

# “DIVERSIFY”: EIN EU PROJEKT, WELCHES DAS BIOLOGISCHE UND SOZIO-ÖKONOMISCHE POTENTIAL VON NEUEN/AM MARKT AUFSTREBENDEN FISCHARTEN FÜR DIE EXPANSION DER EUROPÄISCHEN AQUAKULTURINDUSTRIE UNTERSUCHT

Rocio Robles<sup>1</sup> and Constantinos C. Mylonas<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dissemination leader, Aquaculture Technological Center of Andalusia (CTAQUA), Muelle Commercial s/n, 11510 El Puerto de Santa María, Cádiz, Spain ([r.robles@ctaqu.es](mailto:r.robles@ctaqu.es))

<sup>2</sup> Project Coordinator, Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Center for Marine Research (HCMR), Iraklion, Crete, Greece ([mylonas@hcmr.gr](mailto:mylonas@hcmr.gr))

## Introduction

DIVERSIFY ([www.diversifyfish.eu](http://www.diversifyfish.eu)) begann im Dezember 2013 mit dem Ziel neue/am Markt aufstrebende Fischarten das notwendige Wissen für die Diversifizierung der Europäischen Aquakulturproduktion zu erwerben. Das Projekt hat ein Budget von 11.8 Millionen Euro bei einer Laufzeit von 5 Jahren (2013-2018). Es ist somit das größte Forschungsprojekt im Bereich Aquakultur, das von der Europäischen Kommission gefördert wird.

Rocio Robles, Leitung Öffentlichkeitsarbeit, Aquaculture Technological Center of Andalusia (CTAQUA), Muelle Commercial s/n, 11510 El Puerto de Santa Maria, Cádiz, Spanien und Constantinos C. Mylonas, Projektkoordinator, Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Hellenic Center for Marine Research (HCMR), Iraklio, Kreta, Griechenland DIVERSIFY hat eine Reihe von neuen/am Markt aufstrebende Fischarten mit großem Potential für die Expansion des EU-Aquakultursektors identifiziert. Diese Fische wachsen schnell und/oder es handelt sich um besonders große Arten, welche mit hoher Wertschöpfung zu einer Reihe von Produkten weiterverarbeitet werden können, um den Verbraucher mit einer größeren Produkt- und Artenauswahl zu versorgen.

Diese Fischarten umfassen den Adler- oder Umberfisch (*Argyrosomus regius*), die Große Bernsteinmakrele (*Seriola dumerili*), den Wrackbarsch (*Polyprion americanus*) und den Atlantischen Heilbutt (*Hippoglossus hippoglossus*). Zusätzlich wurde die omnivore und euryhaline Großkopfmeeräsche (*Mugil cephalus*) aufgenommen, welche sich unter verschiedenen Umweltbedingungen und mit günstigem Futter mit geringen Fischmehl/ -öl Anteilen produzieren lässt, sowie der Zander (*Sander lucioperca*), einer Süßwasserart mit guten Eigenschaften für die Produktion in rezirkulierenden Aquakultursystemen (RAS).

Jede der für DIVERSIFY ausgewählten Arten hat das Potential am Markt zu wachsen und zu Produkten mit hoher Wertschöpfung weiterverarbeitet zu werden. Es wird erwartet, dass ihr biologisches und ökonomisches Potential das Wachstum des Europäischen Aquakultur Sektors stimuliert.

## Reproduktion & Genetik

Im Bezug auf die kontrollierte Reproduktion der Großen Bernsteinmakrele können große Erfolge vermeldet werden. Auf den Kanaren (Spanien) haben die Fische spontan und natürlich in Becken gelaicht, während die Verwendung von Implantaten mit Agonisten des Gonadotropin-freisetzenden Hormons (GnRHa) zu einer großen Anzahl Eiern in hoher Qualität führte (**Abb. 1**).

In der Reproduktionssaison des Jahres 2016, wurden in Griechenland in drei Laichgruppen aus Netzgehegen mehr als 50 kg Eier produziert (**Abb. 2**). Die Abteilung für Larvenhaltung des HCMR konnte ungefähr 150.000 Juvenile heranzüchten (**Abb. 3**). Mit diesen Juvenilen wurden fünf kommerzielle Farmen in Griechenland versorgt, um erstmalig großangelegte, kommerzielle Wachstumsversuche mit dieser Art im mediterranen Raum durchzuführen (**Abb. 4**).

Im Bezug auf Arbeiten beim Atlantischen Heilbutt haben Experimente gezeigt, dass F1 Tiere im Vergleich zur Kontrolle mit GnRHa Implantaten zu einem frühzeitigen Laichen mit höherer Fekundität gebracht werden konnten. In den kommenden Jahren sollen diese Arbeiten unter Einschluss von zusätzlichen Laichtieren kommerzieller Betriebe ausgeweitet werden.

Die Arbeit mit Wrackbarschen ergab interessante Ergebnisse sowohl im Bezug auf spontanes, natürliches, sowie auf durch GnRHa induziertes Laichen in Becken und das Abstreifen, sowie die in vitro Befruchtung der Gameten (**Abb. 5**). Obwohl nur eine geringe Zahl befruchteter Eier gewonnen wurde, konnte die Haltung der Larven über einen Zeitraum von 27 Tage wichtige Einblicke in kritische Haltungsparameter gewähren.

Obwohl diese Ergebnisse weit hinter den Erfolgen bei der Großen Bernsteinmakrele zurückliegen, ist dies das erste Mal, dass eine beträchtliche Menge Eier dieser Tiefsee-Art für Experimente zur Larvenhaltung zur Verfügung standen.

Arbeiten mit der Großkopfmeeräsche resultierten in einem prozentualen Anstieg der Gonadenreifung und einer verbesserten Synchronisation der Gonadenentwicklung durch Behandlungen mit rekombinantem Follikel stimulierenden Hormon (FSH) und Metoclopramid. Die meisten Weibchen konnten durch GnRHa und Metoclopramid erfolgreich zum Laichen gebracht werden mit dem Ergebnis, dass viele Millionen Eier und Larven produziert werden konnten. Das beobachtete Ausbleiben der Ovulation bei vielen Weibchen (ca. 42%), sowie die hohe Variabilität im Befruchtungserfolg (0-90%) bleiben allerdings Probleme, welche zukünftig adressiert werden müssen.

Beim Adlerfisch und Zander wurden Laichfischbestände genetisch untersucht, um Werkzeuge für die genetische Optimierung zur Verfügung zu stellen und um zu zeigen, dass genügend Variation vorhanden ist, um Zuchtprogramme zu unterstützen und um Strategien zur Verbesserung der Laichfischbestände zu entwickeln. Beim Adlerfisch konnte weiterhin gezeigt werden, dass paarweise Reproduktion (einzelnes Männchen und Weibchen) die Produktion bekannter Familien für Zuchtprogramme ermöglicht.

### **Ernährung**

Die bisherigen Ergebnisse konnten das Umstellungsfutter beim Adlerfisch verbessern. Es wurde gezeigt, dass ein Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (HUFA, von engl. highly unsaturated fatty acids) von bis zu 3%, sowie Vitamin E und C über 1500 bzw. 1800 mg kg<sup>-1</sup> besonders wichtig sind. Produkte zur Futteranreicherung für die Große Bernsteinmakrele konnten durch die Identifikation optimaler Mengen an Docosahexaensäure (DHA, 1-2%) ebenfalls verbessert werden, um Knochendeformationen vorzubeugen und das Wachstum zum Überleben zu erhöhen.

Zusätzlich wurde eine optimale Methode für die effektive Anreicherung von Rotiferen für Große Bernsteinmakrelen entwickelt. Spezifische Futtermittel für diese Art und den Wrackbarsch wurden zusammengestellt, basierend auf bibliographischen und analytischen Studien. Versuche zum Umstellungsfutter beim Zander sind ebenfalls angelaufen. Diese richten sich vor allem an die Ansprüche an essentiellen Fettsäuren.

Die Versuche zur Produktion von aufgewachsenen Artemien für den Atlantischen Heilbutt sind abgeschlossen, haben aber nicht zu einer Verbesserung der Produktion von juvenilen Tieren geführt.

### **Larvenhaltung**

Arbeiten beim Adlerfisch haben gezeigt, dass die Larven bereits 10 Tage nach dem Schlupf (dph, von engl. days post hatching) auf Trockenfutter umgestellt werden können, ohne dass Knochenwachstum oder Ernährungszustand beeinträchtigt wurden. Allerdings sollten zusätzlich das Wachstum und die Überlebensrate in Betracht gezogen werden. Kannibalismus konnte durch kurze Futterintervalle, durch das Entfernen großer Individuen, durch regelmäßiges Sortieren und durch dunkle Haltung bei Futterknappheit kontrolliert werden.

Bei der Großen Bernsteinmakrele wurden Haltungsparameter für die Anwendung in der semi-intensiven Mesokosmos-Methode und der intensiven Methode etabliert, große Mengen juveniler Tiere produziert (**Abb. 3 und 4**) und zur Mast in Netzgehegen weitergeleitet.

Bisherige Ergebnisse haben gezeigt, dass die intensive Haltung Amylase, alkalische Protease und Pepsin Aktivitäten in 30 dph Larven begünstigt, wohingegen in früheren Stadien (12 dph) die Amylase Aktivität ebenfalls höher war, Aktivität der alkalischen Protease und Lipase jedoch nicht.

Die Auswirkungen ausgewählter (einzeln und in Kombination) Umweltfaktoren (u. a. Lichtintensität, Wassertauschrate, Strömungsrichtung und Dauer der Beckensäuberung) auf die Larvenhaltung beim Zander wurde mit einem multifaktoriellen experimentellen Design untersucht.

Beim Atlantischen Heilbutt läuft gegenwärtig eine Studie um die Effizienz von Durchflussanlagen und RAS zu vergleichen. Die Larvensterblichkeit in RAS ist höher im Laufe der ersten Woche nach dem Schlupf.

Beim Wrackbarsch galt es die optimalen Bedingungen zur Larvenhaltung zu ermitteln. Obwohl die Überlebensraten der Larven gering waren, konnte Probenmaterial zur Bestimmung der larvalen Fettsäurezusammensetzung nach 0, 5 und 10 Tagen genommen werden. Erste Ergebnisse zeigen, dass die Fettsäurezusammensetzung während dieser ersten 10 Tage kaum schwankt.

Zusätzlich wurde die Embryonal- und Larvenentwicklung dokumentiert (**Abb. 6**). Obwohl die Larvenhaltung sicherlich weiter entwickelt werden muss, sind diese ersten Bemühungen unersetzlich zur Evaluierung der Eignung dieser Tiefseeart für die kommerzielle Nutzung.

Bei der Großkopfmeeräsche wurde gezeigt, dass die Aufnahme von Rotiferen und das Überleben der Larven von der Algentrübung in den Haltebecken abhängen, jedoch nicht vom Algentyp. Höheres Überleben resultierte in einer größeren Anzahl kleiner Fische und somit zu einem geringeren Durchschnittsgewicht. Außerdem wurde eine Wachstumskompensation nach einer Größensortierung 29 dph beobachtet.

### **Mast**

Die Evaluation des Fütterungsverhaltens beim Adlerfisch hat gezeigt, dass juvenile Fische in der Lage sind, bestimmte Futterstimuli zu adaptieren und dauerhaft zu erlernen (**Abb. 7**). Kleine Fische mit 50-100 g Körpergewicht reagierten schnell auf Lichtreize (2 Tage nach Beginn des Experiments), jedoch nur langsam auf mechanische Reize (Luftblasen).

Größere Fische (200 g) reagierten schnell auf beide Reize. Die Studie zeigte, dass beide Reize (Licht und Luftblasen) im industriellen Maßstab anwendbar sind, denn sie sind für den Einsatz in bestehenden Netzgehegen ohne weiteres zu konstruieren, einzubauen und zu betreiben.

Beim Zander fokussierten die Haltungsstudien während der Mast auf die Effekte von (a) Umweltparametern, (b) Farmbedingungen und (c) Grad der Domestikation und Herkunftsregion auf das Wachstum, sowie den Immunstatus und die Physiologie.

Die erste Studie über das optimale Umstellungsfutter für Großkopfmeeräschen wurde abgeschlossen. Fischmehlsubstitution hatte keinen Einfluss auf die untersuchten Leistungs- und Konditionsparameter. Die Umstellung von wildgefangener zooplanktivoren Brut der Großkopfmeeräsche auf Trockenfutter kann mit Nahrung mit hoher Substitution des Fischmehlanteils erfolgen.

Außerdem wurde eine Maststudie in Spanien und Griechenland begonnen, in der wildgefangene Brut unter verschiedenen Umweltbedingungen und Besatzdichten bei Verwendung eines DIVERSIFY Mastfutters bis zur Schlachtreife herangezogen werden.

### **Fischgesundheit**

In einem ersten Experiment wurde die Ontogenese der Immunantwort beim Adlerfisch charakterisiert. Hierzu wurden zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Schlupf Probenmaterial entnommen. Proben verschiedener Gewebetypen juveniler Fische zur Untersuchung der Genexpression liegen ebenfalls vor. Die Entwicklung eines Challenge-Modells mit *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida* beim Adlerfisch und der Großen Bernsteinmakrele ist angelaufen.

Bei diesen beiden Arten wurden ebenfalls Anstrengungen unternommen, um Pathogene aus der Haltung zu isolieren (**Abb. 8**). Weiterhin wurden verschiedene Parasiten- und Bakterienarten isoliert und identifiziert (*Epitheliocystis* bei der Großen Bernsteinmakrele). Der Hakensaugwurm *Zeuxapta seriola* war das vorherrschende und wichtigste parasitäre Pathogen.

Neben *Zeuxapta seriola* wurde der Pärchenegel *Paradeontacylix* sp. in Großen Bernsteinmakrelen aus Griechenland nachgewiesen (**Abb. 8**). Es gibt nur spärliche Informationen zur Biologie dieses Parasiten und der Lebenszyklus ist nahezu unbekannt. Ein Gerät zur passiven Kollektion wurde entwickelt und getestet, um den Infektionsgrad von Hakensaugwürmern bei der Großen Bernsteinmakrele in Beckenhaltung zu messen und zu quantifizieren.

Bezüglich des Atlantischen Heilbutts sind gute Fortschritte bei der Produktion von VNN (von engl. Viral Neural Necrosis) Kapsid-Protein zu verzeichnen. Die Expression in *E. coli*, Tabakpflanzen und *Leishmania* war erfolgreich. Im Vergleich zu höheren Eukaryoten glykosylieren Bakterien das exprimierte Protein jedoch nicht.

Durch die Expression des rekombinanten Kapsid-Proteins des Nodavirus in verschiedenen Systemen sollte es möglich sein herauszufinden, ob posttranslationale Modifikationen die Antigenität beeinflussen und hiermit die schützenden Eigenschaften bei Verwendung als Antigen in Impfstoffen leisten können.

## Sozioökonomie

Die durchgeführte Analyse des Makro-Umwelt-Kontextes zeigte auf, dass die meisten EU Staaten eine Strategie zur Steigerung des Fischverzehr verfolgen, der Verzehr von Meeresfrüchten in den meisten dieser Ländern ebenfalls angestiegen ist.

Dieses Wachstum kann dabei nur auf Kosten anderer Proteinquellen stattfinden, da sich der Proteinmarkt in den vergangenen Jahren stabilisiert hat. In den südlichen Ländern wird mehr frischer Fisch als Ganzes verspeist, während in den nördlichen Ländern verarbeiteter Fisch bevorzugt wird.

Die Präferenz der Verbraucher scheint sich im Bezug auf gezüchteten Fisch hin zu Fertiggerichten und standardisierten Produkten, wie Fischfilets, portionierten Mahlzeiten und verarbeiteten Speisen anzugleichen. Industrielle Einkäufer im Norden der EU arbeiten eng mit ihren vertrauten Zulieferern zusammen um neue Produkte zu entwickeln, während die südliche EU als Verkäufermarkt definiert werden kann, da neue Produktangebote häufig von Zulieferern initiiert werden. Beim Herantreten an industrielle Käufer sollten Farmer in der Lage sein, eine lückenlose Dokumentation des Produktionsprozesses vorzulegen.

In der Verbraucherumfrage konnten drei Segmente identifiziert werden: (1) interessierte, traditionelle Verbraucher (29%), die sich relativ gut mit Fischen auskennen und traditionelle Fischprodukte kaufen; (2) interessierte Innovatoren (36%), die sich relativ gut mit Fischen auskennen und sich offen zeigen, neue Produkte zu kaufen; (3) nicht eindeutige, indifferente Verbraucher (35%), die relativ wenig über Fische wissen und weniger offen für den Kauf neuer Produkte sind.

Auf Grundlage der ersten Ergebnisse, lassen sich über ein Drittel der Verbraucher aus den ausgewählten fünf Ländern der Befragung zu der Gruppe der ‚interessierte Innovatoren‘ zuteilen. Diese könnten am Kauf neuer Fischarten interessiert sein.

Aus insgesamt 41 Konzepten mit hoher Wertschöpfung der DIVERSIFY Arten wurden 12 Produkte ausgewählt, basierend auf dem unterschiedlichen Grad technologischer Komplexität und Verarbeitung, sowie unter Berücksichtigung der Eignung der untersuchten Arten: Intrinsische (sensorische Eigenschaften) und extrinsische Eigenschaften (Information vorausgesetzt) der ausgewählten Konzepte/Produkte wurden durch Verbraucher in fünf Ländern (Frankreich, Deutschland, Italien, Spanien und Großbritannien) beurteilt (**Abb. 9 und 10**).

Alle bisherigen Ergebnisse wurden auf wissenschaftlichen Konferenzen und jährlichen Koordinationstreffen präsentiert. Das nächste jährliche Treffen wird im Januar 2017 in Barcelona stattfinden (<http://www.diversifyfish.eu/2017-annual-coordination-meeting-jan.html>).

## Acknowledgements



Co-funded by the Seventh  
Framework Programme  
of the European Union



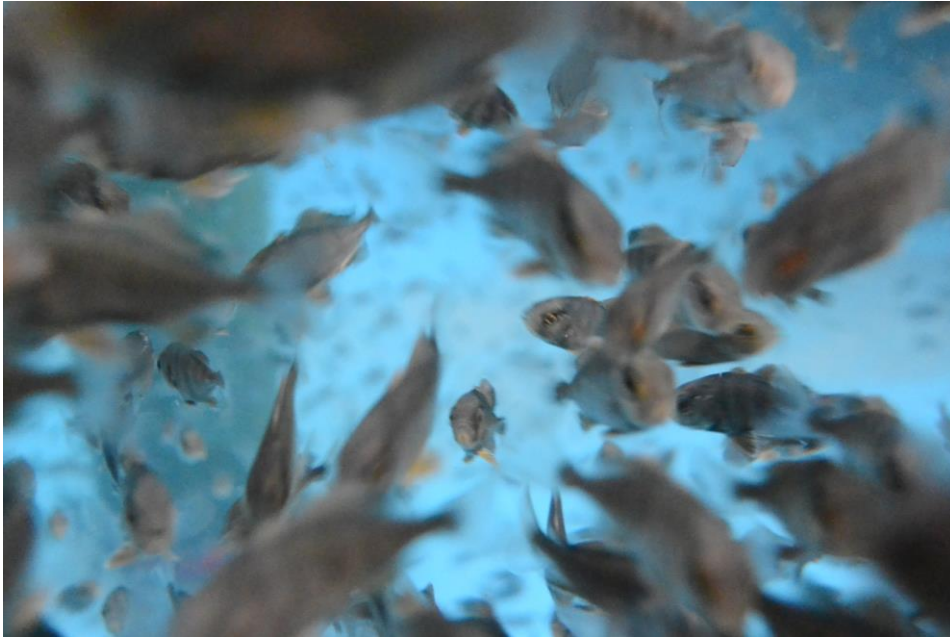
Das DIVERSIFY Projekt wird unterstützt durch das *Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration* (KBBE-2013-07 single stage, GA 603121, DIVERSIFY) der Europäischen Union.



**Abbildung 1:** Einsetzen von GnRHa Implantaten bei Laichfischen der Großen Bernsteinmakrele zur Laichinduktion während der Reproduktionszeit (Foto: HCMR).



**Abbildung 2:** Laichfische der Großen Bernsteinmakrele in einem Netzkäfig in Griechenland, welche durch GnRHa Verabreichung zum Laichen gebracht wurden (Foto: HCMR).



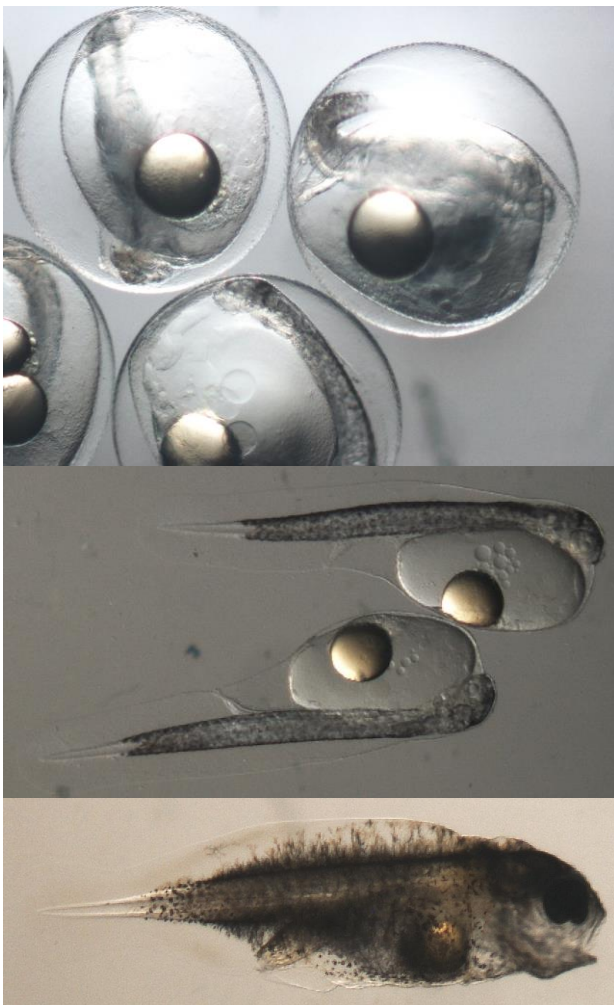
**Abbildung 3:** Juvenile Große Bernsteinmakrelen produziert durch die Larvenhaltungsabteilung des HCMR im Jahr 2016 (Foto: HCMR).



**Abbildung 4:** Juvenile Große Bernsteinmakrelen des HCMR, welche zur Mast an unterschiedliche Netzgeheganlagen versandt wurden (Foto: HCMR).

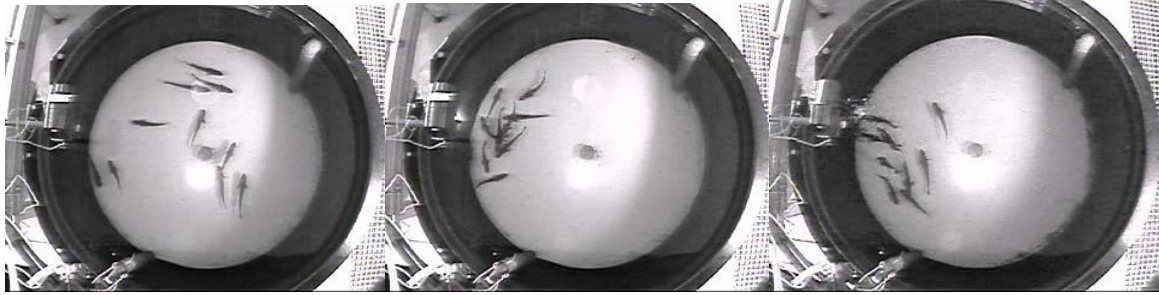


**Abbildung 5:** Probenahme beim Wrackbarsch (Gonadenbiopsie) zur Feststellung des Reife- und Entwicklungsgrades (Fotos: Aquarium A Coruna).



**Abbildung 6:** Wrackbarschlarven kurz vor dem Schlupf (oben), einen Tag (mittig) und 13 Tage nach dem Schlupf (unten) während des Haltungsverstuchs im Aquarium A Coruna, Spanien (Fotos: Aquarium A Coruna).

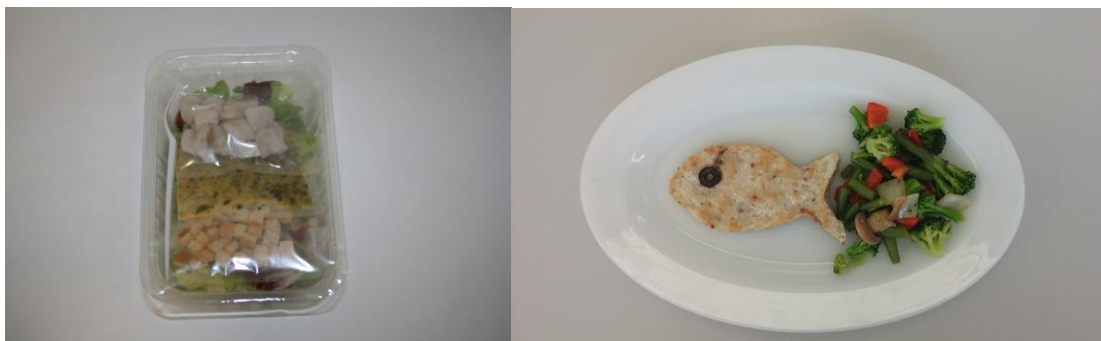




**Abbildung 7:** Experiment zum Fraßverhalten juveniler Adlerfische. Die Fische waren normalerweise zufällig im Becken verteilt (links), wenn sie jedoch einem Lichtreiz ausgesetzt waren (mittig) sammelten sie sich um die Lichtquelle herum und fraßen zügig Futter, welches von einem elektrischen Fütterungsautomaten im selben Beckenbereich verabreicht wurde (rechts) (Fotos: HCMR).



**Abbildung 8:** Diplectanum sciaenae aus einem Laichfischbestand des Adlerfisches (eingefügtes Bild u. r.) und Befall durch Paradeontacylix spp. auf den Kiemen eines Laichfischs der Großen Bernsteinmakrele aus einem Netzkäfig (großes Bild) (Fotos: HCMR).



**Abbildung 9:** Verzehr fertiger Portionssalat mit Adlerfisch (links) und Fischfrikadelle (Adlerfisch) in Fischform (rechts) (Fotos: IRTA).



**Abbildung 10:** Dünne Räucherfilets der Großkopfmeeräsche (links) und verzehrfertige Filets des Großkopfmeeräsche in Olivenöl (rechts) (Fotos: CTAQUA).