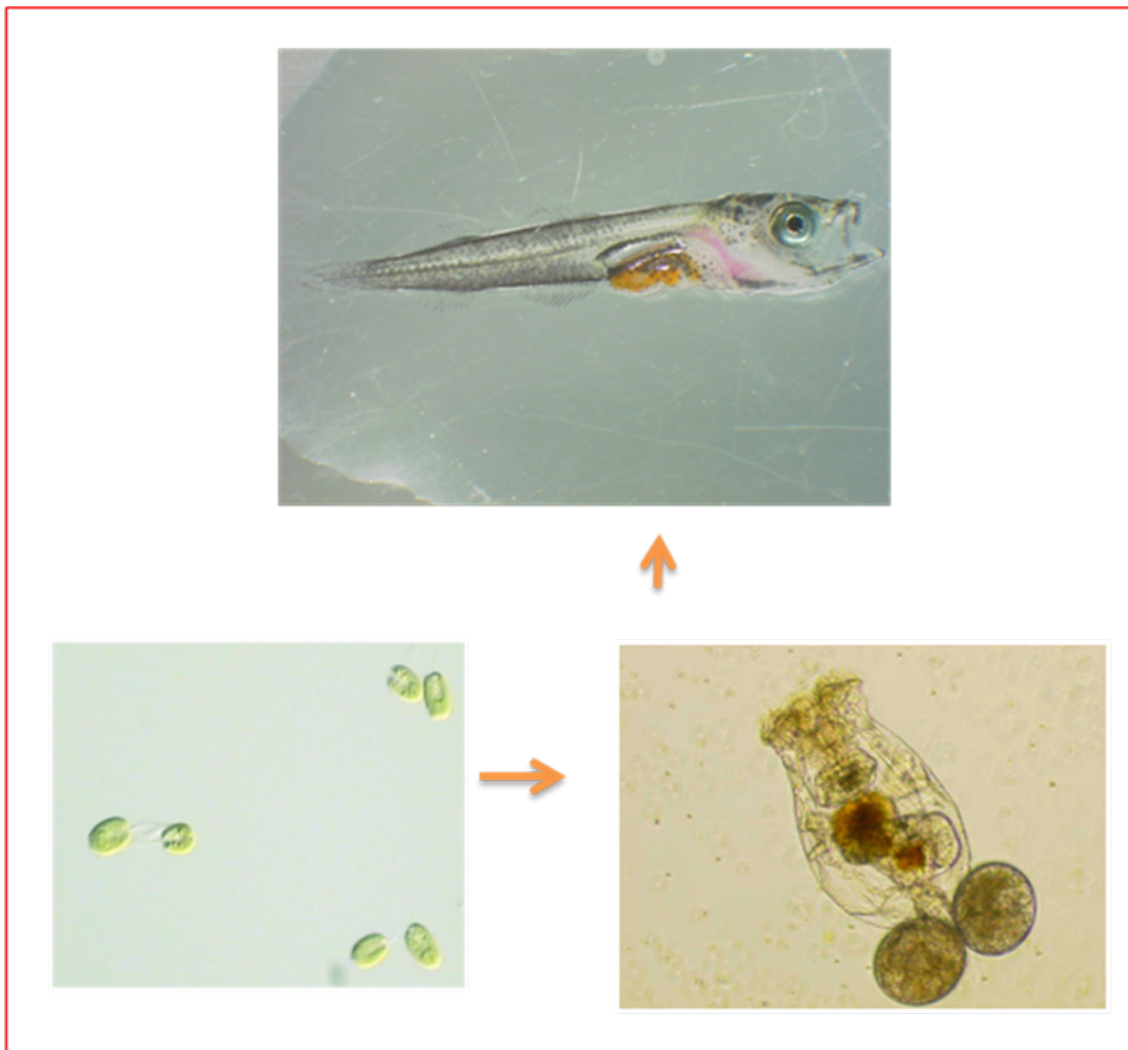


PROSJEKTHÅNDBOK

DYRKING AV LEVENDE FØRORGANISMER TIL BRUK I AKVAKULTUR

ET PROSJEKT I TEKNOLOGI OG FORSKNINSGLÆRE 1

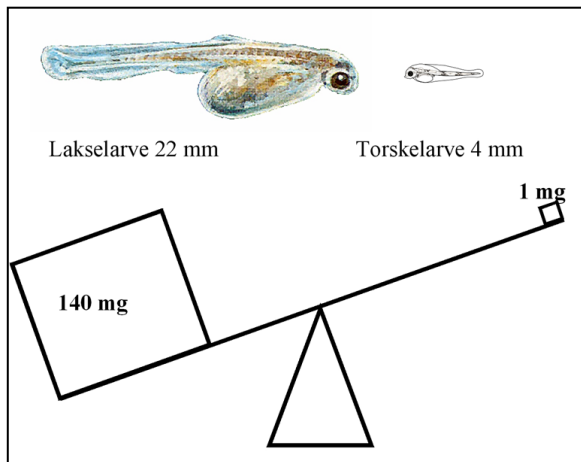


INNHALDSFORTEGNELSE

1.	BAKGRUNN.....	3
2.	INTRODUKSJON OG ROTATORIEBIOLOGI	5
2.1	GENERELL BIOLOGI	5
2.2	MORFOLOGI.....	6
2.3	FÔRING OG FORDØYELSE.....	6
2.4	NERVESYSTEMET.....	7
2.5	BEVEGELSE	7
2.6	REPRODUKSJON	8
2.7	PRODUKSJON AV ROTATORIER.....	8
2.8	DYRKNINGSMETODER.....	9
2.9	TELLING AV ROTATORIER.....	9
2.10	VANNKVALITET.....	10
2.11	ERNÆRING	10
3.	FORSKNINGSMÅL.....	12
	HOVEDMÅL	12
	DELMÅL.....	12
4.	UTSTYR TIL GJENNOMFØRING AV FORSØK	14
5.	FORBEREDELSE OG OPPSTART.....	15
5.1	INNKUBERING OG DRIFT AV ROTATORIEKULTUREN	16
5.2	FÔRING AV ROTATORIEKULTURER.....	17
5.3	DAGLIGE MÅLINGER.....	18
5.4	ANALYSE AV RESULTATER	19
6.	ORDLISTE OG FORKORTELSER.....	20

1. BAKGRUNN

Til industriell produksjon av marin fisk kreves levende organismer som fôr til fisken den første fasen rett etter klekking. Dette er helt vanlig til torsk i Norge og for tilsvarende fiskeslag i Middelhavsområdet og i Asia der produksjon av ulike marine fiskearter er stor. I motsetning til laks, som like etter klekking er så stor at den kan spise pellets, er de marine fiskeslagene så små at de må spise levende fôrorganismer en gitt periode før de gradvis blir tilvendt pellets.



Figur 1. Størrelsesforskjeller på en lakselarve og en torskelarve.

Dyrkning av levende fôrorganismer har derfor blitt en sentral og viktig del av fôringsstrategien som brukes innefor havbruksnæringen både nasjonalt og internasjonalt.

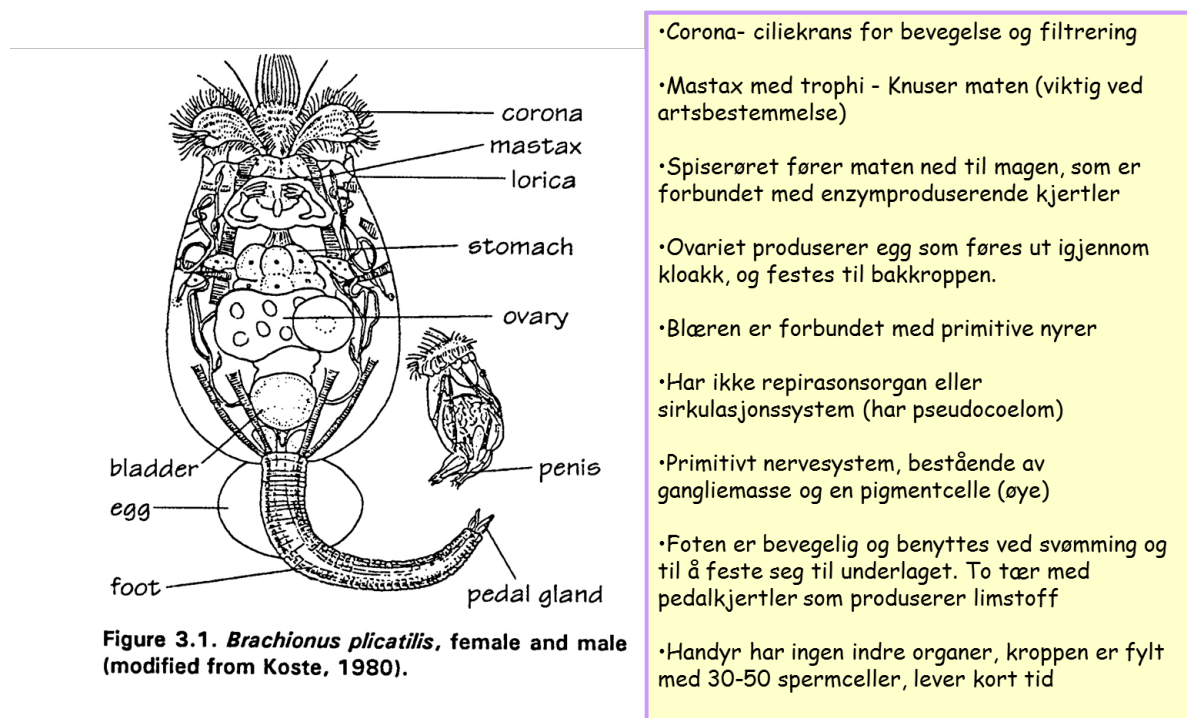
De organismene som brukes som byttedyr til marine fiskelarver i dag er: alger, rotatorier, copepoder og Artemia.



Figur 2. Ulike levendefôrorganismer: det første bildet viser mikroalger, det neste bildet viser 2 rotatorier, det tredje bildet viser en Artemia og det siste bildet viser en copepode.

Hver av disse ulike organismene produseres i store enheter på marine yngelanlegg og overføres til kar med små stadier av fisk. I en slik fase av produksjonen er vannkvalitet av stor betydning (pH, temperatur, salinitet, oksygen, ammonium, nitritt, nitrat samt mikrobiell belastning). Fôret som disse organismene spiser påvirker deres egen overlevelse og kjemisk sammensetningen (lipid, protein, karbohydrater, vitaminer og mineraler), som igjen har avgjørende betydning når disse organismene skal fungere som et optimalt levendefôr til fiskelarvene som skal vokse og utvikle seg normalt.

I beskrivelsen nedenfor har vi valgt ut en akvatisk organisme, en rotatorie (*Brachionus plicatilis*), og beskrevet et prosjekt som kan gjennomføres på skolen i løpet av en periode på 2 til 4 uker.



Figur 3. Illustrasjon av en hunn og hann rotatorie (*Brachionus plicatilis*) med indre organer.

2. INTRODUKSJON OG ROTATORIEBIOLOGI

Rotatorier fra slekten *Brachionus* har blitt benyttet i akvakultur siden tidlig på 60-tallet. (Ito, 1960, omtalt av Nagata and Hirata, 1986). Rotatorier ble først sett på som ett problem pga. oppblomstring i ålekulturer, men etter hvert ble de testet som levendefôr til fiskelarver (Ito, 1960). Den første tiden ble rotatoriene dyrket opp på levende alger, noe som krevde store volum og førte til kulturer med lav tetthet. Etter hvert er nye fôrkilder blitt utviklet, og tettheten i rotatoriekulturer har økt betraktelig. I dag er rotatorier viktig som levendefôr for en lang rekke fiske- og skalldyrarter rundt om i verden.

På norsk kalles rotatorier for hjuldyr på grunn av at ciliekransen på toppen av dyret ser ut som to hjul. Rotatorier blir benyttet som levendefôr fordi de er enkle å dyrke opp i høye tettheter hele året rundt. Rotatoriestørrelsen passer til munnstørrelsen på mange fiskelarver, og svømmeaktiviteten til rotatoriene er rolig, slik at de er enkle å fange for fiskelarvene. Rotatoriene er tolerante og tilpasser seg lett variasjoner i omgivelsene som temperatur, salinitet og pH. Næringsinnholdet i rotatoriene er enkelt å manipulere, og kan bli tilpasset fiskelarvenes behov. De første ukene etter at fiskelarvene har begynt å spise levendefôr er helt avgjørende for fiskelarvens utvikling og levedyktighet. Det er derfor svært viktig å produsere rotatorier med godt næringsinnhold, god mikrobiell flora og høy viabilitet.

2.1 GENERELL BIOLOGI

Rotatorier er små invertebrater som stort sett lever hovedsakelig i ferskvann, men det finnes arter som lever i sjøvann, brakkvann og i fuktige terrestriske miljø, som foreksempel på mose. Det finnes i overkant av 2000 ulike rotatoriearter, og det oppdages stadig nye arter.

Slekten Rotifera er delt i to superklasser kalt Seisona og Eurotatoria. *Brachionus*-komplekset er en av de mest studerte gruppene av rotatorier og taksonomien blir stadig revidert. I akvakultur blir flere ulike *Brachionus*-arter benyttet. Genetiske analyser har vist at det man tidligere trodde var *Brachionus plicatilis*, ikke er en enkelt art men flere ulike arter. Det er antatt at *Brachionus*-komplekset består av 15 arter (Ciros-Perez et al., 2001, Gomez et al.

2002, Suatoni et al., 2006). Genetiske analyser har revolusjonert den taksonomiske klassifiseringen av *Brachionus* arter det siste 10 året.

Identifisering av arter brukt i eksperimenter og ved klekkerier er viktig fordi de ulike artene har forskjellig veksthastighet (Venetia and Vadstein, 2007), lorica lengde, optimum for salinitet og temperatur, svømmeaktivitet, størrelesespreferanse til fôrpartikler (Baer et al. 2008, Vadstein et al. 1993) og biokjemisk sammensetning (Monsen 2007). Dette fører til at både størrelse og næringssammensetning varierer mellom de ulike *Brachionus* artene, som i neste omgang vil være viktig for fiskelarvene. I perioden fra 1950 til år 2000 ble det publisert ca 750 artikler som omhandlet *B.plicatilis*. Dessverre er det kun noen få artikler som har riktig artsbestemmelse, slik at en del av denne akkumulerte kunnskapen har begrenset verdi i dag (Suatoni et al. 2006).

2.2 MORFOLOGI

Brachionus artene har noen særegne trekk som inkluderer corona ("hodet") med en ciliokrans og mastax (Fig. 3). På framsiden av "hodet" sitter corona som består av to konsentriske cilierte "kroner". Dette roterende organet er viktig for matinntaket og for bevegelse. Kroppen er dekket med et skall kalt lorica, som består av keratinliknende proteiner. Lorica har pigger i toppen, og spissheten på disse piggene kan benyttes i artsbestemmelsen. Rotatoriene har også en fot med to tær. Et limliknende sekret kan skilles ut i tærne, slik at rotatorien blir i stand til å feste seg til underlaget. Rotatoriene er i stand til å trekke foten inn i lorica ved hjelp av langsgående muskler. De beveger seg ved hjelp av ciliokransen, foten og bevegelsen blir enklere ved kontraksjon av muskler inne i rotatorien. Rotatorier har et veldig enkelt nervesystem og under corona ligger en enkel stor nerveknute. Fra denne enkle hjernen går to par nerveceller ned i foten, med forgreninger til ulike organer. Rotatoriene har også sensoriske celler som er delt opp i mekaniske reseptorer, kjemoreseptorer og fotoreseptorer.

2.3 FÔRING OG FORDØYELSE

Partikler fra vannet når munnåpningen og passerer svelget. Den cilierte kronen er viktig i fôropptaket. Svelget inneholder mastax hvor fôrpartiklene blir knust i et "oppmalingsorgan" kalt trophi, trolig ved hjelp av enzymer. De harde delene av trophi er viktig i taksonomisk bestemmelse av arter. De knuste fôrpartiklene blir deretter ført ned i fordøyelseskanalen

sammen med magesaft fra store magesaftkjertler, og ekstracellulær fordøyelse skjer i magesekken. Mange ulike enzymer er rapportert fra *B.plicatilis*. Dette omfatter proteaser (Hara et al. 1984a,b, Kuhle og Kleinow 1985, Wetthmar og Kleinow 1993), α -amylase, laminarinase, cellulase, cellobiohydrolase, lysozyme og β -1,3-lucanase (Hara et al. 1997, Kuhle og Kleinow 1985, 1989, 1990). Deretter føres maten ned i tarmen og i kloakken, hvor også væske fra blæren skilles ut sammen med egg fra egglederne. Rotatoriene har ikke respirasjonssystem eller sirkulasjonssystem, og kroppsvesker er lokalisert i "pseudocoelom" (uekte bukhule) (Lubzens 2003). Muskelsammentreknings i kroppen hjelper til med sirkulasjon av kroppsvæske. Rotatoriene bytter gasser og kvitter seg med nitrogenavfall ved diffusjon gjennom kroppsoverflaten, i tillegg har de primitive nyrer som fører avfallstoffer ned i blæren. *B.plicatilis* er osmokonform og det vil si at de justerer kroppsvæskens osmolaritet til den konsentrasjonen i omgivelsene (Epp and Winston, 1977). Kun ved lave saltkonsentrasjoner i omgivelsene, så har rotatoriene høyere konsentrasjon i kroppen (Epp og Winston, 1977). Rotatoriene tåler store variasjoner i salinitet.

2.4 NERVESYSTEMET

Nervesystemet består av en hjerne-nerveknute, og er lokalisert under corona. Nerveceller går ned langs kroppen på hver side til foten, med greiner til andre organer. Rotatorienes sensoriske organer kan deles i mekaniske reseptorer, kjemiske reseptorer og foto reseptorer. De mekaniske reseptorene finnes på corona, antenner, svelg og fot. Kjemiske reseptorer finnes på corona, og er viktig ved valg av forpartikler. Mange arter har en eller flere lysregistrerende øyeflekker.

2.5 BEVEGELSE

Rotatoriene beveger seg ved hjelp av ciliokransen og foten. I tillegg vil muskelsammentreknings i kroppen hjelpe til med bevegelsen. Svømmeaktiviteten blir påvirket av temperatur, salinitet, ammoniakk konsentrasjon, pH, oksygen nivå og fôrkonsentrasjon. Svømmehastigheten kan være en indikator på om forholdene i kulturen er bra eller dårlig.

2.6 REPRODUKSJON

I rotatoriekulturer er normalt alle individene hunndyr. Så lenge kulturbetingelsene er gode vil populasjonen øke ved hjelp av partenogenese (ukjønna formering). Diploide hunndyr produserer diploide egg (amiktiske egg), som vil klekke og utvikle seg til et diploid hunndyr. Seksuell reproduksjon kan skje ved spesielle omstendigheter, og haploide hanndyr vil bli produsert. Mekanismene bak skifte i seksuell og aseksuell formering er ikke helt klarlagt, men laboratoriestudier inkluderer næringstilførsel, tetthet, salinitet og genetiske faktorer (Pourriot and Snell, 1983, Serra and King, 1999, Ricci, 2001). Diploide hunndyr kan enten bli amiktiske eller miktiske og morfologisk er de umulig å skille. Amiktiske hunndyr produserer ved parthenogenese (jomfrufødsel) diploide egg som utvikler seg ved mitose* til hunndyr, mens miktiske hunndyr produserer partenogenetisk haploide egg ved meiose. Dersom en miktisk hunn ikke parer seg og egget ikke befruktes, så utvikles det til et hanndyr. Hanndyrene er mye mindre enn hunndyrene (Fig. 3) og de beveger seg veldig raskt. Etter kjønna formering vil det bli utviklet diploide hvileegg. Hvileeggene vil klekkes etter en hvileperiode (Hagiwara 1996, Lubzens et al. 2001), men de kan overleve mange år i sedimentene før de klekker.

**Mitose er celledeling som fører til to identiske celler, lik den cellen som delte seg, og med like mange kromosomer. Meiose er celledeling hvor antallet kromosomer halveres.*

2.7 PRODUKSJON AV ROTATORIER

Rotatorier kan dyrkes i mange typer systemer, alt fra små bøtter til store betongdammer på mange hundre kubikk. I klekkerier rundt omkring i verden finnes produksjonstanker av ulikt materiale, størrelse og form. Det mest vanlige i norske klekkerier er runde plast eller glassfiber tanker med konisk bunn på mellom 1 og 5 m³, men også større tanker med flat bunn på 5 - 10 m³ blir benyttet. Tankene tilsettes luft via luftesteiner, som sørger for omrøring og oksygen tilførsel ved lave tettheter. Ved høyere tetthet (>500 ind/ml) er det i tillegg nødvendig å ha et system for tilsetning av ren oksygen. Det benyttes ulik temperatur og saltholdighet på vannet avhengig av hvilken rotatorie art som produseres. Vannet som benyttes bør være godt filtrert (ned til 1µm) for å redusere risikoen for forurensning. De vanligste artene benyttet i norske klekkerier dyrkes på 20 - 28 °C og ved en saltholdighet på 20 - 35. I Japan blir rotatoriene føret med konsentrerte alger (ferskvanns Clorella). Denne algen er nå kommersielt tilgjengelig i Norge, og flere klekkerier benytter seg av denne i sin

produksjon. Da *Chlorella* inneholder lite av visse typer fettsyrer som EPA og DHA blir de produserte rotatoriene lite egnet som fôr til marine fiskelarver. Rotatoriene må derfor anrikes med et eget anrikingsfôr etter produksjonen. Rotatorier kan også dyrkes på vanlig bakegjær sammen med en emulgert olje, eller andre kommersielle dietter typisk bestående av en blanding av gjær og mikroalger tilsatt vitaminer og mineraler.

2.8 DYRKNINGSMETODER

Ulike metoder kan benyttes for dyrking av rotatorier. Disse kan beskrives som batch-, semikontinuerlig- og kontinuerlig dyrking. Batch kulturer er produksjon i lukket system med tilgang på luft, oksygen og fôr. Kulturene startes vanligvis på relativ lav tetthet, og høstes i sin helhet etter noen få dager når kulturen har oppnådd en tetthet på 3-4 ganger av start tetthet. Kontinuerlige kulturer er åpne kultursystemer som tilføres de nødvendige ressursene og høstes regulært ved å erstatte et bestemt volum av kulturen per dag (semikontinuerlig) eller kontinuerlig. Begge metodene, samt tilpassede kombinasjoner av metodene blir benyttet i klekkeriene i dag. Når det gjelder valg av dyrkingsmetode vil rotatoriekvalitet, skala for produksjonen, kostnader, risiko og klekkerirutiner påvirke valg av metode. Kunnskap om rotatoriebiologi, ernæring, omgivelsesbehov og egenskaper ved produksjonssystemet er viktig for å oppnå stabil og sikker produksjon av rotatorier.

2.9 TELLING AV ROTATORIER

Det er viktig å beregne riktig tetthet av rotatoriene i en kulturtank pga. at dette tallet er grunnlaget for beregning av fôrdoser. Det er mange muligheter for feilkilder, som f.eks. ved uttak fra kultur tank, uttak fra prøveglass, kalibrering av pipette og menneskelige faktorer. Det er derfor en fordel at de samme personene har ansvar for disse analysene. Prøvetaking kan gjøres ved bruk av en pipette som senkes ned i kulturen eller ned i et begerglass som inneholder en prøve fra kulturen. Det er viktig at rotatoriene i kulturen eller begerglasset der man tar disse prøvene fra er homogent fordelt, det vil si at rotatoriene er jevnt fordelt i vannmassen ved uttaket. Dette kan gjøres ved å røre forsiktig i vannet eller slå innholdet i begerglasset over i et nytt glass rett før uttaket. Deretter tar man ut for eksempel 12 prøver med pipetten (25, 50 eller 100 ul) og overfører disse til en petriskål og tilsetter fytofix (Lugols løsning) til hver dråpe. Dette tar livet av rotatoriene og de blir enklere å telle. Både

antall rotatorier og antall egg telles i alle dråpene, deretter fjernes det høyeste og det laveste tallet, og gjennomsnittet beregnes. Regn om til antall dyr per ml, og beregn total biomasse i tanken. Biomassen kan deretter benyttes til beregning av daglig fôr dose. Eggratioen eller eggfrekvensen blir bestemt av antall egg dividert på antall rotatorier i prøven. Eggratio, antall egg per rotatorie er en viktig indikator for å vurdere kulturstatus. Dette tallet vil gi en indikasjon på forventet vekst til neste dag. Eggratio vil, slik som veksthastighet, avhenge av fôr kvalitet og kvantitet, oksygennivå, ammoniakk nivå, pH, temperatur og salinitet.

2.10 VANNKVALITET

Rotatoriekulturer må observeres daglig siden larveproduksjonen i marine yngelanlegg er helt avhengig av en stabil og forutsigbar produksjon av høykvalitets rotatorier. Et vanlig problem i rotatorieproduksjonen er overføring, som i neste omgang kan føre til oksygenmangel eller for høye ammoniakkkonsentrasjoner. Det optimale ammoniakk nivået er $< 1 \text{ mg l}^{-1}$ og et akseptabelt nivå for ammoniakk og nitrat er $6 - 10 \text{ mg l}^{-1}$ (Lubzens, 2003). I vann vil ammoniakk finnes i to former: NH_4^+ (ammonium) og NH_3 (ammoniakk). NH_3 er giftig for rotatoriene, og andelen av NH_3 i kulturvannet blir påvirket av temperatur, salinitet og pH. Den optimale pH i rotatoriekulturer er $7,5 - 8,5$ (Hirano 1987). For å sikre omrøring og tilstrekkelig oksygen til kulturene blir luft og oksygen tilsatt over konen i kulturtankene. Oksygennivået bør være over 4 ppm. De fleste klekkerier har automatisk overvåkning og dosering av oksygen konsentrasjonen i vannet. Dette gjør det enkelt å holde oksygeninnholdet godt innefor tålegrensen til rotatoriene og kulturene har typisk en oksygenmetning på 90 - 100 %.

2.11 ERNÆRING

Rotatorier kan spise et stort spekter av partikler, inkludert bakterier, protozoer, mikroalger og dødt organisk materiale. Rotatorier kan spise partikler innen en viss størrelse, så det er derfor viktig å sjekke partikkelstørrelse på kultiveringsfôr og anrikingsfôr. *B.plicatilis* er i stand til å konsumere større partikler enn *B. rotundiformis*. I tillegg til partikkelstørrelse må fôret tilfredsstillende de ernæringsmessige kravene og gi tilfredsstillende hygieniske forhold i kulturtankene. Mange arter av mikroalger er perfekt fôr for rotatorier. Det finnes flere ulike konsentrat av mikroalger som er kommersielt tilgjengelig. Bruk av mikroalger som fôr gir

ofte høyere eggratio og veksthastighet, i tillegg til lavere bakterietall enn ved bruk av formulerte dietter eller bakegjær. Mikroalgediettene er ofte mer kostbare enn gjær og andre kulturfôr. En relativt billig diet kan være bakegjær sammen med en liten andel mikroalger (5-10 %). En annen fordel med bruk av mikroalger er at overføring tåles bedre enn ved gjærbaserte dietter. Som regel så vil ikke kultiveringsdiettene inneholde nok av de næringsstoffene som fiskelarven trenger, så rotatoriene må korttidsanrikes noen timer før de benyttes som fôr til fiskelarvene.

3. FORSKNINGSMÅL

HOVEDMÅL

Bestemme hvilke dyrkningsforhold som gir størst produksjon av rotatorier (høyest biomasse) innen et oppgitt tidsrom på 1 - 2 uker.

DELMÅL

Sammenligne kulturer som er produsert ved ulike betingelser, gjennom variasjon i:

- Temperatur
- Fôrmengde
- Fôrtype
- Tettheter av dyr

ROTATORIER

Brachionus plicatilis er en av mange arter i rotatoriefamilien og det er denne arten som skal brukes i prosjektet. Den er 130 - 340 µm lang. Dyrkningstemperaturen er optimal ved 18 – 25 °C, og salinitet ved 20 - 25 ppt. De har en levetid på ca. 12 dager og i denne perioden kan de kan produsere ca. 20 egg. Ett individ har normalt 1 - 3 egg, og det tar 8 - 9 timer fra ett egg dannes til det klekker. Produksjon av egg er en indikasjon på gode vekstvilkår.

Rotatorier er ideell som levende fôr for fiskelarver på grunn av:

- Størrelsen passer bra til startfôringsklare larver
- Enkel å dyrke i stor skala
- Hardfør organisme (det tåler stor variasjon i temperatur, 3 – 40 °C, og salinitet, 1 - 97 ppt)
- Lett å manipulere næringsverdien ("du blir det du spiser")
- Lett å fange for fiskelarver (de svømmer langsomt)
- Lett fordøyelig



Figur 4. Rotatorie sett under mikroskop.



Figur 5. Rotatorie med to egg. Legg også merke til algene i vannet omkring rotatorien.

4. UTSTYR TIL GJENNOMFØRING AV FORSØK

Tilsendes fra SINTEF:

- Rotatoriekultur

Kjøpes inn på akvariebutikk:

- Akvariesalt (dersom man ikke har tilgang på rent sjøvann)
- Akvariepumpe
- Silikonslange med luftstein (se bildet)
- Algepasta (et alternativt fôr er fersk gjær)
- Kit for måling av ammonium, nitrat og nitritt, oksygen (hvis målere ikke er tilgjengelig på skolen)



På skolen:

- 1-3 akvarier eller bøtter (dyrkningskar) på 5-10 l pr. gruppe (se bildet)
- Sjøvann på 25 ppt (blanding av ferskvann og akvariesalt)
- Evt. varmekolbe (for å holde en konstant temperatur)
- Petriskåler
- farris eller lugols løsning
- Stereolupe/mikroskop
- pH-meter
- Måleutstyr for måling av ammonium, nitrat og nitritt, oksygen



5. FORBEREDELSE OG OPPSTART

Eksperimentet må klargjøres i god tid for å sjekke at systemene virker!

Velg dyrkningsbetingelser og nødvendig antall paralleller (min 3 pr behandling) og rig opp i henhold til det. 1 eksperimentell enhet tilsvarer 1 akvarium eller bøtte.

Følgende må gjøres **før oppstart**:

- Monter utstyr: 1-3 enheter pr gruppe
- Lag sjøvann med en salinitet til 20-25 ppt, ved å blande ferskvann og akvariesalt i riktige forhold
- Ha maten klar
- Gjør klar biofilter og la den modnes (nivå 2)
- Mål vannparametrene før rotatoriene inkuberes i systemet

Følgende må gjøres **ved oppstart**:

- Inkuber rotatoriene i riktig tetthet (etter eget ønske)
- Mål starttetthet (i antall/ml)



Bilde 6. Klargjøring av utstyr til eksperimentet: bøtte, luftpumpe m/slange og boblestein, og evt. varmekolbe.

5.1 INNKUBERING OG DRIFT AV ROTATORIEKULTUREN

Når utstyret er klargjort kan rotatoriene inkuberes og forsøket starte. Det er viktig i denne fasen at tettheten i kulturene er lav og ligger mellom 40 og 50 ind/ml. Dette kan beregnes på følgende måte:

Eksempel på oppstart av kultur

Det totale dyrkningsvolumet som skal brukes er på 100 liter (10 bøtter hver på 10 liter). Tettheten i kulturene skal være 45 ind/ml.

Det totale antall rotatorier: $45 \text{ ind/ml} \times 10\,000 \text{ ml} \times 10 \text{ bøtter} = 4\,500\,000 \text{ ind}$

SINTEF skal levere dette antallet dyr og de har en kultur der tettheten er 500 ind/ml

Volumet med dyr som skal hentes på SINTEF: $4\,500\,000 \text{ ind} / 500 \text{ ind/ml} = 9\,000 \text{ ml}$ (9 liter)

Drift av kulturen

Hver dag (unntatt helgene) må dyrene mates med riktig mengde fôr (mengde mat pr enhet kan velges selv i ulike behandlinger, og kan evt. endres etter hvert på basis av målingene og observasjonene).

Daglig skal følgende sjekkes:

- Bobling
- Vannstand (evt. etterfylling med ferskvann, slik at riktig salinitet opprettholdes)
- Hygiene (lukt, renhold)

Hver hendelse noteres ned: oppgi dato, forsøksdag, enhet, navn på observatør, og evt. tiltak som ble gjort.

Observasjoner som gjøres hver dag:

- Rotatorier under mikroskop: kan du identifisere dyr med og uten egg/mat, se hvordan de beveger og hvordan de indre organene arbeider. Tegn et individ på et ark.
- Kan du observere andre organismer i akvariene? Se etter ciliater (også kalt flimmerdyr), amøber, alger, gjærceller, observer disse under mikroskop og tegn.
- Begroing: vokser det alger i vannet, eller på veggen av akvariene? Ta en prøve og se på den under mikroskop.

5.2 FØRING AV ROTATORIEKULTURER

Når små kulturer av rotatorier skal føres kan det være vanskelig å veie så små førmengder ved å bruke en digitalvekt ettersom det vil kreve en vekt med stor nøyaktighet. Normalt brukes 1,1 – 1,2 g gjær pr 1 million rotatorier, med algepasta benyttes et gitt volum pr 1 million rotatorier. Dette er oppgitt for hver enkelt type algepasta.

Alternativet er å bruke turbiditet (siktedyp) som et mål på mengden fôr pr enhet (bøtte). Denne metoden er helt grei i liten skala der føret blandes i et begerglass og overføres til en rotatoriekultur slik at oppløst mengde gjær eller algemengde tilsvarer tettheten i rotatoriekulturen slik det er vist i Figur 7.



Figur 7. Turbiditet i to begerglass med vannprøver tatt fra en rotatoriekultur føret enten med bakegjær eller algepasta. Algemengden tilsvarer 1,1 g gjær pr 1 million rotatorier.

5.3 DAGLIGE MÅLINGER

Under prosjektet skal følgende målingene gjennomføres:

Rotatorieprøver:

Ta ut telleprøve (12x1 ml) med pipette, bruk lugols løsning (eller evt. farris) for å bedøve dyrene, og registrer:

- Antall dyr pr ml
- Gjennomsnitt antall egg pr dyr

Ta noen ekstra prøver ved avslutning av forsøkene.

Vannprøver:

- Temperatur
- pH
- Registrering av nitrogenforbindelser (kit for måling av N-forbindelser kan kjøpes på akvarieforetninger)
- O₂ (og evt. CO₂)

5.4 ANALYSE AV RESULTATER

Under forsøkene registreres alle målingene som nevnt ovenfor i et regneark. Det blir basisen for beregninger som skal gi innsikt i dyrkingsmekanismene og samspillet mellom vekst/overlevelse og ytre faktorer, som mat, temperatur, vannkvalitet.

Rotatoriersultater:

- Total antall dyr pr behandling (antall pr volumenhet x volum)
- Daglige og sluttbiomassen (antall x snittvekt – både tørr- og våtvekt)
- Eggfrekvens (gjennomsnitt antall egg pr dyr)
- Vekstkurve (biomasse som funksjon av tid)
- Veksthastighet ved ulike faser i vekstkurven
- Fôrfaktor ("mat ut/mat inn")
- Sammenlign ulike grupper og se på variasjon mellom replikater (kjør statistikk): se på effekter av biotiske elementer

Vannkvalitetresultater:

- Grafisk illustrasjon av forløp i vannparametere (temperatur, oksygen, pH)
- Identifiser evt. kritiske faktorer

Sluttresultater:

- Hva er sluttbiomassen ved ulike behandlinger (beregnet også variasjonen)?
- Sammenlign vekstkurven med grafen over vannkvalitet: ser du sammenhenger? Hvilken effekt har abiotiske elementer på dyrene, og hvilke faktorene er de mest kritiske?

6. ORDLISTE OG FORKORTELSER

- Artemia: krepsdyr som ofte brukes som levende fôrorganisme til marine fiskelarver
- amiktiske egg: egg som dannes uten kjønnet befruktning
- copepoder: små krepsdyr (hoppekreps) som lever både i sjøvann og ferskvann
- DHA: meget viktig marin fettsyre (22:6n-3). Har en lange hydrokarbonkjede (22 karbon-atomer) med 6 dobbelbindinger der første dobbelbinding er mellom karbonatom 3 og 4 regnet fra karboksylgruppe (COOH) i enden av molekylet
- emulgert olje: olje som vanligvis har et høyt innhold av n-3 fettsyrer og som brukes som fôr til rotatorier og Artemia. Oljen emulgerer i vann og danner små partikler
- EPA: meget viktig marin fettsyre (20:5n-3). Har en lange hydrokarbonkjede (20 karbon-atomer) med 5 dobbelbindinger der første dobbelbinding er mellom karbonatom 3 og 4 regnet fra karboksylgruppe (COOH) i enden av molekylet
- fettsyre: lange hydrokarbonkjeder (typisk 12-22 karbon-atomer) med en karboksylgruppe (COOH) i enden
- fiskelarve: fiskens stadium rett etter klekking
- fotoreseptorer: senseceller som responderer på lys
- invertebrater: dyr uten ryggstøyle
- kjemoreseptorer: senseceller som reagerer på kjemiske forbindelser
- næringsinnhold: innhold av lipider (fett), proteiner, vitaminer og mineraler
- pellets: fôrpartikler som er kommersielt tilgjengelig og produsert i en fôrfabrikk
- salinitet: saltholdighet
- viabilitet: bevegelighet

LYKKE TIL!

Synes du dette var et interessant prosjekt? Da kan du kanskje være interessert i å studere videre innenfor den retningen ved universitet? Det gir et godt grunnlag for gode, varierte, interessante jobber innen akvakultur, marin forvaltning og marin forskning.

Mer informasjon:

www.settsjobein.no

www.ntnu.edu/marine