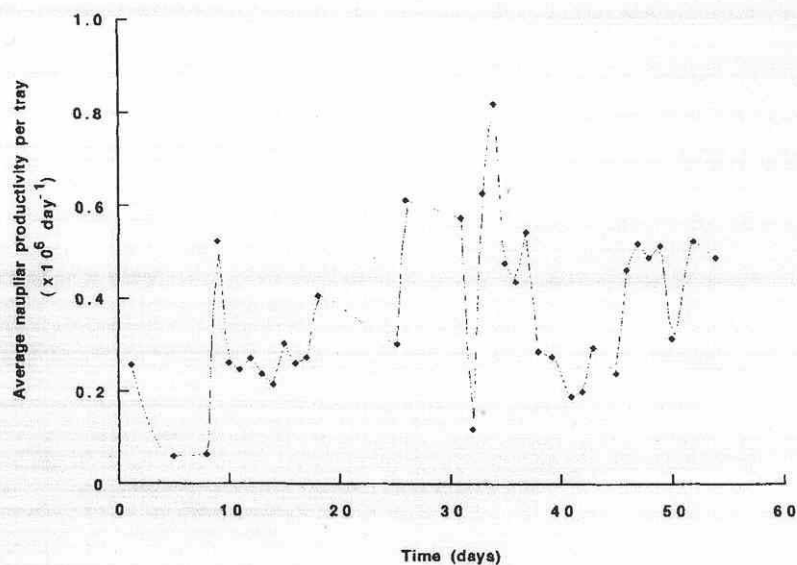
Støttrup & Norsker (1997) beskrev et system baseret på en 150 liters forsejlet tank med cylindriske sider og konisk bund. Tanken blev fyldt med biofilterelementer. Tanken blev fodret en gang dagligt med 20 liter *Rhodomonas* mikroalger. Nauplier blev høstet ved at vandet i produktionstanken blev presset op gennem tanken og gennem låget, hvor en slange førte nauplierne over i et opsamlingsfilter Figur 10.



*Figur 10. Skitse af det kontinuerlige produktionssystem som blev anvendt i Støttrup & Norsker (1997). Figur fra Støttrup og Norsker (1997).*

Karakteristisk for produktionen af nauplier var den meget svingende produktion fra dag til dag (figur 11).

Produktiviteten af anlægget blev opgivet til 1,5 nauplier/ml pr dag. Dette lå væsentligt under produktionen i bakker fra samme studie som lå på omkring 100 nauplier/ml pr dag. Ovenstående produktionsestimater er omregnede værdier fra de opgivne produktiviteter pr  $\text{cm}^2$  i Støttrup (1997).



*Figur 11. Illustration af den meget svingende nauplieproduktion i et kontinuerligt produktionsanlæg (Støttrup & Norsker 1997).*

## Projektets produktionssystem

Produktion af harpacticoide copepoder har traditionelt været forbundet med betydelige driftsomkostninger.

Produktionssystemer med kontinuerlig vandudskiftning har på dette punkt en række fordele frem for batchbaserede systemer, idet nauplierne automatisk føres med vandet ud af systemet til opsamlere. Tilkobling af kontinuerlig fodring af systemerne vil yderligere give disse systemer en driftsmæssig fordel frem for batch systemerne.

Projektets produktionssystem kobler 6 produktionstanke til en fælles opsamlingsenhed. Det var hensigten at holde de forskellige stadier af copepodernes udvikling adskilt, med henblik på at optimere forholdene for de enkelte udviklingstrin. Nedenstående afsnit redegør for produktionsapparatets opbygning og drift.

### **Beskrivelse af produktionssystemet**

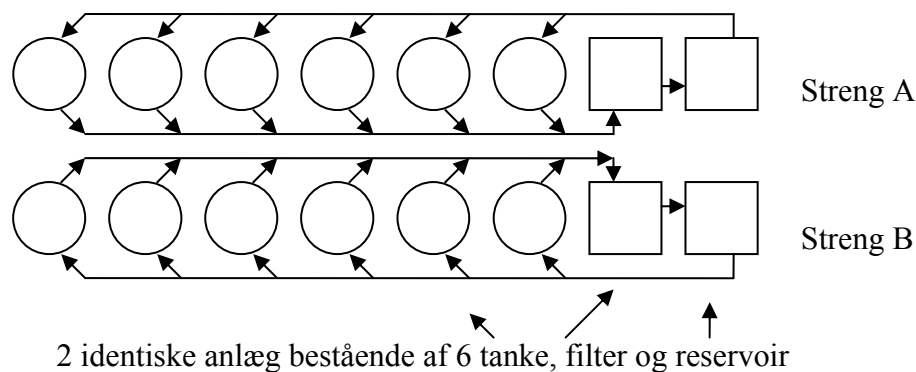
#### **Stamkultursystemet i bakker**

Stamkulturer holdes i bakker med en vanddybde på omkring 5 cm (figur 12). Det er her muligt at bibeholde stamkulturerne af copepoder vha. et relativt begrænset tidsforbrug. Anlægget fodres efter behov med mikroalger. Med få ugers erfaring vil anlæggets algemængde kunne justeres blot ved at vurdere algernes farveintensitet i vandet. Det er muligt at observere copepoditter og copepoder direkte i bakkerne med det blotte øje (figur 12). Det er også muligt at vurdere mængden af hunner med æg og derved få en indikation af kulturens forventede udvikling.



**Figur 12.** Bakker med stamkulturer af copepoder (tv.). Det er muligt at se copepoderne i bakkerne med det blotte øje som sorte prikker på bakkens sider (th.)

Det recirkulerede produktionsanlæg består af 2 individuelle anlæg (figur 13 og 14). Hvert anlæg har 6 produktionstanke. Hver tank indeholder 100 liter biofilterelement (bioblok 150) og er forsynet med et centralt placeret udløbsrør betrukket med planktondug (38 eller 120  $\mu\text{m}$ ) (figur 15).



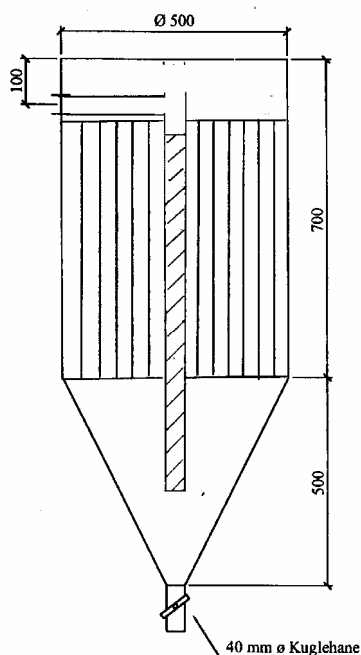
**Figur 13.** Skitse af projektets produktionsanlæg.

Karrets udløb er ført i et fælles afløb som samler afløbene fra anlæggets 6 tanke og leder det til Unikfilteret (figur 14). Unikfilteret er forsynet med op til 3 planktonduge. Dette giver mulighed for at separere udløbsvandets plankton i 3 fraktioner baseret på størrelse. Efter Unikfilteret løber vandet i et reservoir hvorfra det pumpes op gennem UV-behandlingsanlægget til højdetanken. Fra højdetanken kan vandet vha. gravitation løbe frem til karrene. Flowet til karrene kan justeres fra 2,5 l/time til 150 liter/time. Der er monteret flowmålere ved indløbet til hver enkelt tank.



**Figur 14. Projektet produktionsanlæg. Til Øverst til venstre ses anlæggets produktionstanke og nederst til venstre og yderst til højre ses anlæggets filterstationer til høst af nauplier.**

Fordelene ved det recirkulerede produktionsanlæg er at der ikke manuelt skal skiftes vand på anlægget. Det foregår i stedet ved at vandet kontinuerligt skiftes i tankene. Dette medfører også den fordel at nauplierne kan vaskes ud af anlæggets tanke og opsamles i produktionsanlæggets Unikfilter i de ønskede fraktioner.



**Figur 15. Skitse af produktionstank med centralt placeret udløbsfilter (skraveret skråt) og biofilterelementer (skraveret lodret).**

## **Test af unikfilterets evne til at tilbageholde nauplier og copepoder**

Indledningsvis blev Unikfilterets evne til at tilbageholde nauplier undersøgt.

Umiddelbart før den daglige tømning af Unikfilteret opnås den højste koncentration af nauplier og copepoder foran filterets planktonduge. Det blev skønnet hensigtsmæssigt at teste filterets evne til at tilbageholde nauplier på dette tidspunkt.

Et 38 µm filter blev monteret under afløbet fra Unikfilteret. Efter én time blev filteret tømt.

Filterets indhold blev koncentreret i 200 ml vand hvorfra prøver blev udtaget og talt. Der var i gennemsnit 3 nauplier pr. prøve svarende til et dagligt spild på 847 nauplier.

Efterfølgende blev Unikfilteret tømt og antal nauplier i kammeret opstrøms filteret bestemt til 150.000 stk.

Der er forskellig koncentration bag Unikfilterets 38µm dug gennem døgnet, begyndende med en lav koncentration lige efter rensning af filteret til en maksimal koncentration umiddelbart før rensning af filteret. Tages der højde for dette, bør 441 nauplier slippe gennem filteret på et døgn.

Herved kan lækagen af nauplier beregnes til 441/150000 nauplier pr døgn eller under 0,3 %, hvilket må konstateres at være tilfredsstillende.

## **Drift af produktionssystemet**

Erfaringer fra tidligere produktionsforsøg med batchsystemer har vist, at det var fordelagtigt at holde de forskellige stadier af copepoder adskilt i deres respektive størrelsesgrupper. I batch systemer har dette været gennemført ved at samle nauplier frigivet fra produktionen over 3 dage i selvstændige tanke. Disse er efterfølgende holdt adskilt fra andre kulturer. Typisk er nauplieproduktionen for en nystartet tank begyndt efter 7-10 dage og har været på sit højeste efter 15 dage. Herefter er nauplieproduktionen faldet og har været uhensigtsmæssigt lav efter 25 til 30 dage. Dette er i overensstemmelse med copepoders livscyklus.

Denne metodik er blevet overført og tilpasset det recirkulerede copepodanlæg.

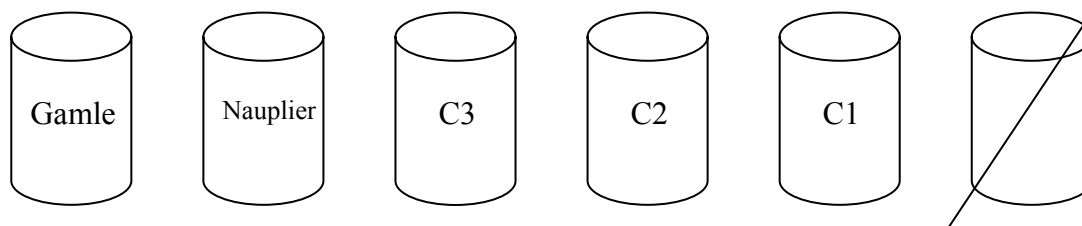
I perioder hvor nauplier ikke skal anvendes og de i stedet skal indgå i produktionssystemet er det hensigtsmæssigt at de overføres til tanke hvorfra de ikke igen vaskes ud til Unikfilteret. Dette sikres ved at en tank identificeres som "Nauplietank" (nauplier). Den daglige produktion af nauplier overføres til nauplietanken som har et 38 µm udløbsfilter monteret (figur 15). Dette hindrer at nauplier vaskes ud af tanken og tilbage til Unikfilteret.

De resterende tanke har betegnelsen copepodit 1 (C1), copepodit 2 (C2), copepod 3 (C3) og "gamle".

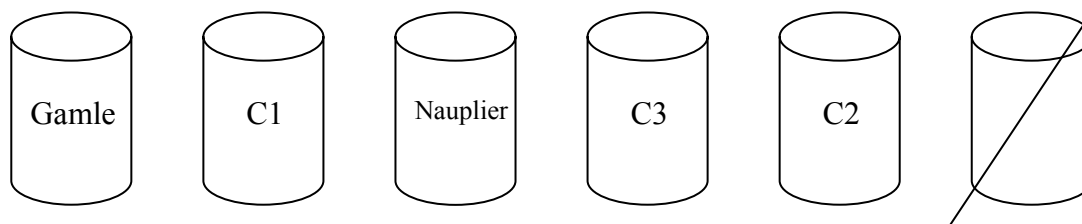
Disse tanks identitet skifter hver uge således at de rykker en tand efter systemet som er illustreret på figur 16.



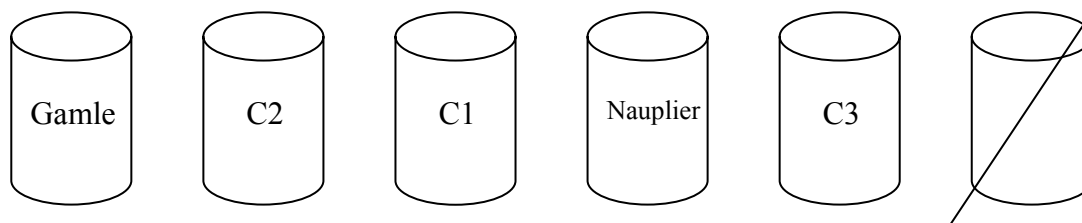
Uge 1



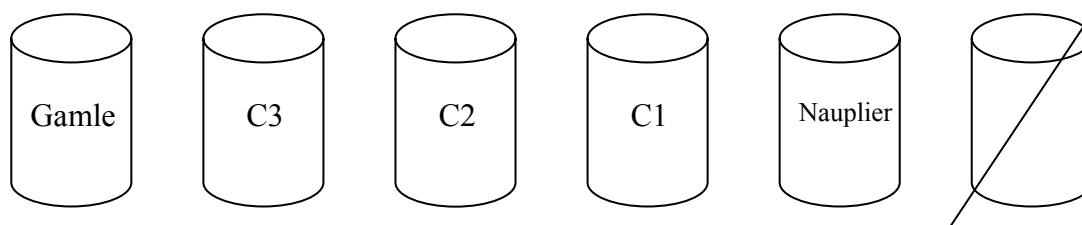
Uge 2



Uge 3



Uge 4



**Figur 16.** Anlæggets rotationssystem illustreret uge for uge.

Tankenes status er defineret ud fra nedenstående kriterier:

Gamle (120 $\mu$ ): Er en fast tank hvor indholdet af C3 kommer i når denne tømmes

Nauplier (38 $\mu$ ): Er den tank hvor indholdet af Unikfilteret kommer i dagligt

C1 (38 $\mu$ ): Er den yngste copepodtank (7-14 dage gamle individer)

C2 (120 $\mu$ ): Er den mellemste copepodtank (14-21 dage gamle individer)

C3 (120 $\mu$ ): Er den ældste copepodtank (21-28 dage gamle individer)

De daglige driftsrutiner inkluderer nedenstående:

Alle dage

- Unikfilterets drift kontrolleres. Skiven skal køre rundt og der skal være overløb ved den sorte manchete
- Flowmetrene kontrolleres – flowet skal ligge indenfor markeringerne
- Er Flowmetrene begroede rengøres disse
- Vandstanden i tankene kontrolleres – stiger denne over udløbet skal filteret op og rengøres
- Unikfilterets første kammer tømmes over i nauplietanken
- Der fodres

En gang om ugen skal tankene skifte status efter nedenstående retningslinier:

- Tanken med C3 copepoder filtreres gennem 38 my filter og indholdet overføres til ”Gamle” tanken
- Tanken med C1 Copepoder filtreres gennem 80 my filter og indholdet returneres til tanken
- Alle Tank ID (undtagen ”Gamle”) skifte ID:
- Nauplier → C1
- C1 → C2
- C2 → C3
- C3 → Nauplier
- Markeringen af nauplietanken flyttes til den nye nauplietank
- Filtrene i De nye Nauplier og C2 tanke ombyttes således at der er 38 my i Nauplie-tanken og 120 my i C2-tanken
- Herefter gennemføres de daglige rutiner

Herved sikres en rullende opdatering af copepodernes fordeling i tankene og anlægget fungerer hensigtsmæssigt på lang sigt.

## Centrale resultater af projektets produktionsforsøg

### ***Anlæggets produktion af nauplier over en sammenhængende 4 måneders periode***

I perioden fra den 6. december 2004 og til 24. april 2005 blev anlæggets produktivitet målt under produktionsforhold, som vil kunne sammenlignes med forhold under en kommercielt baseret produktion.

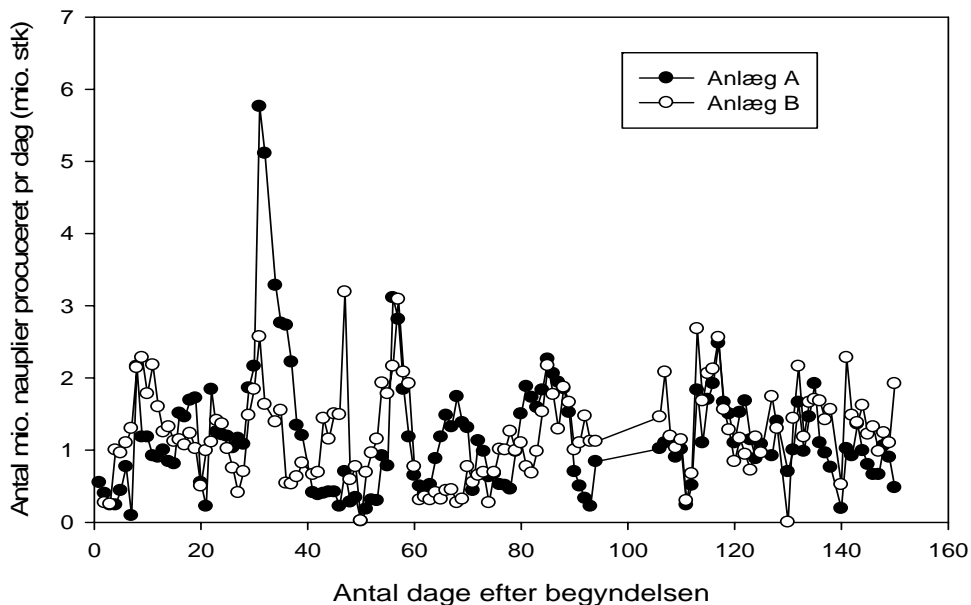
Anlægget blev drevet med ugentlig rotation af størrelsesfraktionerne som beskrevet under kapitlet opdræt af copepoder i biofiltersystem.

Temperaturen i produktionsanlægget lå mellem 18,2 °C og 20,8°C. vandet til anlægget blev filtreret gennem 10 µm patronfiltre og der blev opretholdt et vandskifte på ca. 5 liter i timen for at kompensere for tab af vand fra systemets ventiler. Ydermere blev der ved de daglige tømninger af Unikfilteret tømt omkring 100 liter vand af anlæggene. Dette blev erstattet af vand indeholdende mikroalger fra algeproduktionsanlægget i forbindelse med fodring med disse, efterfulgt af efterfyldning med 0,2 µm vand.

Der blev indfodret 50-70 liter *Rhodomonas salina* mikroalger dagligt i hvert af de 2 anlæg. Algernes koncentration blev målt før indfodring.

Nauplieproduktionen for de to anlæg gennem perioden er vist på figur 17.

Det fremgår at produktiviteten af de to anlæg svinger betydeligt gennem produktionsperioden. En produktion på 1,16 og 1,21 millioner nauplier pr anlæg pr dag bliver opnået som gennemsnitlig produktion af nauplier i perioden.



Figur 17. Antallet af nauplier produceret i produktionsanlægget (anlæg A og B) igennem en fem måneders periode.

Bestanden af copepoder i anlægget er vist i tabel 2. Det var vanskeligt at registrere voksne individer i prøverne. Derfor blev copepoditter og voksne slået sammen under optællingen.

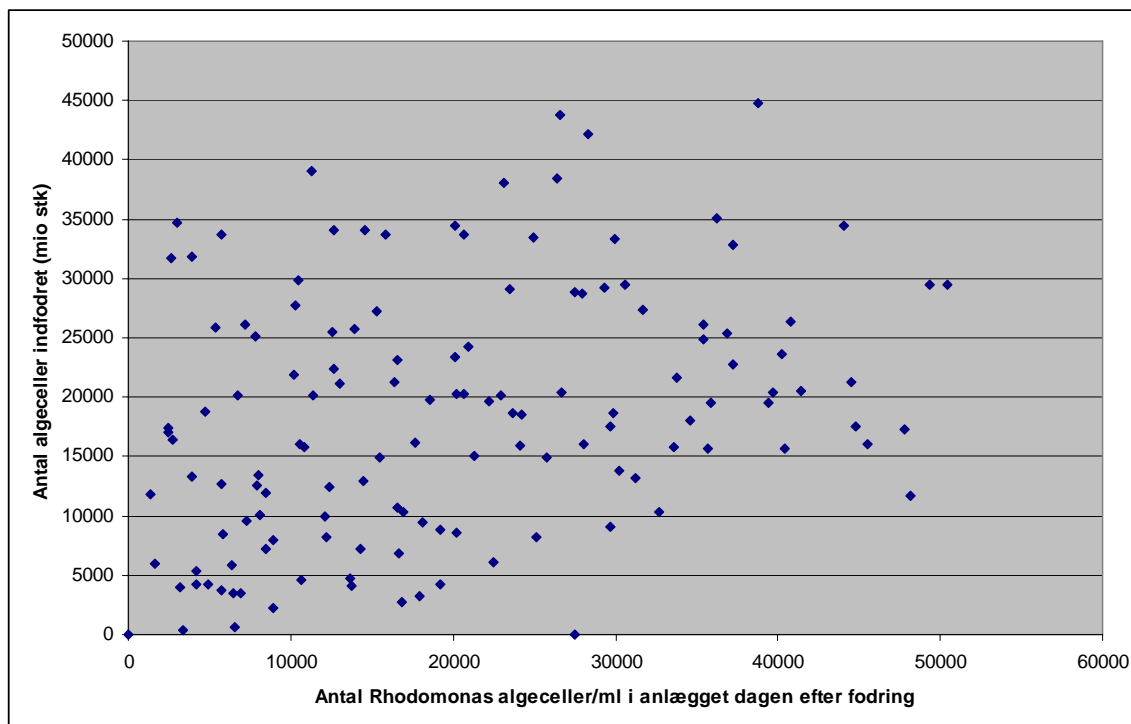
Der er ikke nogen entydig sammenhæng mellem produktionen af nauplier i anlægget og bestandsstørrelsen. Det må formodes at produktionen af nauplier har været påvirket af andre faktorer i anlægget. Senere har det vist sig at anlægget generelt var karakteriseret af fødebegrænsning.

Tabel 2. Bestanden af copepoder i anlægget gennem produktionsforsøget. Den gennemsnitlige produktion af nauplier pr copepod/copepodit er ligeledes opgivet.

Dag nr	Antal copepoder og copepoditter i anlæg A	Antal copepoder og copepoditter i anlæg B	Daglig gennemsnitlig nauplieproduktion pr. copepod/copepodit i de efterfølgende 3 dage (anlæg A).	Daglig gennemsnitlig nauplieproduktion pr. copepod/copepodit i de efterfølgende 3 dage (anlæg B).
1	2350000	2700000	0,17	0,1
23	3910000	3530000	0,31	0,36
54	5750000	6760000	0,12	0,24
92	6640000	6920000	0,07	0,18
131	8400000	7400000	0,14	0,22

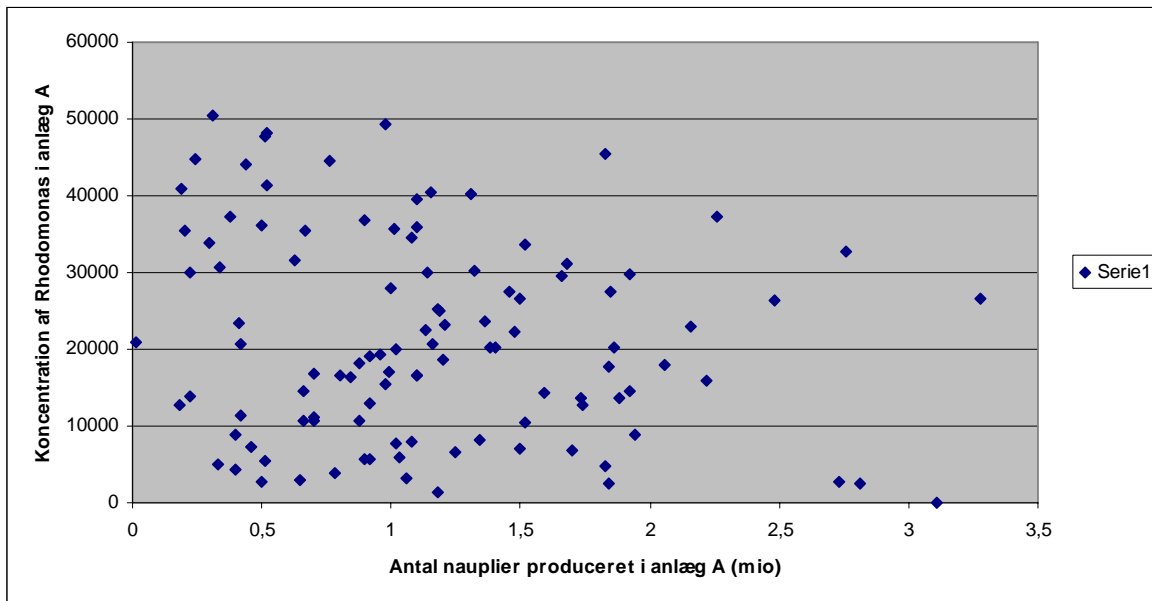
Indfodringen gennem perioden var ikke konstant og var begrundet i algernes varierende koncentration i produktionsposerne (figur 18).

Sammenlignes produktionen af nauplier i de to systemer, ses en sammenhæng mellem de to anlæg. Produktionen af nauplier i de to systemer er til en vis grad statistisk korreleret (Spearman Rank  $r=0,389$ ;  $P=0,000$ ). De to anlæg har altså en form for kobling gennem forsøgsperioden. Dette hænger delvis sammen med at anlæggene er startet op med det samme antal dyr fra samme population. Men der er også en række ydre parametre som er ens for de to anlæg gennem produktionsperioden, herunder temperatur, vandskifte og fodring. Det ville være oplagt at mængden af tilført foder kunne have en sammenhæng med antallet af producerede nauplier.



**Figur 18. Sammenhængen mellem antal celler *Rhodomonas salina* indfodret i produktionsanlægget (Anlæg A) og koncentrationen af *Rhodomonas salina*alger i anlægget den efterfølgende dag.**

En sådan sammenhæng var dog ikke mulig at påvise i produktionsforløbet, idet der ikke var korrelation mellem mængden af foder i vandet til et givent tidspunkt og mængden af nauplier produceret (figur 19). Nauplieproduktionen til et givent tidspunkt hænger sammen med de forhold der har været i perioden op til det pågældende tidspunkt. Det kunne derfor tænkes at nauplieproduktionen hang sammen med den fødekonzentration der havde været i en periode op til tidspunktet hvor nauplieproduktionen blev estimeret. En sådan analyse blev foretaget ved at forskyde fodermængden tidsmæssigt i forhold til nauplieproduktionen og efterfølgende gennemføre en korrelationsanalyse (Spearman Rank), men det var ikke muligt at få en sammenhæng ved forskydninger hhv. 2, 4 eller 6 dage. Det ser derfor ud til, at der ikke er en umiddelbar kortsigtet sammenhæng mellem fodermængden i anlægget og antallet af producerede nauplier for et så langvarigt produktionsforløb.



**Figur 19. Sammenholdelse af koncentrationen af foder i et af produktionsanlæggene gennem en 4 måneders periode og antallet af nauplier produceret i perioden.**

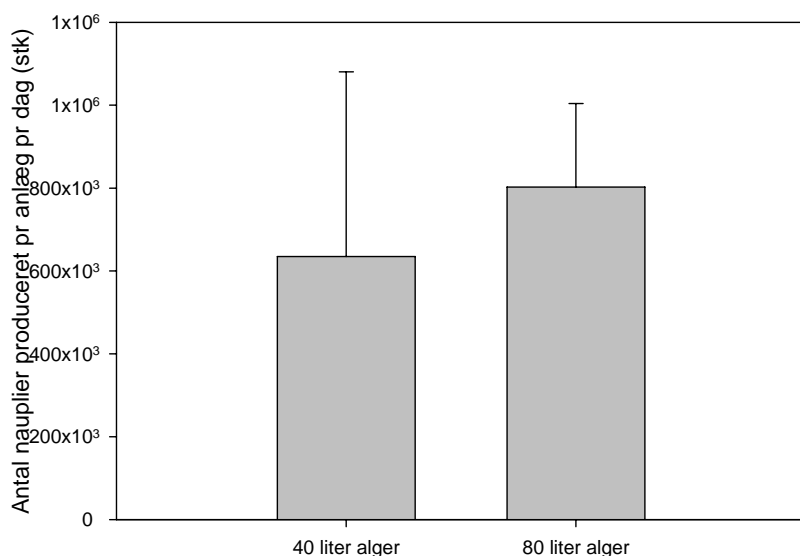
Den manglende sammenhæng mellem indfodring og nauplieproduktion kan skyldes de fluktuerende forhold i produktionsanlægget gennem produktionsperioden. En væsentlig årsag til disse fluktuationer er givetvis protozoer. Protozoer er hurtigt reproducerende opportunistiske organismer som i løbet af kort tid kan blomstre op i produktionsanlægget og reducere algemængden i vandet dramatisk. Herefter fødebegrænses protozoerne og antallet reduceres hurtigt. Et så langvarigt produktionsforløb som 5 måneder vil kendetegnes ved et succesionsforløb af forskellige arter protozoer som blomster op og dør ud igen. Dette komplicerer analysen af ovennævnte data, idet der er en faktor inde i billedet, som har stor betydning for de målte parametre uden selv at være blevet registreret kvantitativt.

Konklusionen på ovennævnte forsøg var derfor at det var nødvendigt at gennemføre en række mere kontrollerede forsøg hvor færre faktorer kunne indvirke på resultaterne. Kun herved ville det blive muligt at kvantificere effekter af manipulationer af systemet.

### **Effekt af øget indfodring på nauplieproduktionen**

De to anlæg blev indledningsvis tømt og alle copepoder fordelt ligeligt i de to anlæg. Efterfølgende blev de to anlæg i en periode på 2 måneder fodret med 2 forskellige mængder foder. Foderet var *Rhodomonas salina* som blev dyrket i 70 liters posekulturer og høstet umiddelbart før udfodringen til copepoderne. Der blev ikke fodret konstant antal alger gennem perioden. Algeanlæggets produktion af mikroalger var fluktuerende. Der blev høstet 120 liter alger; 40 liter blev overført til anlæg A og 80 liter til anlæg B. Anlæg B blev med andre ord tilført dobbelt så mange alger som anlæg A. Effekten på nauplieproduktionen var ikke signifikant. Den daglige produktion af nauplier fluktuerede kraftigt gennem forsøgsperioden. Ved at sammenholde den gennemsnitlige daglige nauplieproduktion for de to anlæg gennem forsøgsperioden (figur 20), sås en tendens til at den øgede indfodring gav en øget nauplieproduktion, uden at dette var statistisk signifikant grundet de store udsving fra dag til dag. Under forsøget blev det helt typiske forløb med ciliatopblomstring konstateret, og det er sandsynligt at dette har hindret nauplieproduktionen i at korrele med

fødemængden, idet ciliaterne har været konkurrenter til de indfodrede alger. Resultatet viser at det ikke er realistisk at kompensere for ciliaternes tilstedeværelse ved at øge indfodringen.



**Figur 20. Effekt af forøgelse af den indfodrede mængde *Rhodomonas* mikroalger til dobbelt ration på nauplieproduktionen over en periode på to måneder.**

### **Effekt af fodersupplement i form af fiskefoder**

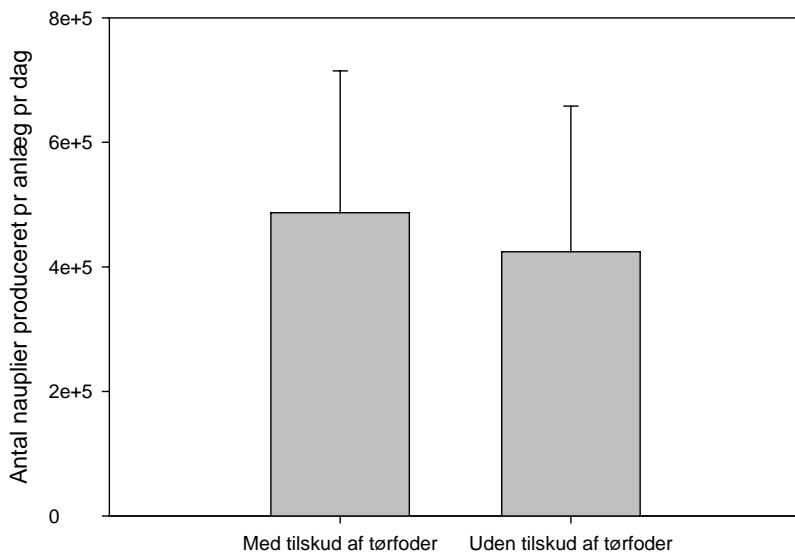
Tidligere har der været gode erfaringer med anvendelse af tilskudsfoder i form af fiskefoder til produktion af harpacticoide copepoder. Forsøgene indikerede at 0,2 gram fiskefoder pr 30 liters copepodtank lige efter vandskifte, dvs. hver 3 eller 4 dag havde positiv effekt på nauplieproduktionen.

Med henblik på at efterprøve dette blev algerne i forsøgsanlægget suppleret med 2 gram fiskefoder i det ene anlæg i en periode på 3 uger. Det anvendte foder var EWOS Aglonorse No. 1 (foder til marine fiskeyngel). Foderet er meget finkornet (partikelstørrelse på 400-600  $\mu\text{m}$ ) Begge anlæg blev fodret med 70 liter *Rhodomonas salina* mikroalger pr. dag.

Forsøget viste ingen positiv effekt af anvendelse af fiskefoder som tilskud til copepoderne (figur 21). Det blev konstateret at tankene tilført fiskefoder, ved choktømning havde en dårlig lugt.

Tilsyneladende sank størsteparten af fiskefoderet gennem biofiltrene og samledes i tankenes koniske bund hvor de forsagede forringet vandkvalitet.

Dette understreger de u hensigtsmæssige følgevirkninger som fodring med inert foder kan have frem for anvendelse af levende foder.



**Figur 21. Effekt af supplement med fiskefoder til produktionstankene på nauplieproduktionen over en 3 ugers periode.**

### **Effekt af rengøring af anlæg i ferskvand en gang ugentligt**

Anlæggene blev regelmæssigt rengjort med henblik på at fjerne sedimenteret materiale og eliminere indtrængende organismer. Rengøringen foregik ved at de 6 produktionstanke blev tømt, indholdet blev filtreret gennem planktonduge og de tilbageholdte copepoder blev overført til spande under den resterende del af rengøringen. Produktionstanke og disses filterelementer, Unikfiltre, udløbsreservoirer, højdetanke og rørsystemer blev rengjort og skyllet med ferskvand. Det viste sig at anlæggene skiftede karakter den første uges tid efter en sådan rengøring. Efter at et anlæg var rengjort forblev koncentrationen af mikroalger relativt høj efter indfodring. Vandet var så rødfarvet af mikroalger efter 24 timer, at reduceret indfodring var nødvendig. Efter bare få dage var vandet klart efter 24 timer på trods af fuld indfodring. Efter yderligere få dage klarede vandet op få timer efter indfodring, hvorefter vandet var klart og algeindholdet meget lavt frem til næste indfodring, givetvis grundet antallet af protozoer i vandet som steg dramatisk igennem forløbet.

Vask af anlægget i ferskvand viste sig at være et effektivt middel til opretholdelse af algekoncentrationen i anlægget mellem fodringer. Der blev gennemført et forsøg til belysning af denne effekt. Anlæggene blev tømt og copepoderne isoleret i spande. Forsøget skulle gennemføres med adskilte stadier i anlægget som beskrevet i afsnittet ”drift af produktionssystemet”. Antallet af nauplier i anlæggenes produktionstanke blev estimeret til hhv. 1,14 og 0,95 millioner.

Produktionstankene indeholdt forskellige stadier af copepoder, og det var derfor ikke muligt at generere standardafvigelser på disse estimer, men antallet af nauplier var statistisk ens mellem anlæggene i 4 ud af 5 par tanke og i det sidste par tanke var de næsten statistisk ens.

Anlæg A blev tømt helt og vasket i ferskvand som beskrevet herover. For anlæg B's vedkommende blev produktionstankene og Unikfilteret tømt og skyllet i saltvand. I den resterende del af anlæggets tanke og rør forblev vandet urørt. Copepoderne blev ført tilbage i anlæggenes produktionstanke og anlæggene fyldt op med saltvand.

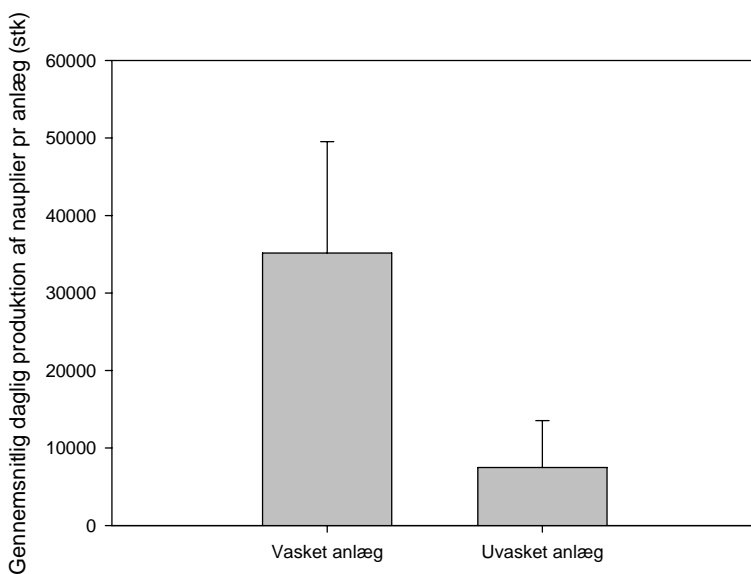
I 7 efterfølgende dage blev anlæggene fodret ens med omkring 70 liter *Rhodomonas salina* pr. dag. Nauplieproduktionen blev estimeret dagligt og var signifikant forskellig i de to anlæg (figur 22).

Efter 7 dage blev anlæggenes produktionstanke igen tørt. Antallet af nauplier i de to anlægs produktionstanke var nu forskelligt i 3 ud af de 5 par produktionstanke idet de var højst i anlæg A som var vasket. I alt var der 878.000 nauplier produktionstankene i anlæg A og 504.000 nauplier i produktionstankene i anlæg B. Dette understreger effekten af vask med ferskvand.

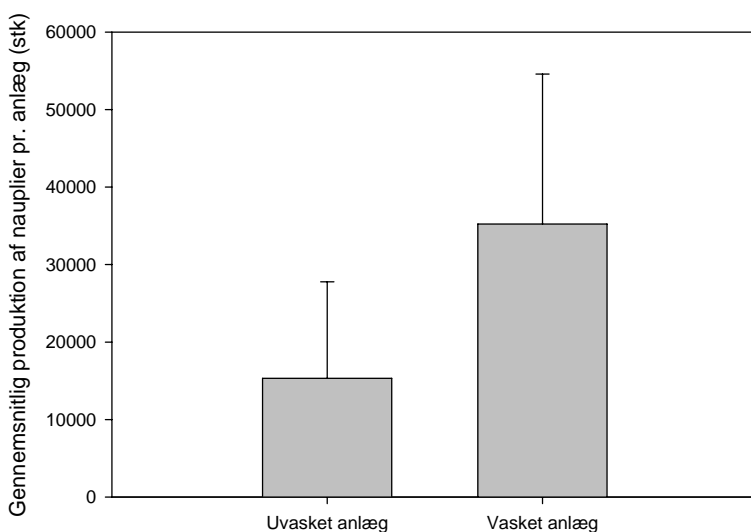
Anlæg B blev nu vasket i ferskvand og efterfølgende blev copepoderne fordelt ligeligt i anlæg A og anlæg B. Der var nu signifikant ens antal nauplier i alle par produktionstanke med samme udviklingsstadier.

Nauplieproduktionen i de efterfølgende 8 dage blev nu registeret dagligt og der blev denne gang konstateret en tendens til højere produktion af nauplier i anlæg B, som var det vaskede anlæg (figur 23). Denne effekt var dog ikke statistisk signifikant.

I produktionstankene efter forsøgets afslutning var antallet af nauplier statistisk signifikant højere i det vaskede anlæg i 2 ud af de 5 par tanke.



**Figur 22. Effekt af vask af anlæg på nauplieproduktionen i den efterfølgende uge. Eksperimentets første uge hvor anlæg B blev vasket**



**Figur 23. Effekt af vask af anlæg på nauplieproduktionen i den efterfølgende uge. Eksperimentets anden uge hvor anlæg a blev vasket.**

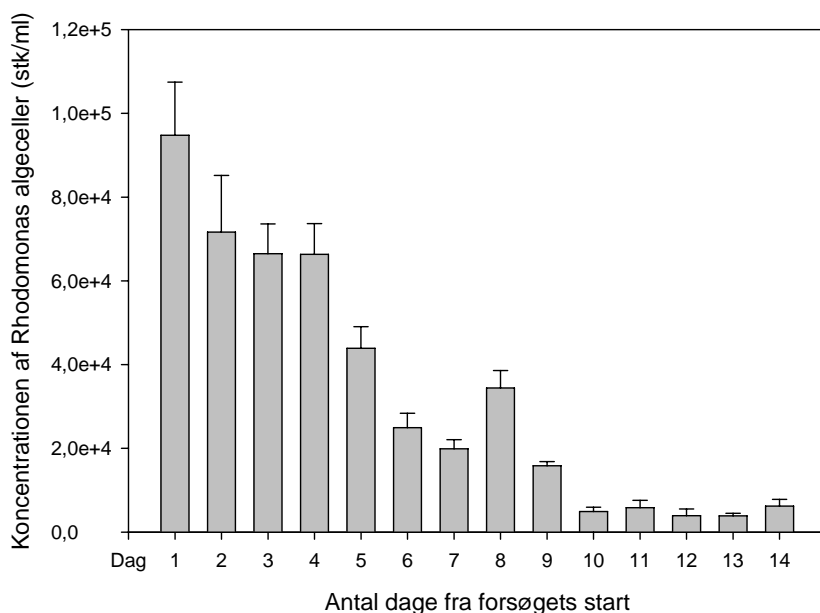


Konklusionen på ovennævnte forsøg er, at der er en vis effekt af vask med ferskvand, selv om det kun i den første uge viste sig at være en signifikant effekt.

Effekten viste sig allerede efter det første døgn i den første uge, hvorimod der gik 3 dage før der var en effekt at se i den anden uge. Dette kan tyde på en ”nedarvet” forskel på de to anlæg. Forskellen kunne ligge i forskellige forhold i de to anlæg i ugerne op til forsøget. Den hurtige effekt af vask på copepodernes reproduktion indikerer at copepoderne responderer hurtigt på gunstige miljøer ved at øge frigivelse og produktion af nauplier.

### **Protozoer i produktionsanlægget**

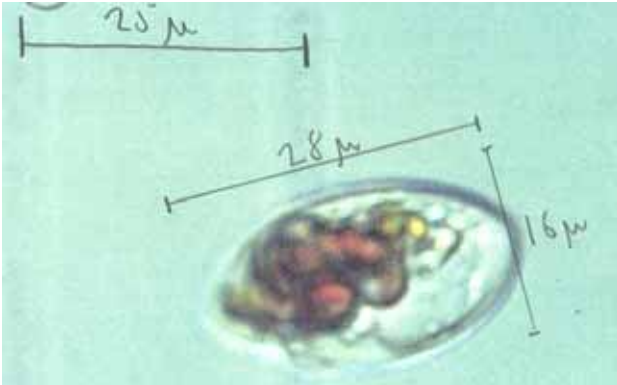
Et tilbagevendende problem for produktionsanlægget var opformeringen af protozoer. Protozoerne vil ved kontinuerlig drift af anlægget hurtigt opformeres. Protozoer lever af mikroalger og konkurrerer derfor med copepoderne om føden i anlægget. Et eksempel på udviklingen af algekoncentrationen i anlægget gennem 14 dage er illustreret i figur 24. Indfodringen til anlægget var konstant, men allerede fra dag 2 aftog mængden af alger i anlægget fra dag til dag. Efter 10 dage var der kun omkring 5 % af foderet tilbage i anlægget efter 24 timer sammenlignet med dag 1. Der blev adskillige gange registreret over 3000 protozoer/ml i anlæggene



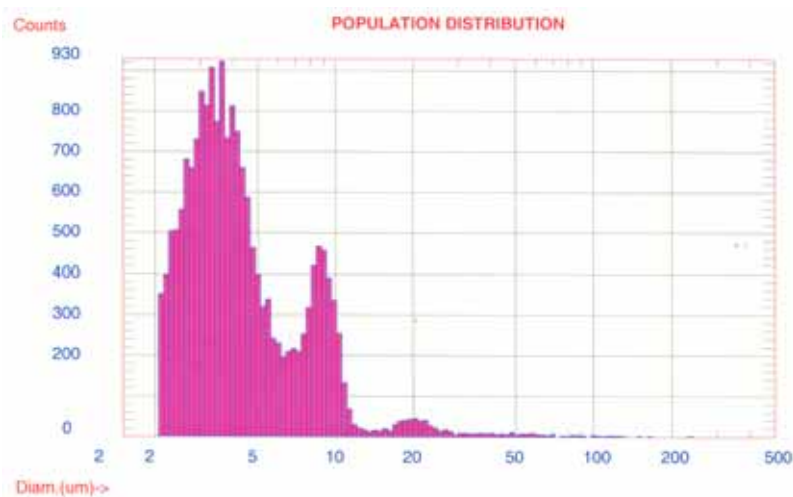
**Figur 24. Koncentrationen af Rhodomonas mikroalger i produktionsanlægget efter ferskvandsvask af anlægget. Indfodringen var konstant gennem perioden. Algekoncentrationen blev målt ca. 24 timer efter udfodring.**

Protozoen som dominerede anlægget i det pågældende eksempel var ca. 28  $\mu\text{m}$  lang og 16  $\mu\text{m}$  i bredden. Den var tydelig på partikeltællerens størrelsesfordeling idet den her figurerede med en top ved omkring 20  $\mu\text{m}$  (figur 26).

Protozoer var at finde i anlægget under alle driftsforhold. Der blev gennemført en række tiltag til reduktion af protozoer i anlægget, Filtrering af vandet til 20  $\mu\text{m}$  i Unikfiltreret var en af løsningerne. Dette var også i stand til at udkonkurrere større protozoer, men ikke den lille som er illustreret på figur 25.

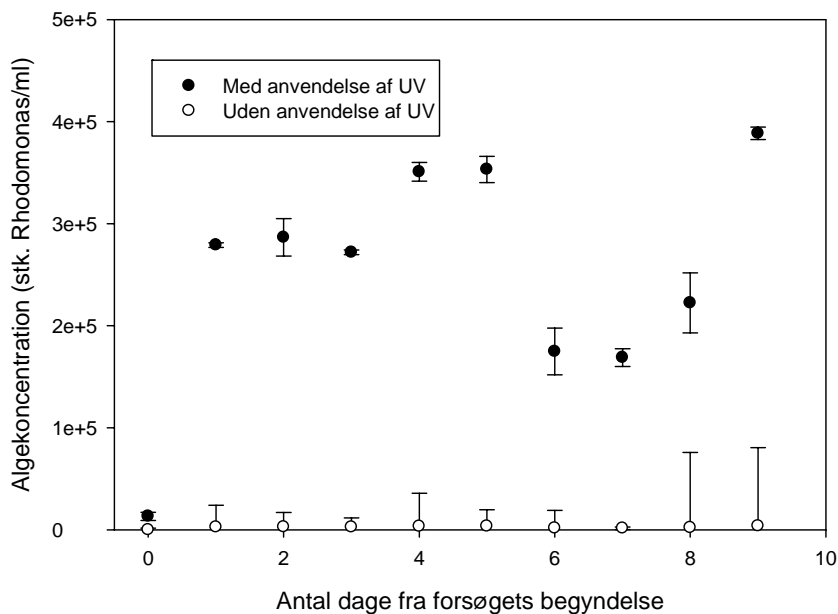


**Figur 25. Protozo registreret i anlægget efter at anlægget i en periode havde opereret med en 20  $\mu$ m dug monteret i Unikfilteret, med henblik på at reducere antallet af protozoer i anlægget.**



**Figur 26. Størrelsesfordeling af planteplankton i produktionsanlægget. Toppen omkring 10  $\mu$ m repræsenterer De indfodrede *Rhodomonas* mikroalger og toppen omkring 20  $\mu$ m repræsenterer den indtrængende protozo som er illustreret på figur 25.**

En effektiv måde at eliminere protozoer på, er anvendelse af UV lys. Dette har dog den ulempe at også mikroalgerne som er copepodernes foder bliver hårdt ramt af anvendelse af UV lys i anlægget. Et forsøg med anvendelse af UV lys i et af anlæggene viste, at selv om udgangspunktet var et ferskvandsvasket anlæg var UV anlægget i stand til at eliminere effekten af fodring allerede inden for det første døgn (Figur 27). Målingerne af antallet af mikroalger i vandet blev foretaget dagen efter indfodringen; lige før den nye indfodring. Der har derfor været mikroalger i vandet i anlæg A i en periode efter introduktion af alger i vandet. Det er dog også tydeligt, at der ikke er alger af betydning i vandet efter 24 timer. Dette er ikke hensigtsmæssigt hvis udgiften til produktion af mikroalger skal tages med i betragtning.

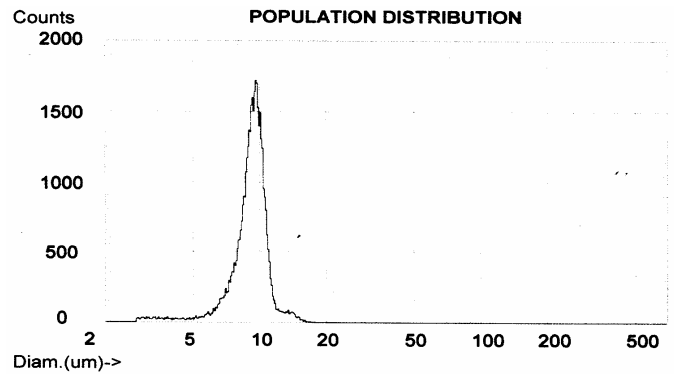


Figur 27. Koncentrationen af mikroalger (*Rhodomonas*) hhv. ved anvendelse af UV lys eller uden anvendelse af UV lys.

## Kvantificering af plankton med fokus på copepoder vha. optisk partikeltæller

Som beskrevet i afsnittet vedrørende copepoders biologi, gennemløber en copepod en række udviklingsstadier fra æg over 6 nauplie- og 5 copepoditstadier til voksent individ. Dette udviklingsforløb sker over 10-15 dage. Estimationen af produktionssystemets reaktion på påvirkninger/behandlinger kompliceres herved, idet der opstår en tidsforskydning i årsag-effekt sammenhængen.

Det er muligt vha. stereolup at kvantificere en prøves størrelsessammensætning, men det er en særdeles tidskrævende øvelse som ikke skønnes realistisk at gennemføre inden for projektets rammer. DTU råder over en optisk partikeltæller som er i stand til at levere en størrelsesfordeling af partikler i f.eks. en 10 ml vandprøve på mellem 2 og 800  $\mu\text{m}$  i løbet af ca. 30 sekunder (Figur 28). Som det fremgår af figur 28 kvantificerer partikeltælleren antallet af partikler i en række diskrete størrelsesgrupper og er herved et stærkt og hurtigt redskab til sådanne analyser.



**Figur 28.** Viser den optiske partikeltæller (tv) og en størrelsesfordelingskurve (th) fra en *Rhodomonas* mikroalgekultur.

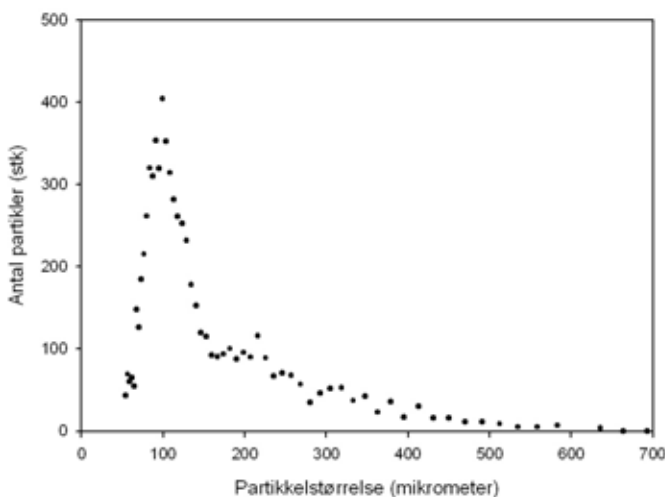
Partikeltælleren vurderedes at kunne danne grundlag for en kvantificering af prøver af copepoder og bidrage med en størrelsesfordelingen af individerne. Størrelsesfordelingen kunne konverteres til en fordeling af stadierne af copepoderne og dette ville gøre det muligt at gennemføre et betydeligt prøvetagningsprogram i kulturene med henblik på en belysning af de mekanismer som er af betydning for produktionssystemets drift og produktion af nauplier.

Det viste sig på et tidligt tidspunkt at kvantificeringen af copepoder vha. partikeltælleren var forbundet med vanskeligheder.

Dette skyldes dels at partikeltælleren er bedst egnet til sfæriske partikler. Copepoder er alt andet en sfæriske (figur 8). Især copepoditter og voksne individer er langstrakte og forsynet med halenokker, antenner med setae og 6 par ben.

Dette førte til at orienteringen og adfærden hos copepoderne påvirkede de størrelsesestimater som partikeltælleren leverede. Størrelsesfordelingen blev derfor ikke så nuanceret som forventet.

En prøve copepoder som var rensset for størstedelen af fremmed partikulært materiale dannede grundlag for et forsøg på karakterisering af copepodernes størrelsesfordeling (figur 29).

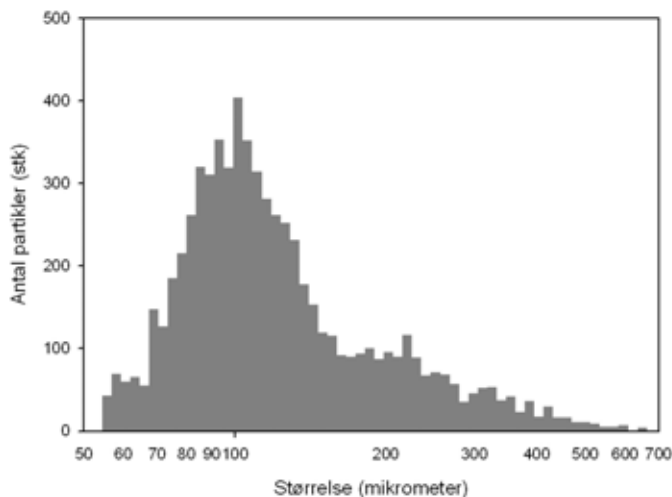


**Figur 29.** Størrelsesfordeling af en prøve oprensede copepoder.

Af figur 29 fremgår det, at der er en stor gruppe partikler med en størrelse på omkring 100  $\mu\text{m}$ . Denne gruppe repræsenterer naupliestadierne som antalsmæssigt var dominerende i prøven. Naupliestadie 1 har en længde på 76  $\mu\text{m}$  til 80  $\mu\text{m}$  og en bredde på mellem 64  $\mu\text{m}$  og 74  $\mu\text{m}$  (Park

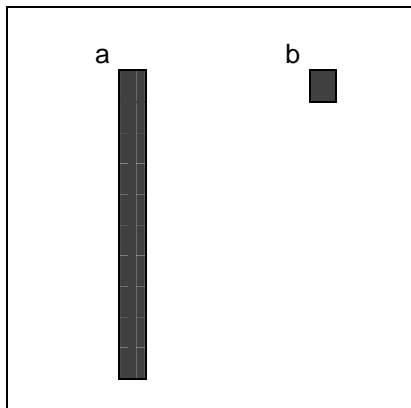
1976). Nauplietstadiet 6 har en længde på 190  $\mu\text{m}$  og 199  $\mu\text{m}$  og en bredde på mellem 137  $\mu\text{m}$  og 140  $\mu\text{m}$  (Park 1976).

Disse størrelser svarer fint til den højeste top i størrelsesfordelingerne i figur 29 og figur 30. Dette hænger givetvis sammen med naupliernes relativt runde form (figur 8).



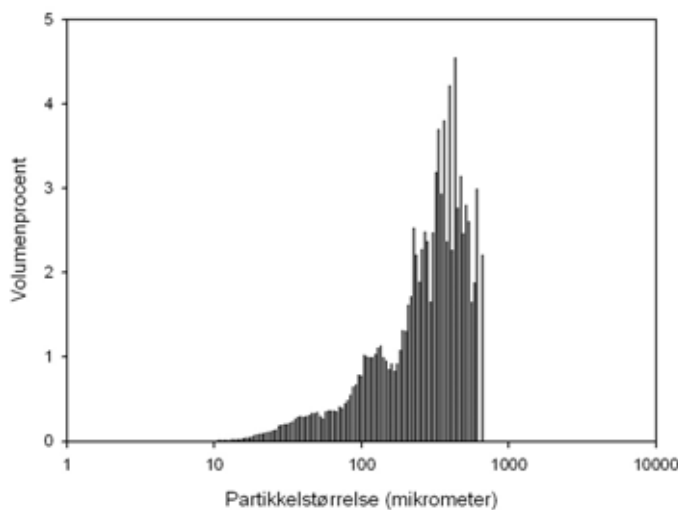
Figur 30. Samme størrelsesfordeling som ovennævnte figur med en anden opløsning af x-aksen.

Kurveforløbet på figur 30 for partikelstørrelser over ca. 120  $\mu\text{m}$  repræsenterer copepoditter og voksne stadier af copepoder med og uden ægsække. Copepoditstadiet 1 har en kropslængde på mellem 270 og 295  $\mu\text{m}$  (Park 1976). De efterfølgende 4 copepoditstadier bliver gradvis længere og det største stadium er den voksne hun med en kropslængde på mellem 897  $\mu\text{m}$  og 967  $\mu\text{m}$  (Park 1976). Hertil skal for ægbærende hunner lægges en ægsæk med en længde på omkring 200  $\mu\text{m}$ . Copepodit og voksne stadier er kendetegnet ved at være langstrakte. Eksempelvis har copepoditstadiet 5 en gennemsnitslængde på 540  $\mu\text{m}$  og en kropsbredde på kun 213  $\mu\text{m}$ . Denne langstrakte form vanskeliggør tolkningen af data idet copepodens orientering, idet den passerer gennem partikeltællerens sensor afgør hvor stor en partikel den registreres som. Dette er illustreret i en forsimplet form i figur 31, hvor en meget forsimplet copepod (en pind) passerer partikeltællerens sensor hhv. med siden mod sensoren eller med enden mod sensoren. Arealet af pinden vil i tilfælde a blive registreret som 10 enheder hvorimod arealet af b vil blive registreret som 1 enhed. Eftersom partikeltælleren omregner partiklernes areal til diameteren på en sfære, vil diameteren i tilfælde a blive 3,47 enheder og diameteren i tilfælde b vil diameteren blive 1,13 enheder. Dette indebærer at den selv samme pind vil kunne registreres indenfor et størrelsesinterval som strækker sig over 316% af den mindst mulige størrelse. Formen vil ofte registreres et sted imellem yderpunkterne. Antallet af tællinger af de forskellige orienteringer vil være ens og vil afhænge af opløsningen af partikeltællerens kanaler. Kanalerne repræsenterer ikke en lineær opløsning, men en logaritmisk. Dette kan ses på figur 29, hvor x-aksen er logaritmisk og kanalerne er ligeligt fordelt på aksens. Dette indebærer at små partikler registreres med en finere opløsning end større partikler.



**Figur 31.** Forenklet illustration af en aflang form (en pind) som passerer partikeltællerens sensor hhv. med siden til sensoren (a), eller med enden mod sensoren (b).

Vises datamaterialet fra ovenstående fordelinger som volumenprocent af den samlede mængde partikler, vil de store partikler vægte tungere end de små partikler (figur 32). I tilfældet som er illustreret i figur 32 fremgår det at toppen omkring 100  $\mu\text{m}$  repræsenterende nauplierne stadig er tydelig, men at de voksne stadier nu fylder væsentligt mere (toppen fra omkring 120  $\mu\text{m}$  til 800  $\mu\text{m}$ ).



**Figur 32.** Samme datamateriale som i ovennævnte figur, men med volumenprocent på y-aksen.

Illustreres antallet af partikler som funktion af partikelstørrelsen på en lineær x-akse (figur 29) fremgår det at figuren illustrerer de større individer mere nuanceret. Det er copepoditterne og de voksne individer som ses fra ca. 150  $\mu\text{m}$  og til 700  $\mu\text{m}$ . Forløbet af figuren fra 170  $\mu\text{m}$  til 700  $\mu\text{m}$  på figur 29 er interessant, idet det repræsenterer copepoditterne og copepoderne. Tolkning af kurven med henblik på en kvantificering af størrelsessammensætningen af prøven er ikke helt trivial. Dette skyldes primært at individernes form afviger fra sfærer. Dette gør at hvert udviklingsstadium kan repræsenteres indenfor et størrelsesområde afhængigt af individets orientering, idet det passerede partikeltællerens sensor.

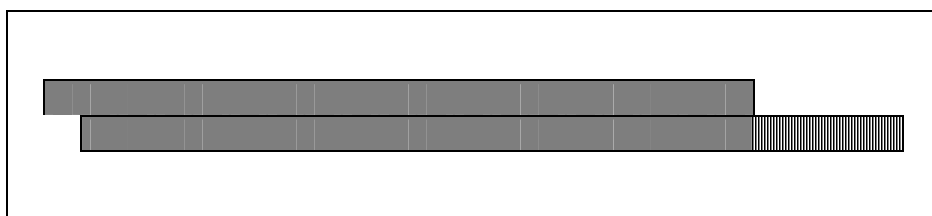
En voksen hun har en længde på 929  $\mu\text{m}$  og en Thoraxbredde på 381  $\mu\text{m}$  (Park 1976). Hvis det forudsættes at et voksent individ har form som en cylinder vil arealet omregnet til sfærediameter ligge mellem 430  $\mu\text{m}$  og 671  $\mu\text{m}$  afhængigt af hvorledes individet var orienteret i sensoren (figur 31; tabel 3).

**Tabel 3. Kroplængder og bredder af copepoditstadiet 1-5 samt voksen han og hun. Data fra Park (1976). Største og mindste sferediameter er beregnet ud fra en forudsætning om at copepodernes kroppe er cylindriske.**

Stadie (copepodit)	1	2	3	4	5	Han	Hun
Kropslængde ( $\mu\text{m}$ )	283	317	371	498	550	640	929
Kroppsbredde ( $\mu\text{m}$ )	162	169	189	220	224	300	381
Mindste sfære $\Phi$ ( $\mu\text{m}$ )	182	190	213	248	253	339	430
Største sfære $\Phi$ ( $\mu\text{m}$ )	242	261	299	374	396	494	671

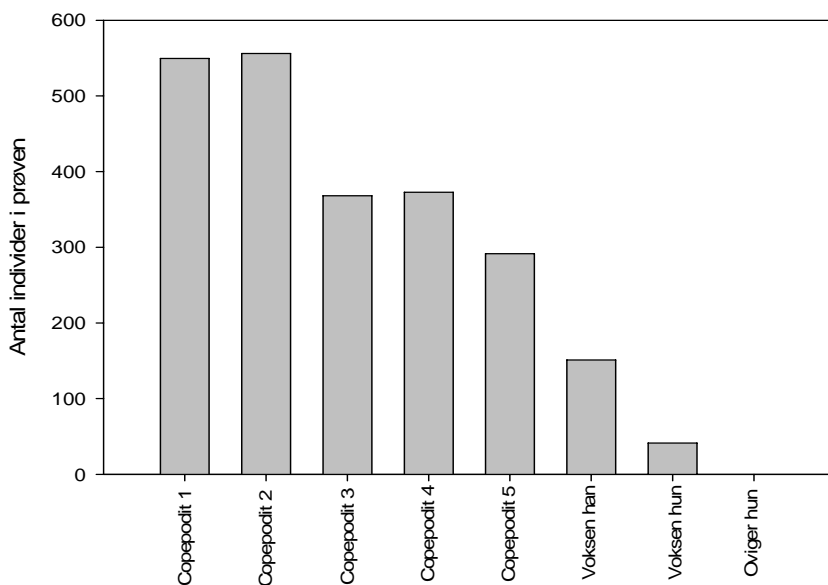
Der er et betydeligt overlap mellem sferestørrelserne for de forskellige stadier (tabel 3). Overlappets størrelse kan ikke kvantificeres for den nedre del af copepodernes repræsentation på kurven (figur 29 omkring 150-180  $\mu\text{m}$ ) idet nauplierne her lapper ind over kurveforløbet. Kurvens forløb i højre side af kurven (figur 29) fra ca. 200  $\mu\text{m}$  og op til 700  $\mu\text{m}$  repræsenterer copepoditter og voksenstadier. For hvert stadium er der en unik størrelsessekvens som repræsenterer netop dette stadium (det lodret linierede område på figur 33). Dette område registreres af et antal kanaler i partikeltællerens software. For copepoditstadium 4 vil det være 5 kanaler. Men da copepoditstadium 4 totalt repræsenteres af 9 kanaler (hele den nederste bjælke på figur 33) vil antallet af copepoditstadium 4 i prøven være:

$$\text{Antal copepoditstadium 4} = \frac{\text{Totalt antal kanaler som registrerer copepoditstadium 4}}{\text{Antal kanaler som kun registrerer copepoditstadium 4}}$$



**Figur 33. Skematisk illustration af 2 stadier af copepoditters repræsentation på størrelsesfordelingen. Øverste bjælke repræsenterer f.eks. copepoditstadium 3 og nederste bjælke copepoditstadium 4. Den del af nederste bjælke som er markeret med lodrette linier er unik for copepodstadium 4 og kan anvendes i kvantificering af størrelsesfordelingen af populationen.**

Gentages disse estimater for samtlige stadier af copepoditter og copepoder vil nedenstående figur baseret på samme datamateriale som figur 29 være resultatet.



**Figur 34. Størrelsesfordelingern af stadier af copepoditter, voksne og ægbærende hunner (oviger) i prøven repræsenteret på figur 29.**

En kvantificering af antal individer af de forskellige stadier i en ren prøve copepoder uden fremmedlegemer kan med andre ord lade sig gøre. Det viser sig i praksis at prøvematerialet fra en copepodkultur ikke kun består af copepoder, men at der uanset prøvetagningsprocedure er et stort antal partikler indenfor det pågældende størrelsesinterval som bliver registreret som copepoder, og som derfor fungerer som støj i datamaterialet. Dette forringer kvantificeringen af copepoderne og deres størrelsesfordeling i en sådan grad, at det ikke vil være muligt at anvende resultaterne efterfølgende.

Der blev lagt et betydeligt stykke arbejde i at forstå mekanismerne bag denne prøvetagning og kvantificering vha. optisk partikeltæller, og der blev gennemført en række forsøg med oprensning af prøvematerialet, med henblik på efterfølgende at kunne gennemføre valide kvantificeringer af materialet. Dette er beskrevet i resumeret form herunder og i mere detaljeret form i Appendix 1.

### **Oprensning af copdpoder vha sedimentation**

Copepoderne skifter skal ca. en gang i døgnet. Skallerne falder helt eller delvis fra hinanden og der vil i løbet af få ugers drift af en copepodkultur forefindes et betydeligt antal løse skalfragmenter i kulturen.

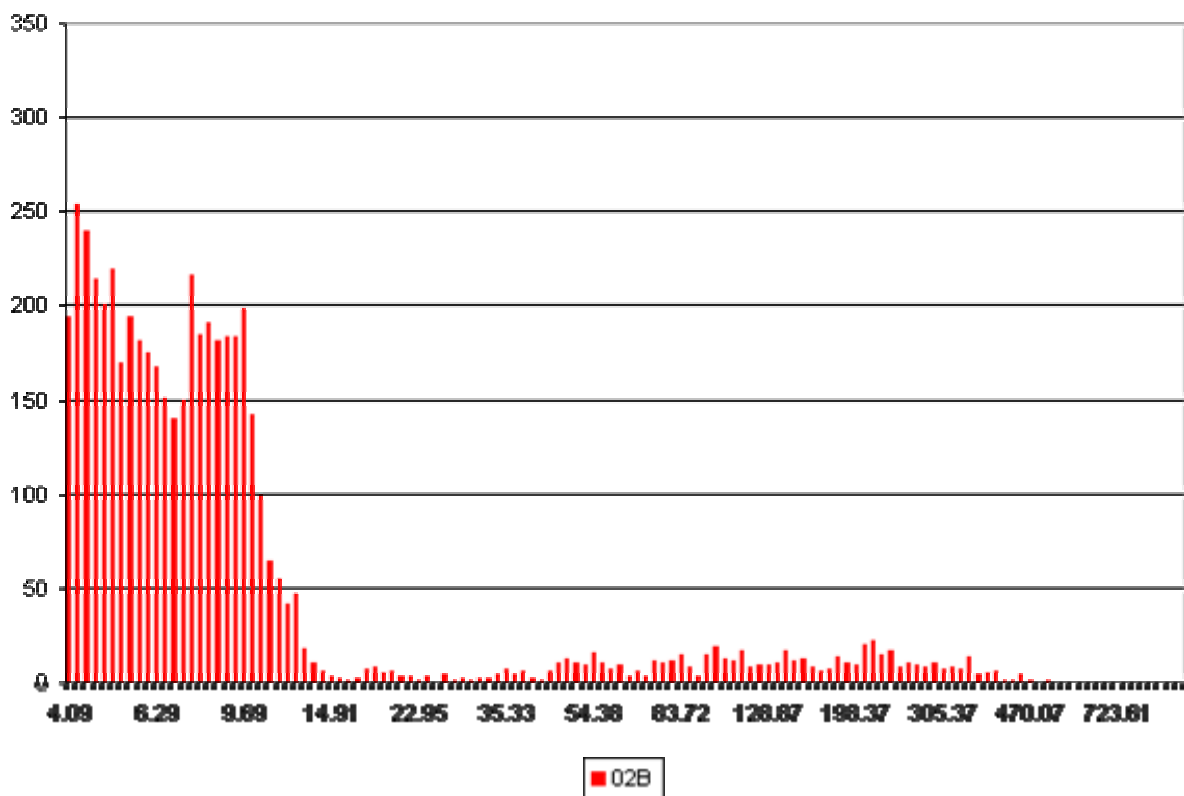
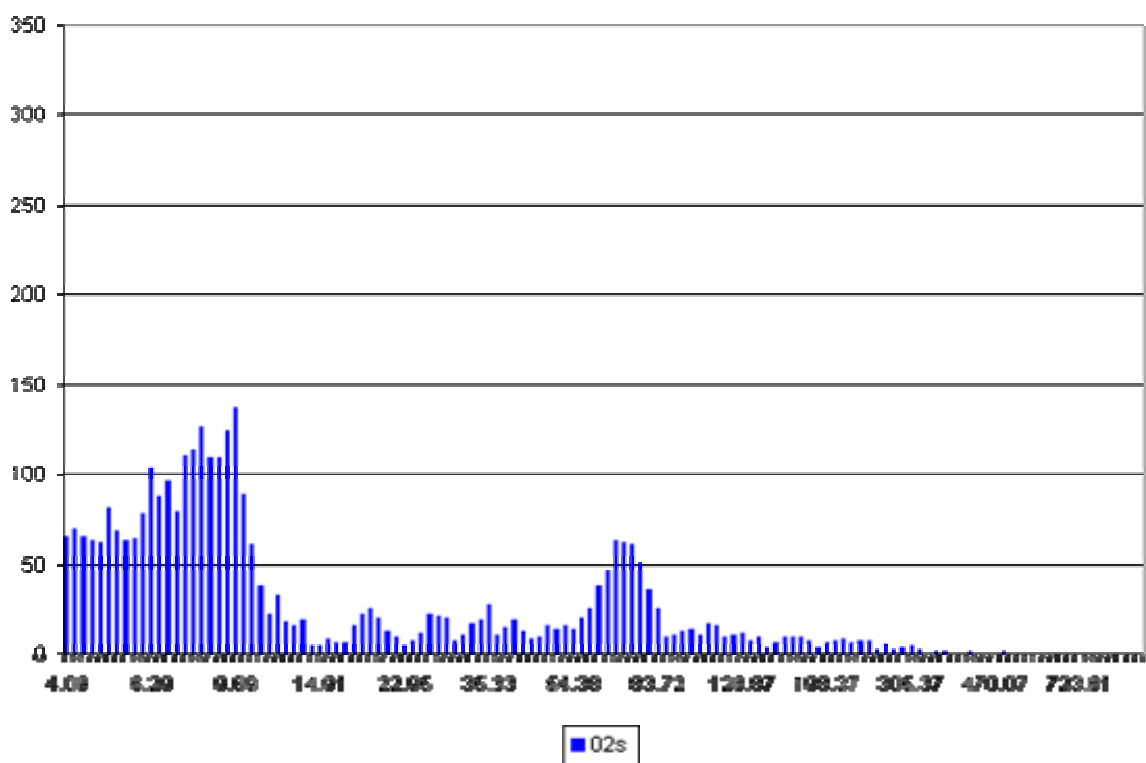
Copepoderne evner at bevæge sig i vandsøjlen, hvorimod skalfragmenterne synker passivt mod bunden. Dette blev forsøgt udnyttet til en oprensning af prøverne ved at lade copepodprøver henstå i et tidsrum før analyse på partikeltælleren.

Figur 35 og 36 viser et udpluk af et sådant forsøg, hvor det blev undersøgt om henstand af prøven resulterede i oprensning, således at prøven kunne registreres i partikeltælleren som kvantitativ estimering af antal copepoder og disses størrelsesfordeling.

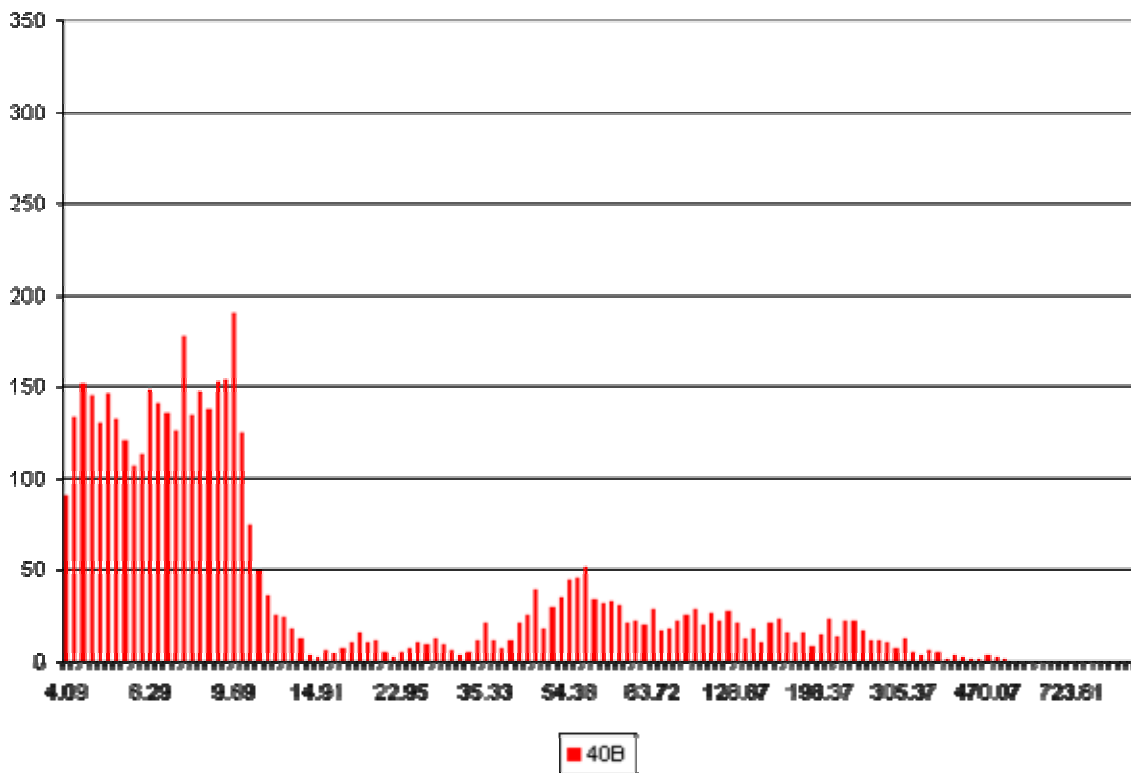
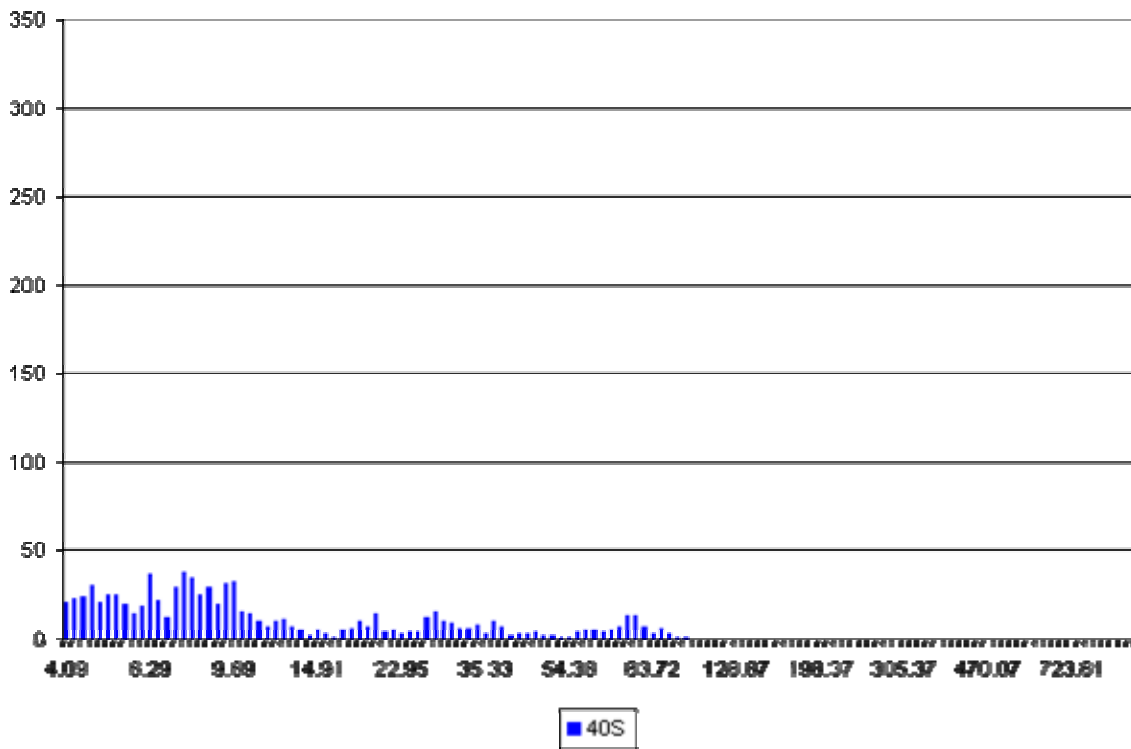
Figur 35 viser prøven efter 2 minutters henstand og figur 36 efter 40 minutters henstand.

Konklusionen på studiet var at prøven ikke kunne oprenses tilstrækkeligt effektivt ved den afprøvede metode (se Appendix 1 for nærmere diskussion af resultaterne).





Figur 35. Tisbe kultur oprenset ved henstand i 2 minutter og derefter yderligere oprenset ved at fjerne 70 % af supernatanten efter 30 minutter ved henstand (gentaget 6x). Øverst supernatanten, nederst resten (bundfaldet). x-aksen viser størrelsen i  $\mu\text{m}$ , og y-aksen viser antal counts (figur 25 i Appendix 1).

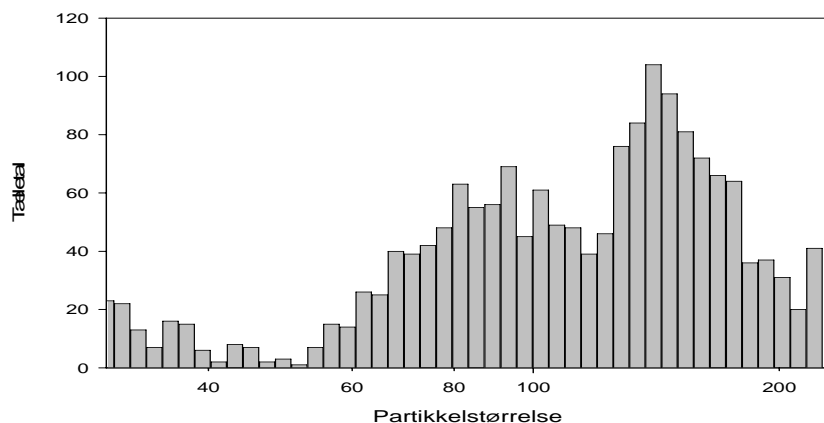


Figur 36. Tisbe kultur oprenset ved henstand i 40 minutter og derefter yderligere oprenset ved at fjerne 70 % af supernatanten efter 30 minutter ved henstand (gentaget 6x). Øverst supernatanten, nederst resten (bundfaldet). x-aksen viser størrelsen i  $\mu\text{m}$ , og y-aksen viser antal counts (Figur 30 i Appendix 1).

## Oprensning af copepoder vha. GF filter

Som det fremgår af Appendix 1, blev det forsøgt at oprense copepoder vha. GF filter. Mekanismen bag oprensningen var baseret på en arbejdshypotese om, at dødt materiale som skalfragmenter af døde copepoder ved filtrering af en vandprøve ville sætte sig i filteret. Ligeledes ville levende copepoder blive fanget på filteret. Disse ville dog være i stand til at svømme fri af filteret igen, når dette umiddelbart efter filtreringen blev overført til rent saltvand.

Resultaterne viste at det var muligt at få et kvantitativt billede af copepodernes fordeling efter denne filtrering (figur 37).



*Figur 37. Størrelsesfordeling af en GF-filtreret prøve af copepoder.*

*Toppen mellem 50 og 110 µm repræsenterer nauplierne og toppen mellem 120 µm og 200 µm repræsenterer copepoditter og adulte individer.*

Det viste sig også at der var et misforhold mellem det antal individer der blev forsøgt oprenset og det antal individer som efterfølgende var til rådighed. Forskellen var for naupliers vedkommende på 32,8 % og for copepoditter og voksne på 30,2 %. Baseret på disse resultater, kunne det konkluderes at for store dele af prøverne gik tabt ved denne procedure. Det var indlysende at en række forhold som vakuumstyrke, tidsrum for filtrering, prøvens indhold af dødt materiale og copepodernes svømmeaktivitet ville gøre metoden ureproducerbar og derfor ikke anvendelig som grundlag for en kvantitativ prøvetagning.

## Fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer

Marine klækkerier som anvender intensive metoder til dyrkning af fiskelarver, baserer ofte foderstrategierne på hhv. hjuldyr og Artemia. Hjuldyr dyrkes i kulturer på 500 liter til 5000 liter. De fodres med en kombination af gær og mikroalger. Hjuldyr anvendes typisk i den indledende fase af startfodringen. Senere i forløbet anvendes Artemia til fodring af larverne. Disse købes som æg og klækkes og beriges typisk i samme faciliteter som hjuldyrproduktionen foregår i.

Introduktion af dyrkning af copepoder til startfodring af fiskelarver vil typisk foregå ved at et anlæg til produktion af copepoder opstilles i den eksisterende facilitet til produktion af levendefoder. Dette indebærer, at der kan ske forurening fra de eksisterende kulturer af hjuldyr til copepodkulturerne. (Miles et al. 2001). Forurening med Artemia er ikke et alvorligt problem, idet de kan separeres fra copepoderne ved simpel filtrering over en planktondug (eksempelvis 500 µm).

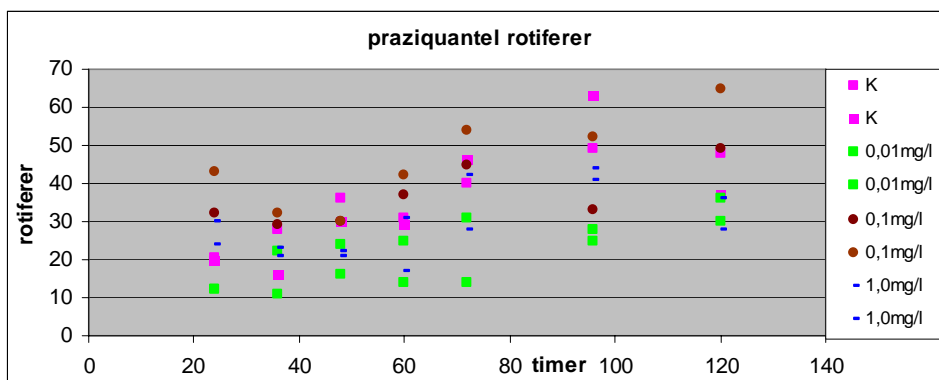
Forurening af copepodkulturerne med hjuldyr er et mere alvorligt problem. Hjuldyr har samme størrelse som copepoder og kan derfor ikke separeres vha. planktonnet baseret på størrelse. Hjuldyr har en meget høj reproduktionsrate (op til 50 % pr dag) hvilket gør, at der i løbet af få uger efter en forurening vil være et betydeligt antal hjuldyr i copepodkulturen. Hjuldyrene i copepodkulturer konkurrerer med copepoderne om føden.

### **Fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer med periodisk vandskifte vha. hjælpestof**

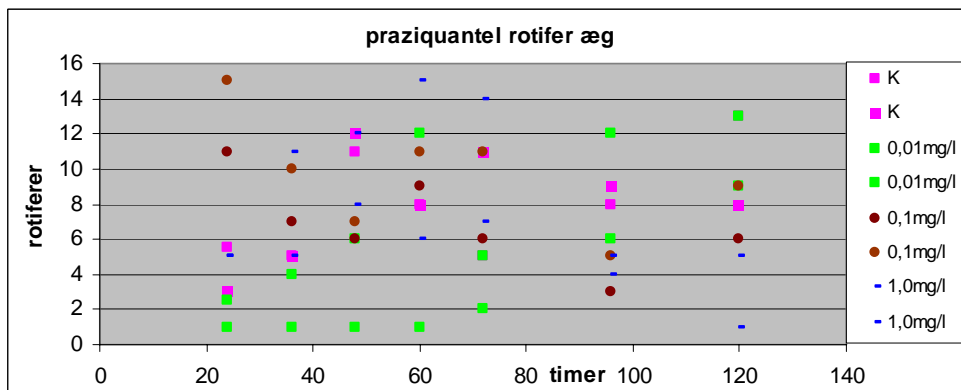
Praziquantel og Flubendazol anvendes til bekæmpelse af nematoder i tarmsystemet hos husdyr. Baggrunden for valg af hhv. praziquantel og flubendazol er et taxonomisk sammenfald mellem hjuldyr og nematoder. Begge grupper tilhører rækken pseudocoelomater. Rækken er adskilt fra artropoderne som copepoderne tilhører. Da der er udviklet effektive medikamenter til terapeutisk behandling af nematoder i husdyr, var det nærliggende at afprøve om disse medikamenter kunne eliminere hjuldyr i copepodkulturer, uden at påvirke copepoderne i samme grad.

Praziquantel anvendes til bekæmpelse af parasitter i fisk. Floubendazol virker ved at ødelægge mikrovilli i nematoders tarm og hindrer herved næringsoptaget hvilket fører til parasittens død.

Effekten af Praziquantel var ikke målbar. Der var ingen forskel på den ubehandlede kultur som fungerede som kontrol og de behandlede kulturer. Dette var tilfældet for både antal hjuldyr i kulturene over 120 timer (Figur 38) og for antallet af æg i kulturene over 120 timer (Figur 39)

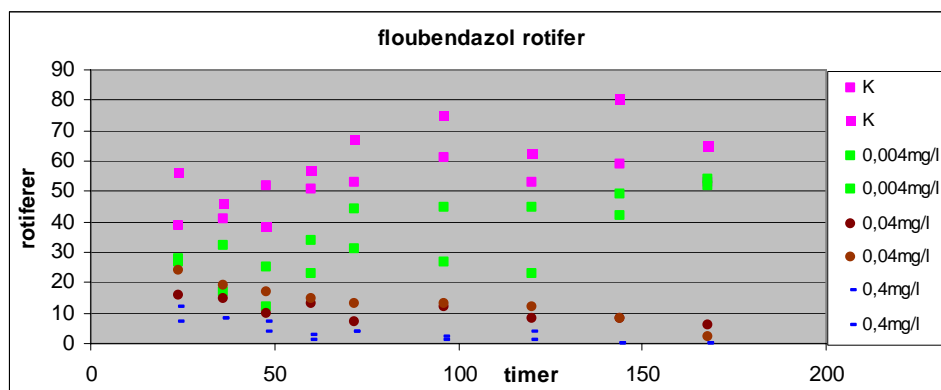


Figur 38. Antal hjuldyr (rotiferer) som funktion af tid efter behandling med Praziquantel i et døgn (Johan Nielsen 2006, Appendix 3).

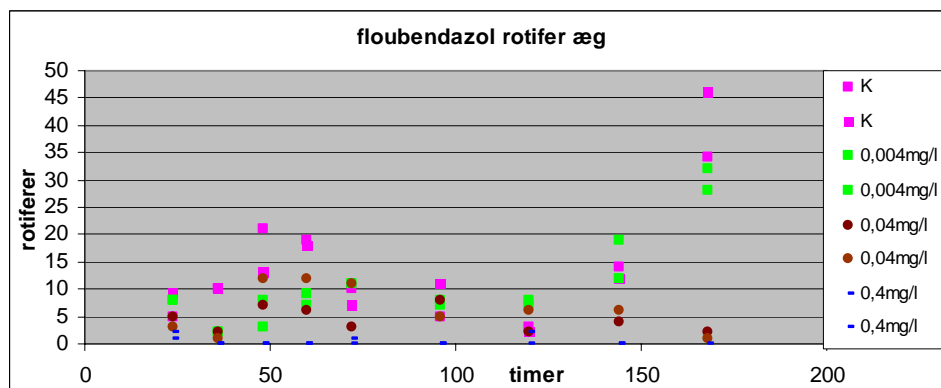


Figur 39. Antal æg af hjuldyr (rotiferer) som funktion af tid efter behandling med Praziquantel i et døgn. (Johan Nielsen 2006, Appendix 3).

Behandling med Flubendazol havde en effekt på hjuldyrene (figur 40). De højeste testede koncentrationer på hhv. 0,04 og 0,4 mg Flubendazol pr liter i et døgn, forårsagede reduktion af antallet af hjuldyr indenfor forsøgets 7 døgn. Det samme var tilfældet med antallet af æg i kulturen (figur 41).



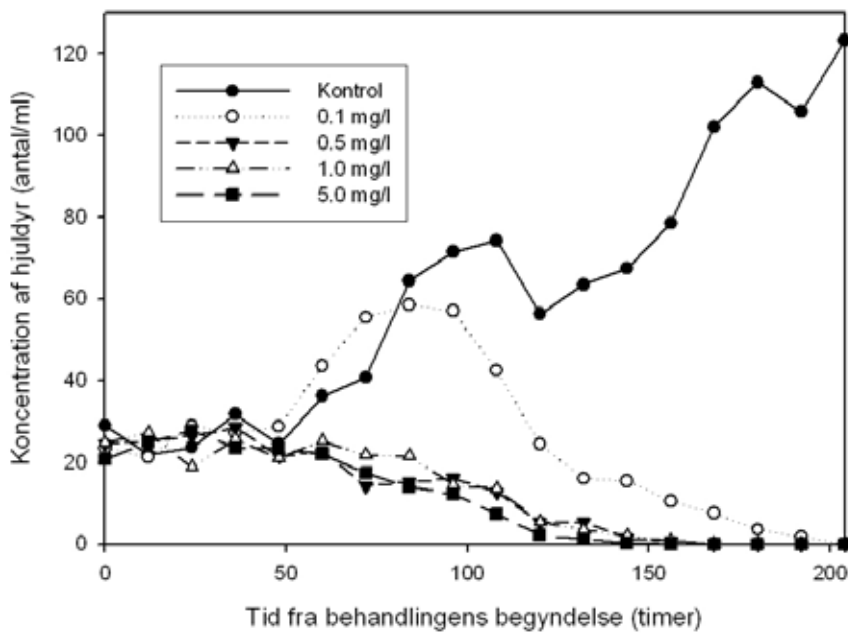
Figur 40. Antal hjuldyr (rotiferer) som funktion af tid efter behandling med Flubendazol i et døgn. (Johan Nielsen 2006, Appendix 1).



Figur 41. Antal æg af hjuldyr (rotiferer) som funktion af tid efter behandling med Flubendazol i et døgn. (Johan Nielsen 2006, Appendix 1).

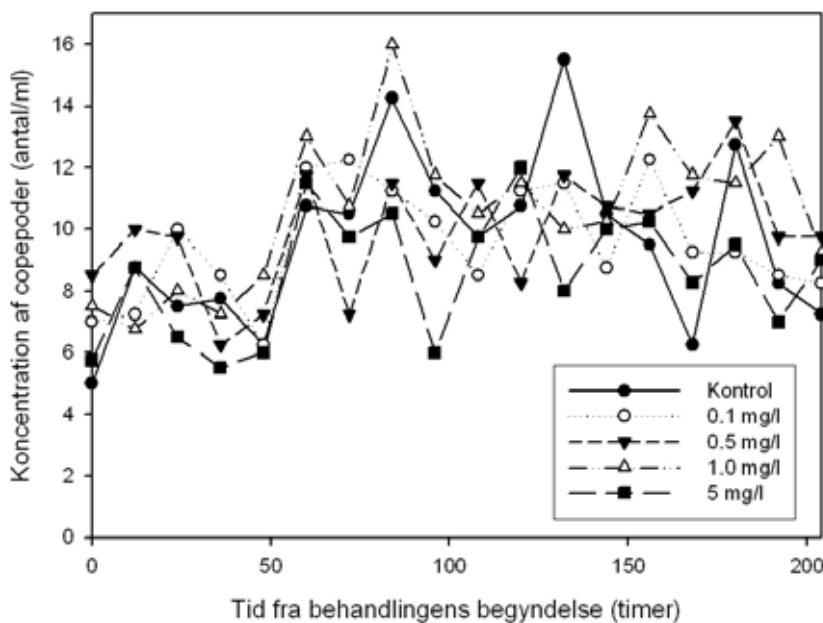
Effekterne på hhv. hjuldyr og copepoder blev efterfølgende undersøgt i forsøg hvor hhv. hjuldyr og copepoder blev udsat for højere koncentrationer af Flubendazol (0; 0,1; 0,5; 1 og 5 mg/l) i et døgn. Resultaterne viste entydigt at Flubendazol havde en stærkt hæmmende effekt på hjuldyrene i kulturen (Figur 42). Flubendazole tilsat copepodkulturer havde ingen påviselig effekt på copepoderne (figur 43).

Der er tilsyneladende ikke forskel på anvendelse af hhv. 0,5; 1 eller 5 mg/l Flubendazol. (figur 42) Dette indikerer en anbefalet dosis på 0,5 mg/l i et døgn.



Figur 42. Antal hjuldyr som funktion af tid efter behandling med 1 mg/l Flubendazol i et døgn.

Copepoderne er ikke påvirket af nogle af koncentrationerne idet der ikke var signifikant forskel på antal copepoder på noget tidspunkt under forsøget (figur 43).

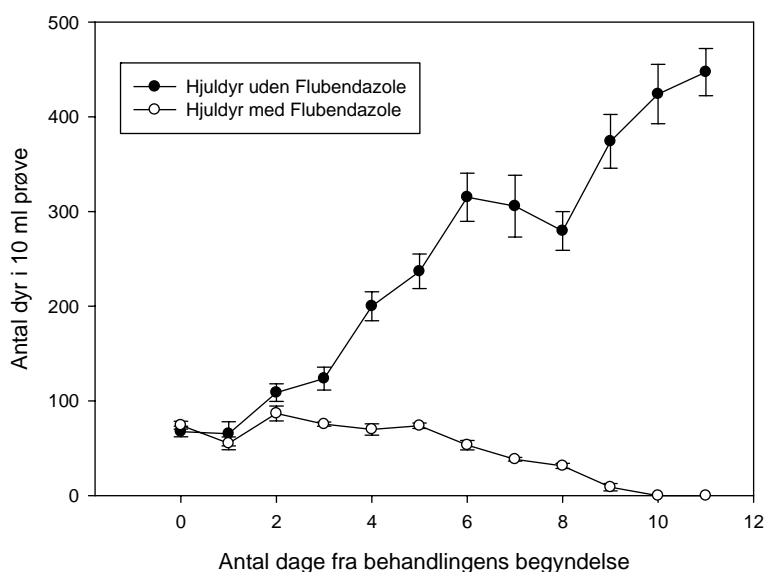


Figur 43. Antal copepoder som funktion af tid efter behandling med 1 mg/l Flubendazol i et døgn.

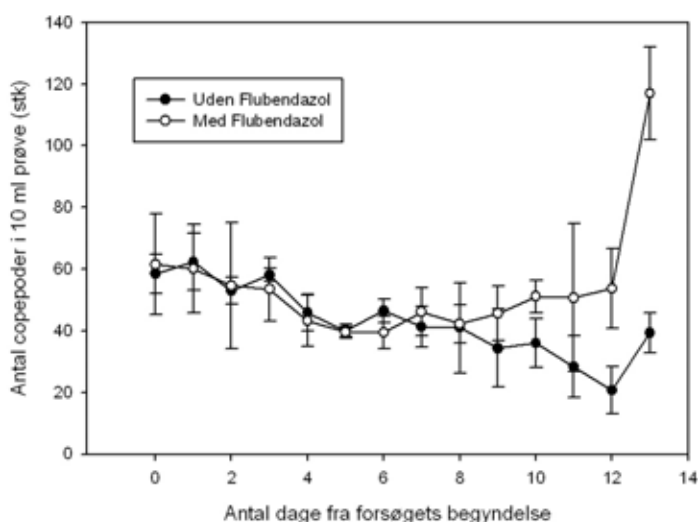
Nedenstående forsøg (figur 44 og 45) adskiller sig fra de andre idet forsøget blev gennemført med både hjuldyr og copepoder i samme kulturenheder på 2 liter. Dette gav mulighed for sekundære

effekter af behandlingerne, og dette ses også af figur 45, hvor antallet af copepoder efter dag 10 er signifikant højere i kulturerne som har fået flubendazol sammenlignet med kontrolflaskerne. Dette skyldes sandsynligvis at copepoderne i flaskerne uden flubendazol sulter idet hjuldyrene i disse enheder æder de tilførte alger.

Det indikerer dog også at copepoderne ikke tager skade af behandlingen med flubendazol, idet de er i stand til at reproducere sig efter behandlingen med medikamentet. Den voldsomme stigning i antal copepoder fra dag 12 til dag 13 på figur 45 kan forklares ved at optællingen ikke skelnede mellem copepoder og nauplier. Copepoder vil under gunstige forhold producere ægsække med 30-50 æg pr sæk. Når disse nauplier frigives vil antallet af copepoder + nauplier pludseligt kunne stige.



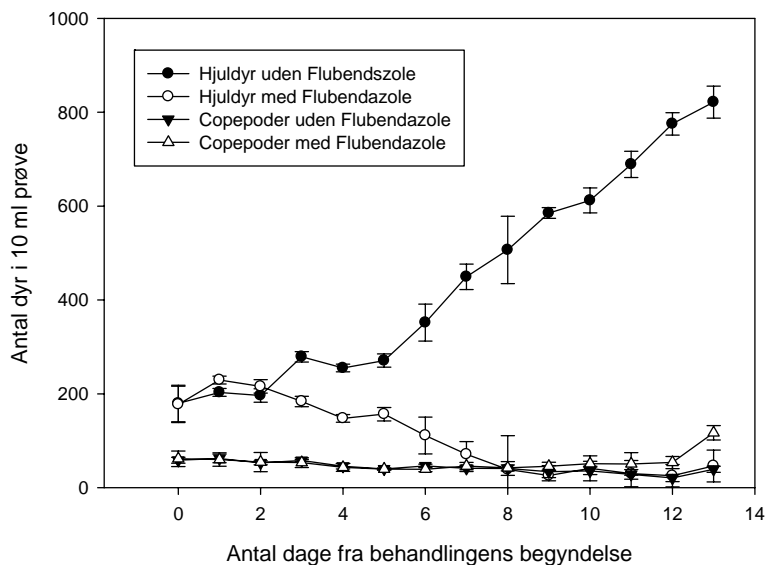
**Figur 44. Antal hjuldyr (rotiferer) som funktion af tid efter behandling med 1 mg/l Flubendazol i et døgn.**



**Figur 45. Antal copepoder som funktion af tid efter behandling med 1 mg/l Flubendazol i et døgn.**

Det sidste gennemførte forsøg hvor der blev anvendt 1 mg flubendazol/liter i et døgn viste at hjuldyrene ikke nødvendigvis kan elimineres fuldstændigt ved denne dosis (figur 46). Antallet af

hjuldyr faldt i begyndelsen fra dag 1 til dag 8 hvorefter det stabiliserede sig og begyndte at stige igen efter dag 12. Havde der været tale om en produktionsenhed, ville det have været nødvendigt at gentage behandlingen for helt at eliminere hjuldyrene og hindre en genopblomstring af dem.



**Figur 46. Antal hjuldyr (rotiferer) og copepoder som funktion af tid efter behandling med 1 mg/l Flubendazol i et døgn.**

Konklusionen på ovennævnte forsøg er, at det er muligt at eliminere hjuldyr fra copepodkulturer ved tilsætning af 1 mg flubendazol/ liter i et døgn. Kun i et enkelt tilfælde var hjuldyrene i stand til at overleve efter denne behandling. Der er ikke påvist negative effekter på copepoderne af de testede koncentrationer op til 5 mg/l. Der er ikke gennemført egentlige langtidsforsøg med copepodernes produktivitet efter behandling. I et enkelt tilfælde blev copepoder behandlet og efterfølgende fulgt i en periode på en måned i bakkesystemet uden at der tilsyneladende var negative effekter af behandlingen.

### **Fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer dyrket vha. recirkulation**

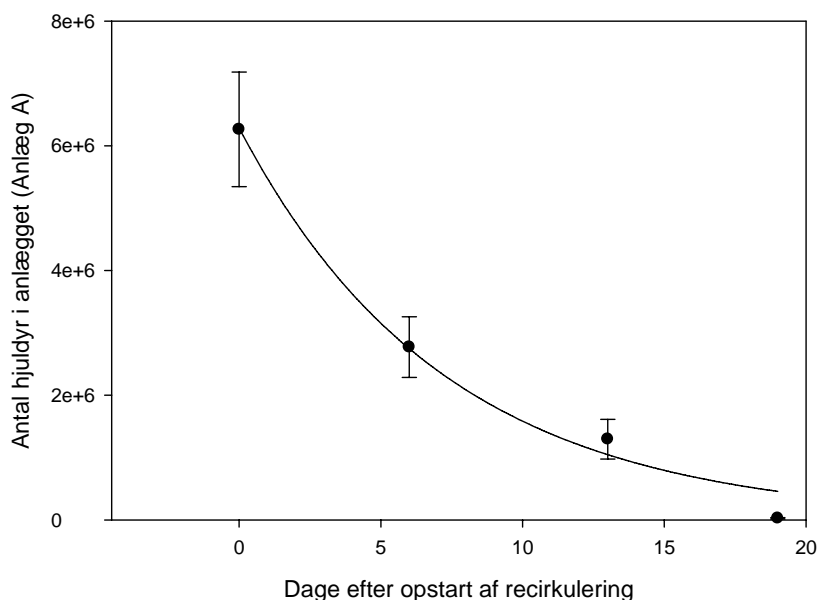
Projektets copepodproduktionsanlæg var fysisk placeret umiddelbart ved siden af et hjuldyrproduktionsanlæg. Der blev anvendt spuleslanger til rensning af hjuldyranlægget mindst en gang om ugen, og der blev i perioder dagligt håndteret hjuldyr på gulvarealet umiddelbart ved siden af copepodanlægget. Det var derfor uundgåeligt at der skete overførsel af hjuldyr til copepodanlægget. Dette viste sig i praksis ved at anlægget eller enkelttanke i anlægget hurtigt blev domineret af hjuldyr hvis ikke anlæggets recirkulationssystem var i drift.

Når recirkulationssystemet var i drift blev vandet indeholdende hjuldyr fra produktionstankene kontinuerligt ført gennem Unikfilteret. Plankton blev tilbageholdt i filterets kamre foran filterdugene og disse blev rengjort ved højtryksspuling hvert 4 minut. Hjuldyr har en ringe egen svømmebevægelse og ville derfor blive suget hen til filterdugen, hvor de ville sidde når spulesystemet aktiveredes. Et hjuldyr som befandt sig i kammeret i 24 timer mellem to rensninger/tømminger ville blive udsat for højtryksspuling 360 gange. Dette var hjuldyrene tilsyneladende ikke i stand til at overleve og det resulterede i at antallet af hjuldyr i løbet af et par uger var ubetydeligt (figur 47). Ved driftsforhold hvor vandet i copepod produktionskarrene var 100



liter/time ville hjuldyrene forsvinde fra anlægget med en tilnærmet eksponentiel aftagende rate ( $r = -0,14$ ;  $r^2=0,98$ ).

Det ville med andre ord tage ca. 2 uger at reducere antallet af hjuldyr til 0,4 % af det oprindelige antal i anlægget.



Figur 47. Antallet af hjuldyr i copepodanlægget efter opstart af recirkulationssystemet.

## Konklusion

I projektets produktionsanlæg har det været muligt at produceret nauplier gennem hele forsøgsperioden. Det er copepoder fra samme batch, som er blevet anvendt gennem hele forløbet. Denne stamme har det været muligt at holde i kontinuerlig kultur siden 1997 hvor en delmængde af den blev overdraget fra Det daværende DFU (Danmarks Fiskeriundersøgelser) til det daværende DIFTA (Dansk Institut for Fiskeriteknologi og Akvakultur). Før dette har kulturen i en årrække været dyrket i DFU-regi. Dette understreger at *Tisbe holothuriae* er en robust art at arbejde med i laboratoriet.

Det har også vist sig, at der er vanskeligheder forbundet med opdræt af *Tisbe holothuriae*. Produktionen af nauplier er uforudsigelig og dette indebærer at produktionen af nauplier fra anlægget har været fluktuerende. Dette er ikke hensigtsmæssigt når nauplierne skal anvendes som foder for fiskelarver. Fiskelarver skal præsenteres for føde ca. en uge efter at de er gydt. Det er ikke muligt at kontrollere gydningen hos en række af de relevante arter og derfor vil copepod-produktionsanlægget skulle kunne levere et højt antal nauplier med ca. en uges varsel.

Det var en del af projektets formål at tilvejebringe et mere nuanceret billede af mekanismerne bag høj nauplieproduktion. Copepodernes livscyklus med 6 naupliestadier og 5 copepoditstadier plus voksne stadier forårsager sandsynligvis en tidsmæssig forskydning mellem gode produktionsforhold og øget nauplieproduktion. Det var hensigten at opnå viden om de enkelte stadiers overlevelse ved

kvantificering af populationens størrelsesfordeling. Herved kunne en form for kohordeanalyse fremskrive produktionspotentialet for kulturen en generation frem. Denne størrelsesfordeling var det hensigten at partikeltælleren PSS 780 Accusizer skulle danne grundlag for. Der blev investeret en del tid i metodeudvikling af et sådant kvantificeringssystem (Appendix 1). Det viste sig muligt, at karakterisere størrelsesfordelingen af oprensede prøver, men oprensningen var ikke mulig at gennemføre på reproducerbar vis. Størrelsesfordelingerne kunne derfor ikke danne grundlag for de ønskede kvantitative størrelsesfordelinger.

Det var muligt at opnå en gennemsnitlig produktion i anlægget på 1,2 mio nauplier pr anlæg pr dag igennem en 4 måneders periode. Dette er ensbetydende med 2,4 nauplier pr ml. biofilterelement pr. dag, hvilket er  $\frac{1}{4}$  del af de 10 nauplier/ml pr dag som var projektets mål.

Et ofte rapporteret problem i dyrkning af copepoder, er forurening af kulturene med hjuldyr. Det har vist sig at copepoder i kulturer med hjuldyr vil reducere nauplieproduktionen og derved være uuhensigtsmæssige at drive. Den eneste effektive måde at overkomme problemet på, var tidligere at isolere et antal ægbærende hunner og lade dem danne grundlag for en ny hjuldyrfri kultur. Dette er meget tidskrævende og kan betyde, at der ikke er nauplier til rådighed som foder i en periode på 2-3 måneder.

Projektet har fundet en effektiv metode til overkommelse af dette problem. Behandling af hjuldyr-inficerede kulturer med Flubedazol i en koncentration på 1 mg/l vil i løbet af 4 til 7 dage eliminere hjuldyrene fra kulturen uden at dette tilsyneladende har negative effekter på copepoderne.

Årsagerne til den manglende målopfyldelse skal sandsynligvis findes i de frekvente opblomstringer af ciliater i anlægget. Ciliaterne kunne findes i koncentrationer på over 3000/ml og har således haft gode vækstmuligheder i anlægget. Det var ikke muligt at udvikle en metode som kunne overkomme dette problem. UV bestråling af vandet var effektivt til at reducere ciliatmængden, men behandlingen slog også de mikroalger ihjel som var tiltænkt copepoderne. Det var heller ikke muligt at eliminere ciliaterne helt. Dette bevirkede at der efter UV anlægget blev slukket skete en hurtig opformering af ciliaterne i anlægget.

Den mest effektive metode til begrænsning af ciliater, var vask af anlægget i ferskvand. Dette indebærer at hele anlægget skulle tømmes og copepoderne isoleres i spande. Efterfølgende blev anlægget fyldt med ferskvand. Efter en sådan behandling gik der 3-5 dage før ciliaterne igen var fødebegrænsede.

Supplement af foderet med f.eks. tørfoder ville give copepoderne den nødvendige fødemængde, men anvendelse af fiskefoder havde ikke den forventede positive effekt. Dette kan skyldes karrenes udformning idet foderet samledes i keglens spids hvor det gav anledning til forringet vandkvalitet. Dette har holdt copepoderne væk fra keglerspidsen og derved foderet. Forsøg i mindre målestok i bakker gav dog samme manglende effekt af tilskud af fiskefoder (Appendix 2).

Det pågældende intensive produktionssystem til copepoder må konkluderes ikke at kunne producere et tilstrækkeligt antal nauplier til at være kommercielt interessant. Anvendelsen af recirkulering og opsamling af nauplier har fungeret efter hensigten, men opblomstringen af ciliater i anlægget har været et alvorligt problem for produktionssystemets ydeevne. Anlægget kan dog producere et tilstrækkeligt antal nauplier til gennemførelse af videnskabelige eksperimenter og har i projektperioden indgået i sådanne.

Udvikling af et alternativt foder til copepoder som ville erstatte det ressourcekrævende algeproduktionssystem og give mulighed for at fodre copepoderne til mætning skønnes at kunne overkomme problemet med ciliaternes græsning på de indfodrede mikroalger.

## Referencer

- Bergmans, M. 1979. Taxonomic notes on species of *Tisbe* (Copepoda, Harpacticoida) from a Belgian sluice dock. *Zoologia Scripta*. 8. 211-220.
- Båmstedt, U. 1986. Chemical composition and energy content. IN: *The Biological Chemistry of Marine Copepods* (Ed. By E.D.S. Corner & S.C.M O'Hara), pp. 1-58. Clarendon Press, Oxford.
- Fava, G. and Volkmann, B. 1975. *Tisbe* (Copepoda: Harpacticoida) Species from the Lagoon of Venice. I. Seasonal Fluctuation and Ecology. *Marine Biology* 30: 151-165.
- Fava, G. and Crotti, E. 1979. Effect of crowding on nauplii production during maring time in *Tisbe clodiensis* and *Tisbe holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida). *Helgoländer wiss. Meeresunters.* 32:466-475.
- Gotto, V. Commensal and parssitic copepods associated with marine invertebrates (and whales). *Synopsis of the British Fauna (New series) No:46*. Ed. By. Kermack, D.M., Barnes, R.S.K. and Crothers, J.H.
- Guérin, J.P. and Gaudy, R. 1977. Etude des variations dy poids sec eta de la constitution chimbrique élémentaire de *Tisbe holothuriae* (Copepoda: Harpacticoida) élevé sur différents regimes artificiels. *Marine biology* 44, 65-70.
- Heath, P.L. & Moore, C.G. 1997. Rearing dover sole larvae on *Tisbe* and *Artemia* diets. *Aquaculture International* 5:29-39.
- Humes, A. G. 1957. Deux copepods harpacticoides nouveaux du genre *Tisbe* parasites des holothuriales de la méditerranée. *Vie Milieu* 8:9-22.
- Kahan, D., Berman, Y., Bar-el, T. 1988. Maternal inhibition of hatching at high population densities in *Tigriopus japonicus* (Copepoda, Crustacea). *Biol Bull.* 174, 139-144.
- Lee C., O'Bryen, P. J., Marcus N.H. 2005. *Copepods in Aquaculture*. Blackwell publishing. 269 pp.
- Lund, I. Steinfeldt, S.J., Banta, G. Hansen, B.W. 2008. The influence of dietary concentraions of arachidonic acid and eicosapentaenoic acid at various stages of larval ontogeny on eye migration, pigmentation and prostaglandin content of common sole larvae (*Solea solea* L.) *Aquaculture* 276':143-153.
- Kvenseth, P.G., Øiestad, V., 1984. Large scale rearing of cod fry on the natural food production in an enclosed pond. In: Dahl, E., Daniellsen, D.S., Moksness, E., Solemdal, P. (Eds.), *The Propagation of Cod *Gadus morhua* L.*, Flød. Rapp. 1, pp. 645–655.
- Miles, D., Mazorra de Quero, Cutts, C., Auchterlonie, N., 2001. Rearing of the Harpacticoid Copepod *Tisbe holothuriae* and its application for the Hatchery Production of Atlantic Halibut. 53 pages. Printed by Seafish Aquaculture Ardtoe, Acharacle, Argyll.

- van der Meeren, T. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplankton. *Aquaculture* 93:35-55.
- van der Meeren, T. Naas, K. E. 1997. Development of rearing techniques using large enclosed ecosystems in the mass production of marine fish fry. *Rev. Rish. Sci.* 5:367-390.
- Hoppenheit, M. 1976 Zur dynamic exploitierter population con *Tisbe holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida). *Helgoländer Wiss Meeresuners.* 28:109-137.
- Miliou, H. & Moraitou-Apostolopoulou 1991. Combined effects of temperature and salinity on the population dynamics of *Tisbe holothuriae* Humes (Copepoda:Harpacticoida). *Arch. Hydrobiologica* 121:431-448.
- Miliou, H., Moraitou-Apostolopoulou, Argyridou, M 1992. Biochemical composition of *Tisbe holothuriae* (Copepoda:Harpacticoida) and its differentiation in relation to developmental stages. *Ophelia*, 36:159-166.
- Moreno, V.J., De Moreno, J. E. A., Brenner, R. R. 1979. Fatty acid metabolism in the calanoid copepod *Paracalanus parvus*: 1. Polyunsaturated fatty acids. *Lipids* 14:313-317.
- Naess, T., Germain-Henry, M. and Nass, K.E. 1995. First feeding of atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) using different combinations of *Artemia* and wild zooplankton. *Aquaculture*, 130:235-250.
- Norsker, N., Støttrup, J.G. 1994. The importance of dietary HUFAs for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. *Aquaculture* 125:155-166.
- Pauly, D., & Christensen, V. 1995. Primary production required to sustain global fisheries. *Nature* 374:255-257.
- Park, C. W., 1976. The larval development of *Tisbe holothuriae* Humes (Copepoda, Harpacticoida) under the laboratory conditons. *Publ. Inst. Mar. Sci. Nat. Fish. Univ. Busan* 9:33-48.
- Rieper, M., 1978. Bacteria as food for marine harpacticoid copepods. *Marine Biology* 45:337-345.
- Rieper M., 1982. Feeding preferences of marine harpacticoid copepods for various species of bacteria.. *Marine Ecology Progress Series* 7:303-307
- Rønnestad, I., Kamisaka, Y., Conceição, L.E.C., Morais, S., Tonheim, S.K. 2007. Digestive physiopogy of marine fish larvae: Hormonal control and processing capacity for proteins, peptides and amino acids. *Aquaculture* 268:82-97.
- Sargent, J. R. McEvoy, L.A. and Bell, J.G. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty auids in marine fish larvael feeds. *Aquaculture* 155:117-127.

- Sargent, J., McEvoy, L. Estevez, A., Bell, G. Bell, M. Henderson, J., Tocher, D. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: Current status and future directions. *Aquaculture* 179: 217-229.
- Seikai, T., Watanabe, T. Shimosaki, M. 1987. Influence of three geographically different strains of *Artemia nauplii* on occurrence of albinism in hatchary-reared flounder *Paralichthys olicaceus*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 53:195-200.
- Støttrup, J. G., & Norsker N. H. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture* 155:231-247.
- Støttrup, J. G. & McEvoy L. A. 2003. Live feeds in aquaculture. Blackwell publishing 318pp.
- Walker, I. 1979. Mechanisms of density-dependent population regulation in the marine copepod *Amphiascoides* sp. (Harpacticoida). *Mar.Ecol.Prog.Ser.* 1, 209-221.
- Zhang, Q and Uhlig, G. 1993a. Effect of density on larval development and female productivity of *tisbe holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida) under laboratory conditions. *Helgoländer Meeresuntersuc.* 47:229-241.
- Zhang, Q and Uhlig G. 1993b. Dry weight and chemical composition (CHN) in relation to population density of cultivated *Tisbe holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida). *Helgoländer Meeresuntersuc.* 47:221-227.

## Appendix-oversigt

### Appendix I

#### **Preben Kristensen 2006: Dokumentation af partikeltæller PSS 780 Accusizer´s anvendelighed i forbindelse med tælling af mikroalger og zooplankton**

I perioden december 2005 til august 2006 var Biolog Preben Kristensen ansat ved DFU (nu DTU Aqua). Ansættelsen var indledningsvis i form af et praktikophold, men efterfølgende som projektforsker finansieret af copepodprojektet.

Preben Kristensens primære opgave var at dokumentere partikeltælleren PSS 780 Accusizers anvendelighed til kvantificering af levendefoder. Det var hensigten at anvende partikeltælleren til optælling af mikroalger, hjuldyr, Artemia og copepoder.

Ydermere var det hensigten at kvantificeringen af copepoder og disses størrelsesfordeling kunne bibringe copepodprojektet en væsentlig ny dimension, idet det herved ville være muligt at nuancere populationsdynamikken i en grad som almindelig kvantificering ikke ville kunne bibringe.

Rapporten inkluderer et afsnit om partikeltælleren princip og efterfølgende en redegørelse for de forholdsregler, der skal inkluderes i arbejdet med partikeltælleren. Rapporten er understøttet af praktiske eksempler på data genereret af partikeltælleren under relevante forhold.

Konklusionen på arbejdet med partikeltælleren er, at den med meget høj grad af præcision kvantificerer partikelantallet i en prøve og disses størrelsesfordeling. Det har dog under arbejdet med prøverne af levende foder fra laboratoriet vist sig, at disse prøver indeholder en stor mængde fremmede partikler indenfor det størrelsesspektrum som copepoderne repræsenterer. Dette indebærer at estimerne ikke har tilstrækkelig præcision til anvendelse i videnskabelige studier.

Der er i rapporten gennemført en række eksperimenter med henblik på at oprense disse planktonprøver, men det har måttet konstateres, at det ikke har været muligt at udvikle en oprensningstype som giver repræsentative kvantificeringer og størrelsesfordelinger af planktonprøver fra laboratoriet.

Appendix 1 udgøres af en selvstændig afrapportering af denne dokumentation.

### Appendix II

#### **Henrik Skibsted Als Jørgensen, BSc rapport KU: Fedtsyresammensætning og vækst hos copepoden *Tisbe holothuriae***

I perioden april til september 2006 dannede copepodprojektet grundlag for et bachelorstudie ved Københavns Universitet. Projektet blev gennemført af Henrik Skibsted Als Jørgensen og foregik i faciliteterne ved DTU Aqua (dengang DFU) på Nordsøcentret.

Projektets formål var at gennemføre et studie af fodring af *Tisbe holothuriae* med en række forskellige diæter med henblik på at karakterisere disses kvalitet ud fra et ernæringsmæssigt perspektiv.

Konklusionen af forsøgene var at *Rhodomonas salina* var den bedste fodertype for copepoderne.

*Isochrysis* sp. gav ikke samme vækst. Mikroalgen *Chlorella* som har vist sig velegnet til produktion af hjuldyr, og som det er muligt at købe i meget koncentreret form (1200 gange så koncentreret som

mikroalgekultur) var meget uegnet som føde. Ydermere viste det sig at tilskud med tørfoder ikke havde positiv effekt på copepodernes reproduktion. Studiet bekræfter de allerede kendte forhold, at *Rhodomonas* sp. mikroalger er det mest velegnede foder til *Tisbe holothuriae*. Appendix 2 er identisk med rapporten udarbejdet under dette projekt.

### ***Appendix III***

#### **Johan Nielsen, BSc rapport KU: Kemisk fjernelse af hjuldyr fra copepodkulturer**

I perioden fra december 2005 til maj 2006 gennemførtes et Bachelorstudie ved Københavns Universitet af Johan Nielsen. Projektets eksperimentelle del blev gennemført i faciliteterne ved DTU Aqua (dengang DFU) på Nordsøcentret.

Projektets hovedresultat var at Flubendazol er et effektivt middel til eliminering af hjuldyr i kulturer af *Tisbe holothuriae*. Behandling af en inficeret kultur i et døgn med 1 mg/l Flubendazol vil medføre at alle hjuldyr er elimineret indenfor 3 til 7 dage. Herved blev et alvorligt problem i forbindelse med produktion af copepoder i intensive systemer overkommet.

Appendix 3 er identisk med rapporten udarbejdet under dette projekt.



## DTU Aqua-rapportindex

Denne liste dækker rapporter udgivet i indeværende år samt de foregående to kalenderår. Hele listen kan ses på DTU Aquas hjemmeside [www.aqua.dtu.dk](http://www.aqua.dtu.dk), hvor de fleste nyere rapporter også findes som PDF-filer.

- Nr. 158-06 Østers (*Ostrea edulis*) i Limfjorden. Per Sand Kristensen og Erik Hoffmann
- Nr. 159-06 Optimering af fangstværdien for jomfruhummere (*Nephrops norvegicus*) – forsøg med fangst og opbevaring af levende jomfruhummere. Lars-Flemming Pedersen
- Nr. 160-06 Undersøgelse af smoltudtrækket fra Skjern Å samt smoltdødelighed ved passage af Ringkøbing Fjord 2005. Anders Koed
- Nr. 161-06 Udsætning af geddeyngel i danske søer: Effektivurdering og perspektivering. Christian Skov, Lene Jacobsen, Søren Berg, Jimmi Olsen og Dorte Bekkevold
- Nr. 162-06 Avlsprogram for regnbueørred i Danmark. Alfred Jokumsen, Ivar Lund, Mark Henryon, Peer Berg, Torben Nielsen, Simon B. Madsen, Torben Filt Jensen og Peter Faber
- Nr. 162a-06 Avlsprogram for regnbueørred i Danmark. Bilagsrapport. Alfred Jokumsen, Ivar Lund, Mark Henryon, Peer Berg, Torben Nielsen, Simon B. Madsen, Torben Filt Jensen og Peter Faber
- Nr. 163-06 Skarven (*Phalacrocorax carbo sinensis* L.) og den spættede sæls (*Phoca vitulina* L.) indvirkning på fiskebestanden i Limfjorden: Ecopath modellering som redskab i økosystem beskrivelse. Rasmus Skoven
- Nr. 164-06 Kongeåens Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for første måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 165-06 A pilot-study: Evaluating the possibility that Atlantic Herring (*Clupea harengus* L.) exerts a negative effect on lesser sandeel (*Ammodytes marinus*) in the North Sea, using IBTS-and TBM-data. Mikael van Deurs
- Nr. 166-06 Ejstrupholm Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for første måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 167-06 Blåmuslinge- og Stillehavsøstersbestanden i det danske Vadehav efteråret 2006. Per Sand Kristensen og Niels Jørgen Pihl
- Nr. 168-06 Tvilho Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for første måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.

- Nr. 169-07 Produktion af blødskallede strandkrabber i Danmark - en ny marin akvakulturproduktion. Knud Fischer, Ulrik Cold, Kevin Jørgensen, Erling P. Larsen, Ole Saugmann Rasmussen og Jens J. Sloth.
- Nr. 170-07 Den invasive stillehavsøsters, *Crassostrea gigas*, i Limfjorden - inddragelse af borgere og interessenter i forslag til en forvaltningsplan. Helle Torp Christensen og Ingrid Elmedal.
- Nr. 171-07 Kystfodring og kystøkologi - Evaluering af revlefodring ud for Fjaltring. Josianne Støttrup, Per Dolmer, Maria Røjbek, Else Nielsen, Signe Ingvarsdén, Per Sørensen og Sune Riis Sørensen.
- Nr. 172-07 Løjstrup Dambrug (øst) - et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 1. måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 173-07 Tingkæravad Dambrug - et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 1. måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 174-07 Abildtrup Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 1. måleår af monitoreringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen, Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 175-07 Nørå Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 1. måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen, Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 176-07 Rens Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 1. måleår af monitoringsprojektet. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 177-08 Implementering af mere selektive og skånsomme fiskerier – konklusioner, anbefalinger og perspektivering. J. Rasmus Nielsen, Svend Erik Andersen, Søren Eliassen, Hans Frost, Ole Jørgensen, Carsten Krog, Lone Grønbæk Kronbak, Christoph Mathiesen, Sten Munch-Petersen, Sten Sverdrup-Jensen og Niels Vestergaard.
- Nr. 178-08 Økosystemmodel for Ringkøbing Fjord - skarvbestandens påvirkning af fiskebestandene. Anne Johanne Dalsgaard, Villy Christensen, Hanne Nicolajsen, Anders Koed, Josianne Støttrup, Jane Grooss, Thomas Bregnballe, Henrik Løkke Sørensen, Jens Tang Christensen og Rasmus Nielsen.
- Nr. 179-08 Undersøgelse af sammenhængen mellem udviklingen af skarvkolonien ved Toftesø og forekomsten af fladfiskeyngel i Ålborg Bugt. Else Nielsen, Josianne Støttrup, Hanne Nicolajsen og Thomas Bregnballe.
- Nr. 180-08 Kunstig reproduktion af ål: ROE II og IIB. Jonna Tomkiewicz og Henrik Jarlbæk

- Nr. 181-08 Blåmuslinge- og stillehavsøstersbestandene i det danske Vadehav 2007. Per Sand Kristensen og Niels Jørgen Pihl
- Nr. 182-08 Kongeåens Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 2. måleår af monitoringsprojektet med væsentlige resultater fra 1. måleår. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 183-08 Taskekrabben – Biologi, fiskeri, afsætning og forvaltningsplan. Claus Stenberg, Per Dolmer, Carsten Krog, Siz Madsen, Lars Nannerup, Maja Wall og Kerstin Geitner.
- Nr. 184-08 Tvilho Dambrug – et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 2. måleår af monitoringsprojektet med væsentlige resultater fra 1. måleår. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 185-08 Erfaringsopsamling for muslingeopdræt i Danmark. Helle Torp Christensen, Per Dolmer, Hamish Stewart, Jan Bangsholt, Thomas Olesen og Sisse Redeker.
- Nr. 186-08 Smoltudvandring fra Storå 2007 samt smoltdødelighed under udvandringen gennem Felsted Kog og Nisum Fjord. Henrik Baktoft og Anders Koed.
- Nr. 187-08 Tingkærvad Dambrug - et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 2. måleår af monitoringsprojektet med væsentlige resultater fra første måleår. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 188-08 Ejstrupholm Dambrug - et modeldambrug under forsøgsordningen. Statusrapport for 2. måleår af monitoringsprojektet med væsentlige resultater fra første måleår. Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen og Anne Johanne Tang Dalsgaard.
- Nr. 189-08 The production of Baltic cod larvae for restocking in the eastern Baltic. RESTOCK I. 2005-2007. Josianne G. Støttrup, Julia L. Overton, Sune R. Sørensen (eds.)
- Nr. 190-08 USER'S MANUAL FOR THE EXCEL APPLICATION "TEMAS" or "Evaluation Frame". Per J. Sparre.
- Nr. 191-08 Evaluation Frame for Comparison of Alternative Management Regimes using MPA and Closed Seasons applied to Baltic Cod. Per J. Sparre.
- Nr. 192-08 Assessment of Ecosystem Goods and Services provided by the Coastal Zone System Limfjord. Anita Wiethüchter.
- Nr. 193-08 Modeldambrug under forsøgsordningen. Faglig slutrapport for "Måle- og dokumentationsprojekt for modeldambrug". Lars M. Svendsen, Ole Sortkjær, Niels Bering Ovesen, Jens Skriver, Søren Erik Larsen, Susanne Bouttrup, Per Bovbjerg Pedersen, Richard Skøtt Rasmussen, Anne Johanne Tang Dalsgaard og Karin Suhr.
- Nr. 194-08 Omsætning af ammonium-kvælstof i biofiltre på Modeldambrug. Karin Isabel Suhr, Per Bovbjerg Pedersen, Lars M. Svendsen, Kaare Michelsen og Lisbeth Jess Plesner.

- Nr. 195-08 Fangst, opbevaring og transport af levende danske jomfruhummere (*Nephrops norvegicus*). Preben Kristensen og Henrik S. Lund.
- Nr. 196-08 Udsætning af geddeyngel som bestandsophjælpning i danske brakvandsområder – effektvurdering og perspektivering. Lene Jacobsen, Christian Skov, Søren Berg, Anders Koed og Peter Foged Larsen.
- Nr. 197-08 Manual to determine gonadal maturity of herring (*Clupea harengus* L) Rikke Hagstrøm Bucholtz, Jonna Tomkiewicz og Jørgen Dalskov.
- Nr. 198-08 Can alerting sounds reduce bycatch of harbour porpoise? Lotte Kindt-Larsen.
- Nr. 199-08 Udvikling af produktionsmetoder til intensivt opdræt af sandartyngel. Svend Steinfeldt og Ivar Lund.
- Nr. 200-08 Opdræt af Tunge (*Solea solea*) - undersøgelse af mulighederne for kommercialisering. Per Bovbjerg Pedersen, Ivar Lund, Svend Jørgen Steinfeldt, Julia Lynne Overton og Mads Nunn.
- Nr. 201-08 Produktion af vandlopper til anvendelse ved opdræt af marin fiskeyngel. Svend Steinfeldt.