

Strategisk Program ved Universitetet i Bergen

Teori- og eksperimentbasert studie av rekruttering hos marin fisk - del I

Sluttrapport for NFR prosjekt 108920/120, 1995-1997¹

Administrativt ansvarlig: førsteamanuensis Heidrun Wergeland (styrer IFM)²

Prosjektleder: førsteamanuensis dr. scient. Arild Folkvord³

Begrunnelse:

En sentral problemstilling innen fiskeriforskningen de siste 100 årene har vært å forstå hvorfor bestandsstørrelsen av kommersielle fiskearter, som sild og torsk viser enorme fluktuasjoner. Slike fluktuasjoner har gjennom århundrer vekselvis gitt perioder med gode og dårlige økonomiske kår for Norges kystbefolkning. Det var nettopp dette som dannet grunnlaget for at fiskeriforskningen startet i Norge. En fant tidlig ut at år-til-år variasjonene i rekrutteringen til fiskebestandene var en av hovedårsakene til svingende bestandsstørrelser. En har derimot ikke kommet fram til entydige konklusjoner om *hvorfor* og *hvordan* dette skjer, ettersom sammensatte prosessorienterte studier tidligere ikke har vært gjennomført. Dette skyldes:

- tidligere mangel på egnede teknikker for estimering av alder, vekst og ernæringsstatus
- biologisk teori for økologisk modellering har blitt utviklet de siste ti år

Programmet vil med kontrollerte eksperimentelle studier legge til rette for etterprøving av spesifikke rekrutteringsmekanismer i felt ved å etablere nødvendige kunnskap for karakterisering av larvers tilstand, utvikling og dødelighetsrisiko.

Målbeskrivelse

Hovedmål:

Øke forståelsen av rekrutteringsmekanismer hos marin fisk.

¹ Rapporteringsperioden for delprosjekt A varer til 1.7.1998

² Tidligere styrer, professor dr. philos Dag Møller var administrativt ansvarlig frem til 1.7.1997

³ Førsteamanuensis dr. scient. Sigurd Stefansson var økonomi-kordinator 1995-1996

Delmål:

- A. Etablere temperatur- og størrelsessavhengige vekstkurver i tidlige livsstadier av sild og torsk fôret i overskudd med naturlig plankton (referanse vekstkurver).
- B. Videreutvikle metoder for påvisning av fôringsunderskudd (sult) hos marine fiskelarver (RNA/DNA, fettsyre, enzym, otolitt, histologi).
- C. Etablere sammenhengen mellom ernæringsstatus og størrelsesavhengig sårbarhet for predasjon.
- D. Klarlegge utviklingen av sanseorgan og nervesystem i relasjon til stadie- og størrelsesavhengig sårbarhet for predasjon.
- E. Utvikle individbaserte modeller for stadie- og størrelsesavhengig sårbarhet for sult og predasjon.

Faglig organisering

Disse fem delmålene representerer ulike delprosjekt som er knyttet opp til fem vitenskapelige stillinger i programperioden (se tabell nedenfor). Prosjektleder for det strategiske programmet er førsteamanuensis dr. scient. Arild Folkvord ved Institutt for fiskeri- og marinbiologi (IFM).

	Delprosjekt		Delprosjektledere Prosjektansatte
A	Temperatur- og størrelsesavhengig vekst i tidlige stadier hos sild og torsk	1995- 1997	Sigurd Stefansson Erling Otterlei
B	Karakterisering av vekst- og ernæringsstatus hos larver og yngel	1995- 1997	Arne Johannessen Geir Blom
C	Predasjonsrisiko hos fiskelarver relatert til ernæringsstatus	1997- 1999	Anders Fernö Katrine Skajaa
D	Utvikling av sanseorgan og nervesystem i relasjon til stadie- og størrelsesavhengig sårbarhet til predasjon	1995- 1997	Jon Vidar Helvik Bo I. Holmqvist
E	Modellering av larveutvikling	1997- 1999	Dag Aksnes Øyvind Fiksen

Første del av programmet består av delene A, B, og D, og resultatene fra disse delprogrammene danner grunnlaget for denne rapporten. De to gjenværende delprosjektene, C og E, utgjør del II av det strategiske programmet, og resultatene fra denne del vil bli rapportert på et senere tidspunkt.

Status

Et stort arbeid er lagt ned i de tre første delprosjektene for å karakterisere vekst, kondisjon og utvikling av silde- og torskelarver. Delmålene i de respektive delprosjekt er i store trekk innfridd. Arbeidet i disse delprosjektene danner et nødvendig grunnlag for de to gjenværende delprosjektene. De to siste delprosjektene ble startet opp i avslutningsåret for de tre første

delprosjektene, og for kontinuiteten i det strategiske programmet, var det en avgjort fordel. Det foreligger i dag unike data på larver dyrket opp under kontrollerte betingelser der deres veksthistorie, ernæringsstatus og utvikling er beskrevet i detalj. Det er oppnådd vekstrater og overlevelsesrater i forsøkene som overgår det som tidligere er oppnådd på sild og torsk, noe som er blitt lagt merke til både nasjonalt og internasjonalt. De eksperimentelle studiene har vært meget arbeidskrevende, og det har til en viss grad gått ut over antall publikasjoner som er utkommet i prosjektperioden. I tiden som kommer vil det imidlertid bli publisert en rekke artikler med utgangspunkt i dataene fra prosjektet. Den prosjektansatte stipendiaten i delprosjekt A har ikke blitt ferdig innenfor prosjektperioden, men vil etter planen disputere i første halvdel av 1999. De prosjektansatte forskerne fra del B og D arbeider for tiden videre innen fagfeltet med tilknyttede problemstillinger. En utfyllende rapportering fra hvert av delprosjektene følger senere i denne rapporten.

Videre arbeid

De to gjenværende delprosjektene vil bli gjennomført i henhold til skissert plan. Det blir fortsatt arbeidet med å ferdigstille artikler fra de første delprosjektene. Et annet viktig arbeid som må gjøres i tiden fremover, er å ta resultatene i bruk under realistiske forhold og sammenhenger. Det strategiske programmet har som langsiktig hovedmål å bidra til økt forståelse av rekrutteringsmekanismene i naturlige fiskepopulasjoner. Gjennom innsatsen som er gjort i det strategiske programmet ligger forholdene etterhvert godt til rette for at den kunnskap som er tilegnet i laboratoriet prøves ut for studier av naturlige fiskepopulasjoner i felt. Det er helt avgjørende for at den store innsatsen som er gjort ikke blir en relativt kortvarig akademisk øvelse, men en langsiktig strategisk satsing.

Andre momenter

Det strategiske programmet har hatt en meget positiv effekt på fagmiljøet knyttet opp mot programmet. Aktiviteten knyttet til det strategiske programmet har hatt en nøktern ressursbruk, men har vært helt avgjørende for oppbygging av fagmiljø og fasiliteter knyttet til eksperimentelle rekrutteringsstudier. Bl.a. har det blitt opprettet en førsteamanuensis stilling ved IFM knyttet til fagområdet i løpet av prosjektperioden, og dessuten har IFM fått innfridd en prioritert teknisk stilling knyttet til våre eksperimentelle fasiliteter. I tillegg har det strategiske programmet indirekte bidratt til at andre prosjekter har latt seg finansiere og gjennomføre (NFR, LSF, EU-FAIR).

Vi er meget fornøyd med NFR's bidrag til det strategiske programmet, og tror strategiske program er et godt og egnet virkemiddel for å styrke kompetansesentra ved forsknings- og undervisningsinstitusjonene. Et kritisk punkt i forhold til den strategiske satsingen er videreføring og bruk av den kompetansen som er opparbeidet i løpet av prosjektperioden. Den økonomiske situasjonen ved universitetene er dessverre av en slik karakter at det er begrenset i hvilken grad de er i stand til å følge opp etter at NFR's bidrag til finansieringen av de strategiske programmene opphører. Vi står derfor overfor nye utfordringer der vi vil søke om nye forskningsmidler for å videreføre deler av vår virksomhet.

Delprosjekt A: Temperatur- og størrelsesavhengig vekst i tidlige stadier hos sild og torsk

Prosjektansatte

Stipendiat Erling Otterlei har vært prosjektansatt i prosjektperioden. Førsteamanuensis dr. scient. Sigurd Olav Stefansson har vært prosjektleder. Universitetsstipendiat Gunnar Nyhammer og Erasmus studentene Jack Seddon og Kevin Glover har vært tilknyttet prosjektet.

Faglig beskrivelse

Bakgrunn

Kunnskap om vekstdynamikken til sild og torsk gjennom larve- og yngelstadiet er begrenset til tross for at det har blitt utført flere forsøk i laboratorium og meso- og makrokosmos (Laurence & al. 1981; Folkvord 1991; Blom & al. 1991; van der Meeren & Næss 1993; Blom & al. 1994; van der Meeren & al. 1994). Dette skyldes i hovedsak anvendelse av byttedyr med sub-optimalt næringsinnhold (*Brachionus*, *Artemia*) i laboratorieforsøk (f. eks. Mathers et al., 1994), og forsøksoppsett der byttedyrtilgang og temperatur varierer naturlig i meso- og makrokosmos (Øiestad 1983; Folkvord & al. 1994). De estimerte vekstratene for sild og torsk har tidligere vært kunstig lave i laboratorieforsøk (Laurence & al. 1981; Mathers & al. 1994), og er ofte påvirket av størrelses-avhengig dødelighet (predasjon inklusiv kannibalisme) i meso- og makrokosmosforsøk (Blom & al. 1991; Blom & al. 1994). Det har derfor vært svært vanskelig å skille samvarierende effekter av temperatur og størrelse mht. vekst.

Informasjon om fiskens vekstdynamikk er spredd blant tallrike publikasjoner, mer eller mindre sammenlignbare mht. forsøksbetingelser, og med heller lite konsekvens i måten veksten er uttrykt på. Nyere forskning innen marin yngelproduksjon har vist at det er fullt mulig å oppnå høye vekst- og overlevelsesrater under kontrollerte forhold med naturlig plankton som føde. Det har lenge vært et behov for å gjennomføre sammenfattende vekststudier og utvikle temperatur- og størrelsesavhengige vekstmodeller for de tidligste livsstadiene for både torsk og sild. Gjennomføring av kontrollerte vekstforsøk under sammenlignbare betingelser og med høy grad av oppløsning mht. temperatur er videre en nødvendig forutsetning for å kunne isolere og beskrive effektene av temperatur, fiskestørrelse og samvariasjon mellom disse mht. vekst.

Målsetting

Hovedmålsetting med delprosjekt A har vært å klarlegge sammenhengen mellom temperatur, fiskestørrelse og veksthastighet for larver og yngel av sild og torsk fôret i overskudd.

Delmål har vært:

- a) Utvikle en temperatur- og aldersavhengig vekstmodell for larver- og yngel av torsk.
- b) Beskrive vekstpotensialet til sild og torsk, og hvordan denne varierer med endringer i temperatur og/eller fiskestørrelse.
- c) Belyse eventuelle forskjeller i temperaturavhengig vekst mellom larver og yngel av kysttorsk og skrei, gitt identiske betingelser.
- d) Undersøke eventuelle effekter av ulike lysregimer på vekst og tidlig kjønnsmodning hos torsk.

Forsøkgjennomføring

Vekstdynamikken til sild og torsk er studert gjennom eksperimentelle forsøk på (1) *larve- og tidlig yngelstadie* (<1 g våtvekt), samt for (2) *yngel* av torsk (>1 g våtvekt). Studiene har således fremskaffet viktig informasjon om vekstpotensialet til sild og torsk, og hvordan denne varierer med endringer i temperatur og/eller fiskestørrelse. Det er utviklet en vekstmodell for tidlige livsstadier hos torsk, og ved hjelp av komparative studier har en forsøkt å belyse eventuelle forskjeller i temperaturavhengig vekst mellom larver og yngel av kysttorsk og skrei. Effekter av ulike lysregimer på vekst og modning er også studert.

Generelt er datamaterialet noe mer omfangsrikt for torsk, med en høyere grad av temperaturopløsning, sammenlignet med hva som er tilfellet for sild. Delprosjektet er ellers gjennomført i henhold til våre tidligere skisserte planer.

Torsk

Larve- og tidlig yngelstadie

Den primære målsettingen med forsøkene som er utført på de tidligste livsstadiene har vært å fremskaffe temperatur- og størrelsesavhengige vekstdata for larver og tidlig yngel føret i overskudd med naturlig plankton. For torsk ble forsøkene gjennomført som komparative studier mellom kysttorsk og skrei under seks ulike temperaturer 4, 6, 8, 10, 12 og 14 °C. Larver av kysttorsk og skrei ble dyrket i de samme karene under en simulert naturlig lysregime (tilsvarende 60° N), der den ene stammen ble merket med fargestoffet Alizarin complexone på eggstadiet for å kunne skille dem på et senere stadium ved å måle fluorescens i otolittene. Forsøkene ble utført som to delforsøk, hhv. i perioden 19.04 - 12.06.95 og 26.03 - 21.05.96, begge av 8 uker varighet. Ukentlig prøvetaking er foretatt fra de respektive behandlingene, og data over standardlengde og myotomhøyde ($n=3071$) er opparbeidet på levende materiale, i tillegg til fisketørrvekt ($n=2326$).

Yngel

Til sammen ble det utført fire vekstforsøk med yngel av torsk i løpet av prosjektperioden. Formålet med to av forsøkene har vært å estimere temperatur- og størrelsesavhengig vekstoptimum for yngel av torsk (1-20 g våtvekt), og beskrive hvordan vekstraten og temperaturoptimum mht. maksimal vekst endres med økende fiskestørrelse. Yngelen ble føret i overskudd med tørrfôr og drettet frem under ulike temperaturer fra 6 til 20 °C med et intervall på 2 °C. Eksperimentene bygger på data fra to delforsøk, utført hhv. i perioden 26.06

- 24.08.91 og 04.07 - 29.08.95, begge av 8 ukers varighet. Målinger av fiskens våtvekt er foretatt annenhver uke, mens standardlengde og levervekt ble opparbeidet ved forsøkslutt.

Et tredje forsøk ble utført som et komparativt vekstforsøk mellom yngel av kysttorsk og skrei, drettet frem under 4 ulike temperaturer (4, 8, 12 og 16 °C). Fisken ble fôret i overskudd med tørrfôr, og regelmessig prøvetaking av våtvekt og total lengde ble foretatt på individuelt merket fisk. Forsøket ble gjennomført i perioden 31.07-04.12.97.

Avslutningsvis ble effekter av ulike lysregimer på vekst og modning studert. Yngel av kysttorsk ble eksponert for 4 ulike lysregimer (8L:16D, 8L:16D som ble satt over til 24L:0D etter 12 uker, naturlig lys og kontinuerlig lys, 24L:0D). Forsøket startet 25.07.96 og ble i hovedsak avsluttet 19.12.96. Noe fisk ble imidlertid oppbevart videre ved sine respektive lysregimer til 13.03.97 for endelig kontroll av kjønnsmodning. Fôring og prøvetaking ble utført tilsvarende som beskrevet i forsøk tre.

Sild

De ulike vekstforsøkene med sildelarver er beskrevet i detalj under delprosjekt B. Det er gjort forsøk med temperaturavhengig vekst hos larver fra både vårgytende sild samt høstgytende sild. I tillegg er det utført utfyllende temperatur-vekstforsøk med sildelarver i forbindelse med et NFR prosjekt 108103/122 "Otolitt mikrostruktur hos sild, presisjon, nøyaktighet og anvendelse" og et EU FAIR prosjekt "Precision and accuracy of tools in recruitment studies" under prosjektledelse av førsteamanuensis dr. scient. Arne Johannessen.

Faglige resultater

Torsk

Larve- og tidlig yngelstadie

Torskens vekst på larve og tidlig yngelstadie er tydelig temperatur- og størrelsesavhengig. Temperatur er trolig den viktigste enkeltfaktoren i tillegg til fôrtilgangen som bestemmer vekstraten for de tidligste livsstadiene hos fisk. Torskens vekst både mht. standardlengde og tørrvekt økte med stigende temperatur fra 4 til 14 °C (Fig. 1a og b). Larver holdt ved 14 °C startet å metamorfosere (12 mm standardlengde) 23 dager gamle, sammenlignet med mer enn 60 dager for larver ved 4 °C. En økning i vanntemperaturen fra 6 til 12 °C resulterte i 17 ganger høyere yngeltørrvekt etter 8 uker.

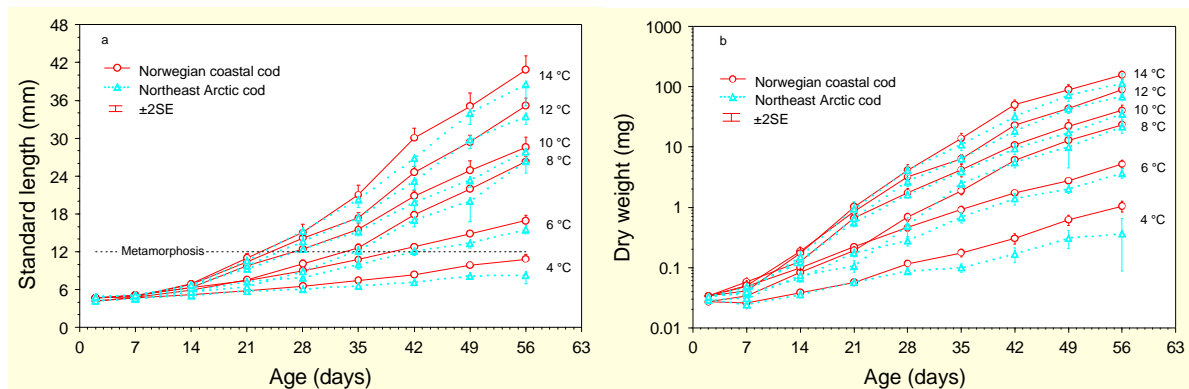


Fig 1. Gjennomsnittlig standardlengde (a) og tørrvekt (b) ved alder for kysttorsk og skrei dyrket ved 6 ulike temperaturer fra 4 til 14 °C. Horisontal linje (a) indikerer størrelse ved begynnende metamorfose.

Det ble registrert en stammespesifikk forskjell i gjennomsnittlig tørrvekt ved alder, hvor kysttorsken generelt var tyngre enn skreien. Forskjell i vekt, stammene imellom, er likevel liten sammenlignet med temperatureffekten.

Temperaturoptimum mht. maksimal vekst hos torskelarver føret i overskudd er indikert til 16,2 °C og 14,2 °C for hhv. kysttorsk og skrei (Fig. 2). Størst forskjell i vekstrate mellom stammene ble observert for fisken ved 4 °C.

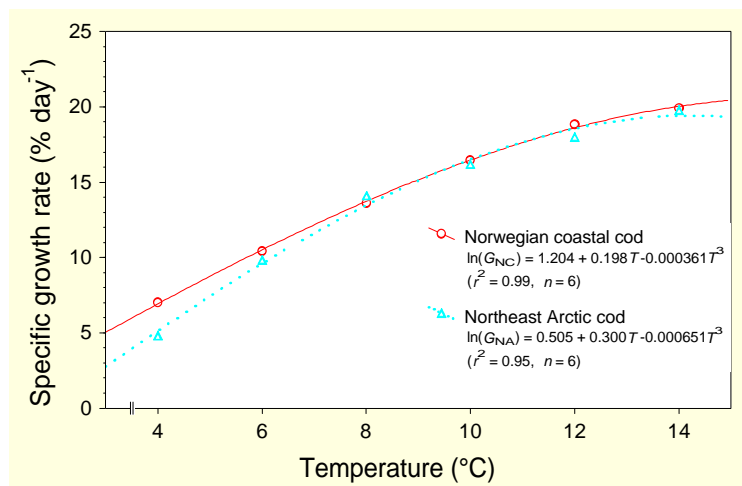


Fig. 2. Effekter av temperatur på gjennomsnittlige daglige spesifikke vekstrater for kysttorsk og skrei gjennom larvestadiet.

Vekstraten økte med økende larvestørrelse (for alle temperaturene), nådde et maksimum ved en størrelse på 0,1-1,0 mg tørrvekt, for så å avta. Larvenes maksimale vekstpotensial i denne perioden oversteg 25 % daglig vektøkning for begge stammene (Fig. 3a og b).

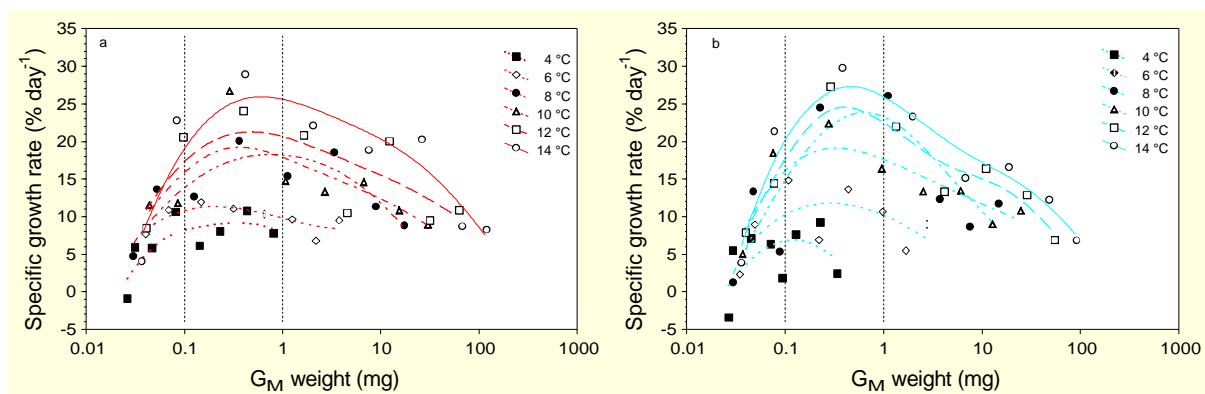


Fig. 3. Vektspesifikk vekstrate versus geometrisk gjennomsnittlig tørrvekt for larver og yngel av kysttorsk (a) og skrei (b) drettet opp ved 6 ulike temperaturer. Kurvetilpassingene (least square) indikerer generelle trender i vekstmønstrene.

Temperatur- og stammespesifikke vekstkurver for tørrvekt ved alder er godt beskrevet ved en modifisert Gompertz modell (tilpassingsverdier $r^2=0,95$ ($n=1072$) og $r^2=0,94$ ($n=1020$) for hhv. kysttorsk og skrei). Til tross for samme initielle tørrvekt for stammene, predikerte også modellen en konsekvent høyere tørrvekt ved alder for kysttorsk, sammenlignet med skrei (Fig. 4). Estimert vekstpotensiale på 26 % dag⁻¹, dag 18-20, for både kysttorsk og skrei drettet opp ved 14 °C, sammenfaller godt med tilhørende observerte data (Fig. 5).

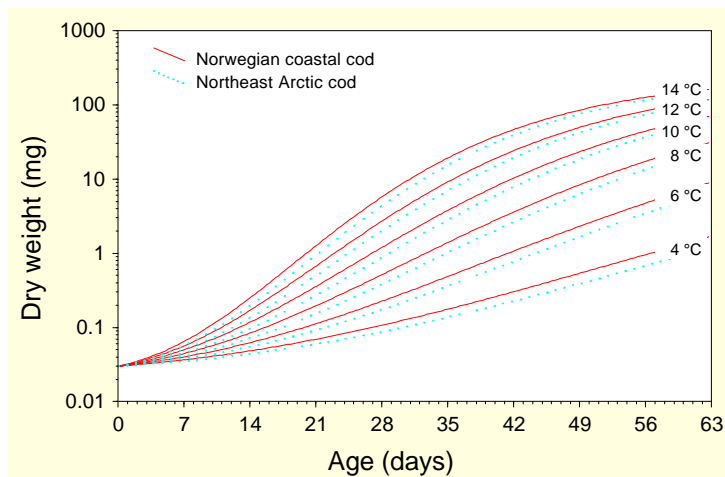


Fig. 4. Gompertz vekstkurver for log tørrvekt ved alder i dager for larver og yngel av kysttorsk og skrei drettet opp ved 6 temperaturer fra 4 til 14 °C.

Lengde-vektforholdet for torsk indikerer høye kondisjonsfaktorer for begge stammene og allometrisk vekst både for larver og yngel (stigningstall $b>3$). Videre synes det som om det foreligger et ontogenetisk skift i lengde-vektforholdet ved begynnende metamorfose (12 mm standardlengde). Yngelen utvikler en lavere stigning i lengde-vektforhold sammenlignet med hva en observerer på larvestadiet (Fig. 6).

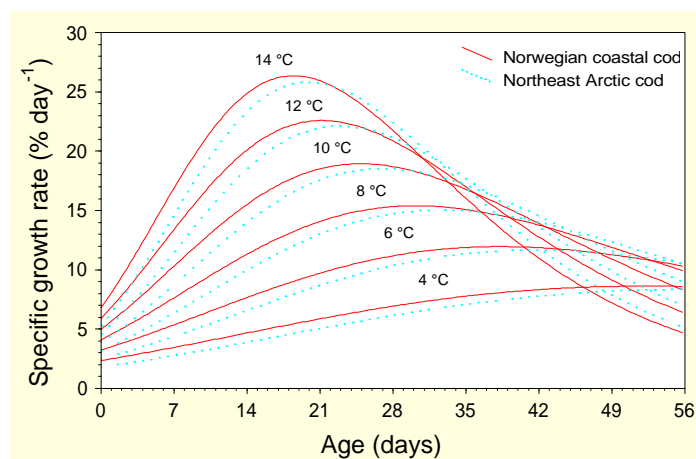


Fig. 5. Estimert vekstspesifikk vekstrate ved alder i dager for larver og yngel av kysttorsk og skrei drettet opp ved 6 temperaturer fra 4 til 14 °C. Verdiene for vekstrate er estimerte fra en modifisert Gompertz modell.

Det ble ikke påvist noen klar temperatur- eller stammespesifikk forskjell i overlevelse under forsøkene. Stadieavhengig dødelighet gjennom larvefasen (z) varierte fra $z=0,030$ til $0,153$ dag⁻¹ for kysttorsk og $z=0,016$ til $0,145$ dag⁻¹ for skrei. Naturlig dødelighet for fisk større enn

12 mm i standardlengde var lav og utgjorde mindre enn 2,6 % av det initielle larveantallet i karet.

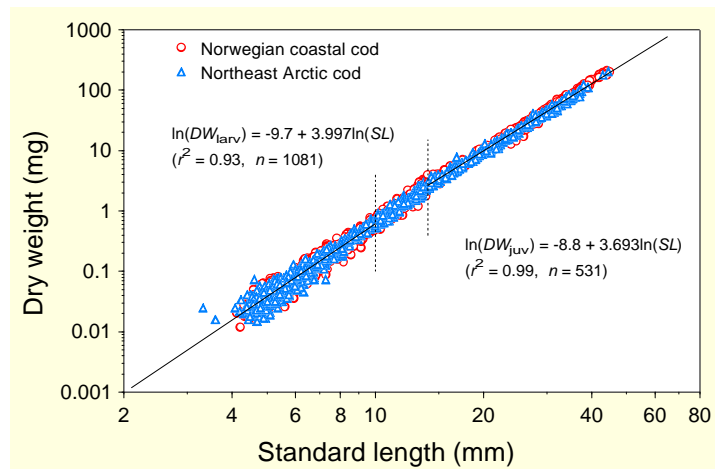


Fig. 6. Lengde-vektforholdet for kysttorsk og skrei. En generalisert felles ligning for begge £10 mm, alle temperaturene) og for tidlig yngelstadie (juv, standardlengde \geq 14 mm, temperaturene 10, 12 og 14 °C).

Yngel

Som på larvestadiet hadde temperaturen også stor innvirkning på den vektspesifikke vekst på yngelstadiet hos torsk. I forsøk 1 økte veksten med stigende temperatur 6, 10 og 14 °C (Fig. 7, prikket linje). Videre resultater viste at yngel (<20 g våtvekt) vokste best ved en vanntemperatur på 16 °C, i tidlig fase. Fiskens vekst ble til en viss grad hemmet ved 18 °C, mens yngel eksponert for 20 °C mistrivdes, veksten avtok raskt og stoppet opp etter 6 uker (Fig. 7, heltrukken linje).

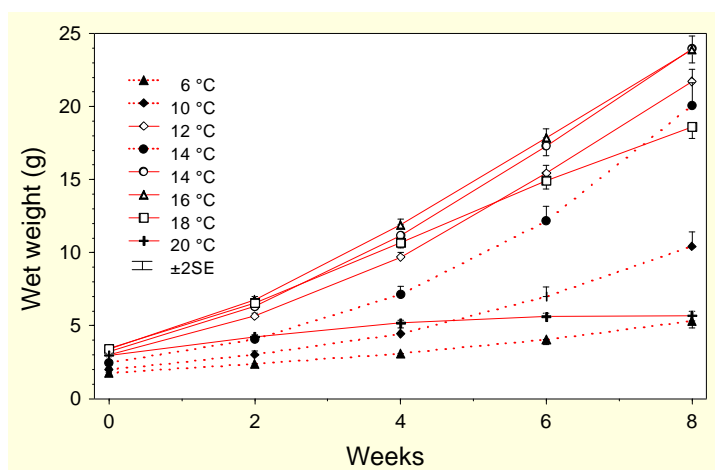


Fig. 7. Torskeyngelens midlere vekst i våtvekt ved ulike temperaturer fra 6 til 20 °C. Prikket og heltrukne linjer indikerer delforsøk 1 og 2.

Vekstraten avtok med økende fiskestørrelse gjennom yngelstadiet, raskest ved de høyeste temperaturregimene 18 og 20 °C (Fig. 8). Yngel, 5 g våtvekt, oppnådde høyest vekstrate (5 % dag⁻¹) ved 16 °C, men vokste også svært bra ved 12 og 14 °C. Åtte uker seinere, ved en

fiskestørrelse på 20 g, var vekstraten halvert ($2,5 \text{ \% dag}^{-1}$) og den optimale temperaturen mht. maksimal vekst var endret fra 16 mot 12 °C.

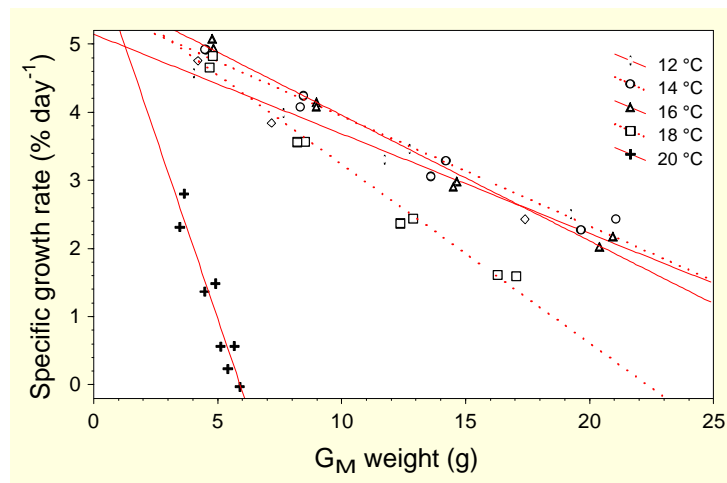


Fig. 8. Forholdet mellom gjennomsnittlig daglig spesifikk vekstrate og geometrisk gjennomsnittlig våtvekt for yngel av torsk ved temperaturene 12 til 20 °C.

Midlere optimal temperatur mht. maksimal vekst var nær 14 °C for torskelyngel, 1-20 g våtvekt fôret i overskudd, beregnet over hele forsøksperioden (Fig. 9).

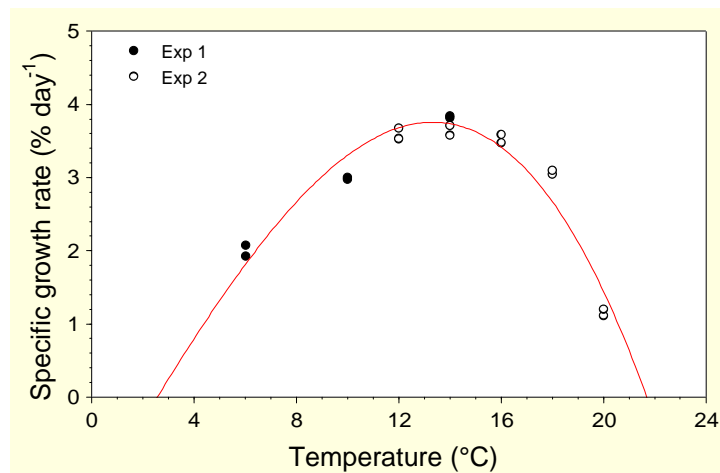


Fig. 9. Effekter av temperatur på gjennomsnittlige daglige spesifikke vekstrater for yngel av

Overlevelsen varierte fra 90-100 % etter 8 uker for yngel (1-20 g) oppdrettet ved temperaturer fra 6 til 18 °C. Temperaturer over 18 °C reduserte overlevelsen merkbart, og den gjennomsnittlige overlevelse var 75 % etter 8 uker ved 20 °C.

Midlere leverindeks var høy (10-12 % av fiskens totalvekt) ved forsøkslutt for yngel fra temperaturene 12 til 20 °C (Fig. 10). Det ble ikke observert noen sammenheng mellom leverindeks og vekstrate, og yngel ved 20 °C oppnådde tilsvarende leverindeks som fisk gitt optimale vekstbetingelser.

Resultater fra det komparative vekstforsøket mellom yngel av kysttorsk og skrei, viste at kysttorsken vokste bedre ved 8 og 12 °C, mens det var liten forskjell mellom stammene ved 4 og 16 °C (Fig. 11). Skreien hadde 10-15 % lavere kondisjonsfaktor (Fulton) enn kysttorsken, noe som gjenspeiler seg i leverindeksen som er høyere hos kysttorsk enn hos skrei (Fig. 12).

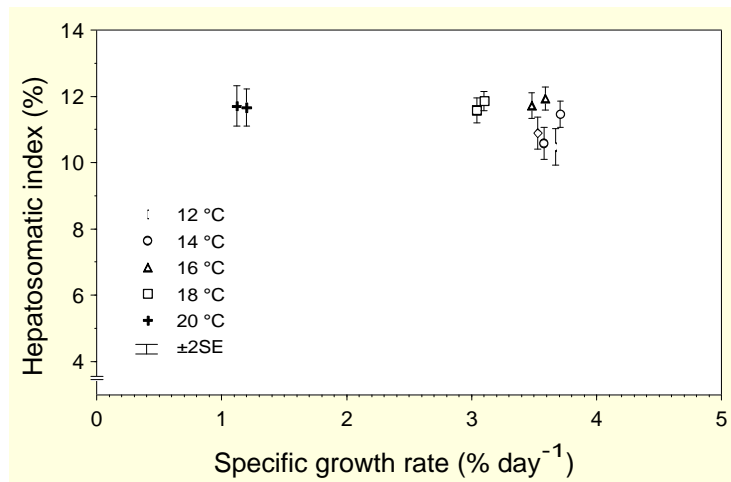


Fig. 10. Forholdet mellom leverindeks og gjennomsnittlig daglig spesifikk vekstrate for yngel av torsk fra temperaturene 12 til 20 °C.

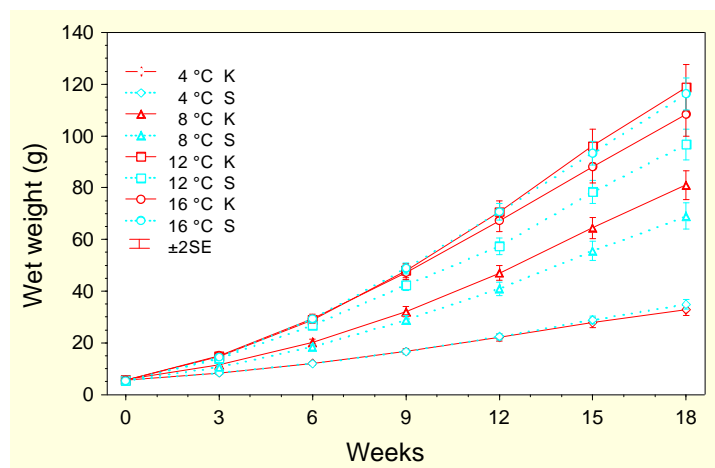


Fig. 11. Våtvekt hos yngel av kysttorsk og skrei ved ulike temperaturer fra 4 til 16 °C.

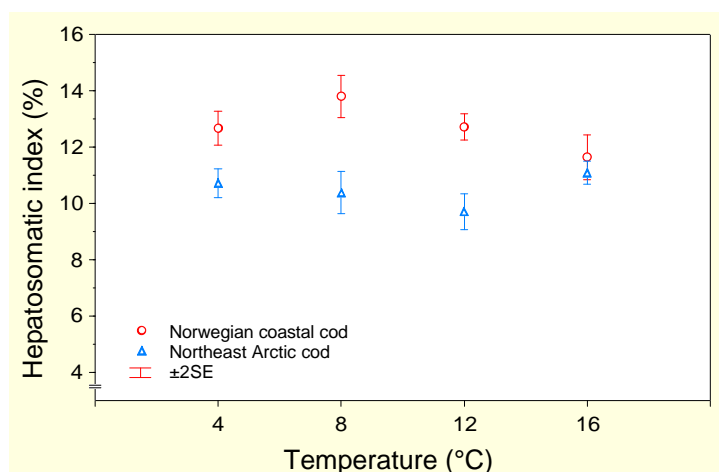


Fig. 12. *Leverindeks hos yngel av kysttorsk og skrei ved ulike temperaturer fra 4 til 16 °C.*

Kontinuerlig lys viste seg å ha en positiv effekt på vekst hos torsk yngel fra oktober og utover. Kontinuerlig lys inhiberte også kjønnsmodning hos 1 år gamle hanner, mens over 80 % av torsk under naturlig lys ble kjønnsmoden. Tidlig modning (1 år gamle) synes ikke å være noe stort problem for hunnfisk hos torsk.

Sild

I motsetning til hos torsk er veksten hos sildelarver fôret i overskudd tilnærmet konstant gjennom mesteparten av larvestadiet. Veksten var som hos torsk sterkt temperaturavhengig, og lengdetilveksten var nærmere tre ganger så høy hos norsk vårgytende sild dyrket ved 12°C enn hos larver dyrket ved 4 °C (Fig. 13). Forøvrig vises til resultatene presentert i delprosjekt B.

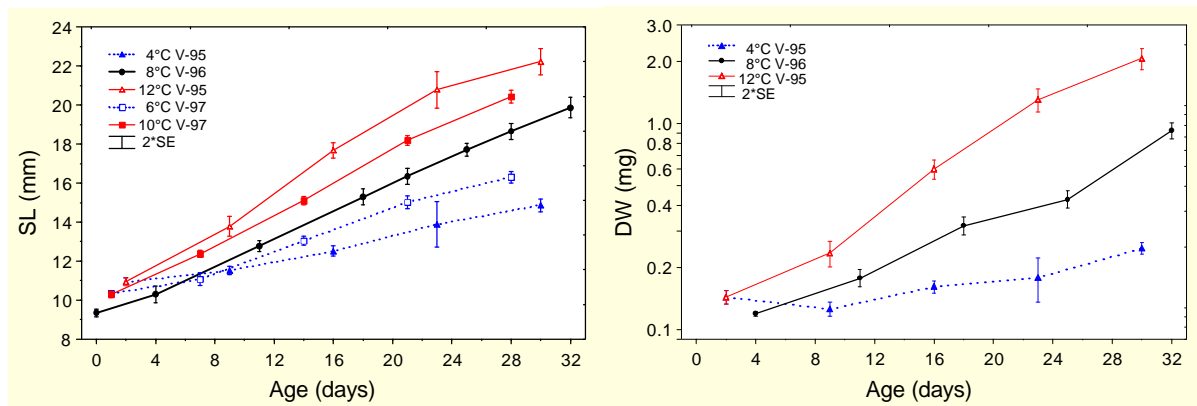


Fig. 13. *Gjennomsnittlig standardlengde (a) og tørrvekt (b) ved alder hos larver fra norsk vårgytende sild dyrket ved temperaturer fra 4 til 12 °C.*

Sammendrag

En oppsummering av de viktigste resultatene fra delprosjekt A, viser at torskens vekst på larve- og yngelstadiet er svært plastisk og tydelig temperatur og størrelsesavhengig. Veksten hos sildelarver var også sterkt temperaturavhengig. Temperatur er trolig den viktigste enkeltfaktoren utenom mattilgangen som bestemmer vekstraten for de tidligste livsstadiene hos fisk.

Det er utarbeidet en temperatur- og aldersavhengig vekstmodell med høy tilpassingsgrad for larver- og yngel av kysttorsk og skrei. Vekstratene er unik i den forstand at de representerer komparative data fra forsøk mellom kysttorsk og skrei gitt identiske betingelser. Høye vekstrater og relativt god overlevelse gjør at dataene ellers er representative.

Estimert temperaturoptimum (14-16 °C) for maksimal vekst for torskelarver er høyt sammenlignet med hva som tidligere er antatt, 5,9 °C (Campana & Hurley 1989) og det en gjerne skulle forvente ut i fra artens naturlige utbredelse og gytetidspunkt. Midlere observert optimum (14 °C) for yngel (1-20 g våtvekt) er derimot i samsvar med hva som tidligere er

rapportert for yngel og eldre torsk, 13,5 °C (Jobling 1988). Hos sildelarver lå temperaturoptimum på over 12 °C. Imidlertid er det viktig å merke seg at, begrepet temperaturoptimum mht. maksimal vekst, må sees i sammenheng med førtilgang.

Vekstmønsteret for larver og yngel av torsk viste et klassisk “dome-shaped” forhold mellom vektspesifikk vekstrate og fiskestørrelse. Et slikt vekstmønster er imidlertid ikke blitt vist for larver av torskefisk i felt (Houde 1997), men er av spesiell interesse i en rekrutteringssammenheng, siden en økning i vekstraten for en art, alene kan redusere den stadiavhengige dødelighetsraten. Resultatene fra våre forsøk støtter i så måte opp om hypotesen, at hurtig vekst øker overlevelsen til Atlantisk torsk gjennom larve- (Meekan & Fortier 1996) og yngelstadiet (Campana 1996). Hos sildelarver var imidlertid veksten i mindre grad størrelsesavhengig enn hos torsk, og den var relativt konstant gjennom larvestadiet.

Estimert vekstpotensial på over 25 % vektøkning dag⁻¹, betyr at torskelarvene gjennom en kortere periode er i stand til å doble vekten sin i løpet av ca. 3 dager, dette potensialet er noe høyere enn hva som tidligere er vist (van der Meeren & Næss 1993; van der Meeren & al. 1994). Høye vekstrater, observert i disse forsøkene, kan hovedsakelig forklares med en kombinasjon av høye tettheter av egnede byttedyr samt vanntemperatur nær optimum mht. maksimal vekst. Forskjellen i vekst stammene i mellom er interessant, men var av mindre betydning sammenlignet med effekten av temperatur.

Torskeyngelen deponerte betydelige fettreserver (stor lever) ved alle temperaturregimene, men til tross for dette syntes den ikke å være i stand til å omsette reserven til vekst ved en vanntemperatur på 20 °C. Kondisjonsfaktoren til yngel av skrei var gjennomsnittlig 10-15 % lavere enn for kysttorsk, og i samsvar med hva som er vist tidligere (Svåsand & al. 1996).

Kontinuerlig lys viste seg å ha en positiv effekt på vekst hos torskeyngel fra oktober og utover, og samtidig hemme kjønnsmodning hos 1 år gamle hanner.

Andre momenter

Prosjektet har på en positiv måte sikret finansiering til én stipendiat fra 1. juli 1995 til 30. juni 1998, og videre beriket utstyrsparken ved instituttet. Det har vært en betydelig eksperimentell aktivitet i prosjektperioden, med fokus hovedsakelig på temperatur- og størrelsesavhengig vekst på larve- og yngelstadiet. Forsøkene som har blitt gjennomført har vært vellykkede, men meget arbeidsintensive.

Fra flere av forsøkene er det fremskaffet et betydelig tilleggsmateriale. Blant annet foreligger det biokjemiske analyser av nukleinsyreforholdet (RNA:DNA) fra torskelarver ($n=370$) fra i alt 3 ulike temperaturregimer 6, 10 og 14 °C, som gir oss et mål på forventede verdier på næringsstatus til fiskelaver under god vekst. Et omfattende komparativt otolittmateriale er tilgjengelig for larve- og tidlig yngel av kysttorsk og skrei ($n=2326$) drettet opp ved temperaturregimer fra 4 til 14 °C. Ved siden av å beskrive somatisk kroppstilvekst i lengde og vekt er det derfor også mulig å karakterisere temperaturavhengig otolittvekstmønster for de samme larvene.

Tilleggsmaterialet som her er omtalt er ferdig opparbeidet, men ikke endelig analysert og blir derfor ikke presentert her. Samlet har prosjektet fremskaffet datamateriale til bruk i to doktoravhandlinger, men videre skriving og publisering gjenstår.

Referanser

Blom, G., H. Otterå, T. Svåsand, T.S. Kristiansen & B. Serigstad 1991. The relationship between feeding condition and production of cod fry (*Gadus morhua* L.) in a semi-enclosed marine ecosystem in western Norway, illustrated by use of a consumption model. — *ICES marine Science Symposia* 192: 176-189.

Blom, G., T. Svåsand, K.E. Jørstad, H. Otterå, O.I. Paulsen & J.C. Holm 1994. Comparative survival and growth of two strains of Atlantic cod (*Gadus morhua*) through the early life stages in a marine pond. — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51: 1012-1023.

Campana, S.E. & P.C.F. Hurley 1989. An age- and temperature-mediated growth model for cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) larvae in the Gulf of Maine. — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46: 603-613.

Campana, S.E. 1996. Year-class strength and growth rate in young Atlantic cod *Gadus morhua*. — *Marine Ecology Progress Series* 135: 21-26.

Folkvord, A. 1991. Growth, survival and cannibalism of cod juveniles (*Gadus morhua* L.): effects of feed type, starvation and fish size. — *Aquaculture* 97: 41-59.

Folkvord, A., V. Øiestad & P.G. Kvenseth 1994. Growth-patterns of three cohorts of Atlantic cod larvae (*Gadus morhua* L.) in a mesocosm. — *ICES Journal of marine Science* 51: 325-336.

Houde, E.D. 1997. Patterns and trends in larval-stage growth and mortality of teleost fish. — *Journal of Fish Biology* 51: 52-83.

Jobling, M. 1988. A review of the physiological and nutritional energetics of cod, *Gadus morhua* L., with particular reference to growth under farmed conditions. — *Aquaculture* 70: 1-19.

Laurence, G.C., A.S. Smigielski, T.A. Halavik. & B.R., Burns 1981. Implications of direct competition between larval cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) in laboratory growth and survival studies at different food densities. — *Rapports et Procès-Verbaux des Réunions. Conseil International pour L'Exploration de la Mer* 178: 304-311.

Mathers, E.M., D.F. Houlihan & L.J. Burren 1994. RNA, DNA and protein concentrations in fed and starved herring *Clupea harengus* larvae. — *Marine Ecology Progress Series* 107(3): 223-231.

Meekan, M.G. & L. Fortier 1996. Selection for fast growth during the larval life of Atlantic cod *Gadus morhua* on the Scotian Shelf. — *Marine Ecology Progress Series* 137: 25-37.

Svåsand, T., K.E. Jørstad, H. Otterå & O.S. Kjesbu 1996. Differences in growth performance between Arcto-Norwegian and Norwegian coastal cod reared under identical conditions. — *Journal of Fish Biology* 49: 108-119.

van der Meeren, T. & T. Næss 1993. How does cod (*Gadus morhua*) cope with variability in feeding conditions during early larval stages? — *Marine Biology* 112: 637-647.

van der Meeren, T., K.E. Jørstad, P. Solemdal & O.S. Kjesbu 1994. Growth and survival of cod larvae (*Gadus morhua* L.): comparative enclosure studies of Northeast Arctic cod and coastal cod from western Norway. — *ICES marine Science Symposia* 198: 633-645.

Øiestad, V. 1983. Growth and survival of herring larvae and fry (*Clupea harengus* L.) exposed to different feeding regimes in experimental ecosystems: outdoor basin and plastic bags. Dr. philos. thesis, University of Bergen, Norway, 299 pp.

Presentasjon av resultater

Foredrag

Folkvord, A. 1996. "Experimental protocol in growth and condition studies". *ICES Working Group in Recruitment Processes*, 17.-20. Juni, Halifax, Canada.

Folkvord, A. (1997). "Hvorfor lever ikke torsken ved Middelhavet? Resultater fra et strategisk program ved Universitetet i Bergen". Seminar ved Fiskerihøgskolen Universitetet i

Folkvord, A. (1997). "Resultater fra et strategisk program ved IFM". Ukens orientering ved Havforskningsinstituttet i Bergen.

Nyhammer, G., E. Otterlei, A. Folkvord, F. Midtøy, G. Nævdal, S.O. Stefansson & T. Svåsand 1997. "The effect of temperature on growth of juvenile cod (*Gadus morhua* L.) : a comparison between Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod". Foredrag ved *Norwegian - russian seminar on coastal cod*, 9.-10. December, Tromsø, Norway.

Nyhammer, G. 1998. "Vekstoptimalisering hos larver og yngel av torsk (*Gadus morhua* L.)". Seminar, matfiskoppdrett av torsk 26. mars, Bergen.

Otterlei, E., G. Nyhammer, A. Folkvord, S.O. Stefansson & T. Svåsand 1996. "The effect of temperature on growth and survival of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* L". Foredrag ved *76 th Annual Meeting of the American Society of Ichthyologists and Herpetologists*, 13.-19. Juni 1996, New Orleans, USA. Abstract in proceedings, p. 241.

Poster

Otterlei, E., G. Nyhammer, A. Folkvord & S.O. Stefansson 1997. Temperature and size dependent growth of larval and juvenile cod (*Gadus morhua* L.) - a comparative study between Arcto-Norwegian and Norwegian coastal cod. *The Fisheries Society of the British*

Isles Annual International Symposium, 8.-11. July 1997, Galway. Abstract in *Journal of Fish Biology*, p. 415.

Manus (under bearbeidelse)

Nyhammer, G., E. Otterlei, F. Midtøy, G. Nævdal, S.O. Stefansson & T. Svåsand. The effect of temperature on growth of juvenile cod (*Gadus morhua* L.) : a comparison between Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod.

Nyhammer, G., E. Otterlei, A. Folkvord & T. Svåsand. Growth and survival of cod larvae (*Gadus morhua* L.) in a mesocosm - a comparison between Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod.

Nyhammer, G., E. Otterlei, H. Otterå & S.O. Stefansson. Effect of different light regimes on growth and maturation in juvenile cod (*Gadus morhua* L.).

Otterlei, E., G. Nyhammer, A. Folkvord & S.O. Stefansson. Temperature and size dependent growth of larval and juvenile cod (*Gadus morhua* L.) - a comparative study between Norwegian coastal cod and Northeast Arctic cod.

Otterlei, E., G. Nyhammer, S.O. Stefansson & T. Svåsand. Temperature optimum for maximum growth of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.).

Otterlei, E., G. Nyhammer & A. Folkvord. Relationships between otolith and somatic growth of larval and juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) grown at different temperatures.

Otterlei, E., G. Nyhammer, A. Folkvord & S.O. Stefansson. The influence of temperature on growth and RNA:DNA ratios of larval Atlantic cod (*Gadus morhua* L.).

Rapporter

Glover, K., G. Nyhammer, G. Nævdal, E. Otterlei & S. Thorkildsen 1997. Studies on genotype dependant growth in juvenile cod (*Gadus morhua* L.) reared at different temperatures and light regimes. IFM-Rapport, no 8, 13 pp.

Seddon, J. 1996. The effect of five different tagging methods on growth and survival of juvenile cod (*Gadus morhua* L.). Erasmus report, 14 pp.

Delprosjekt B: Karakterisering av vekst - og ernæringsstatus hos larver og yngel

Prosjektansatte

Dr. scient Geir Blom har vært prosjektansatt forsker (*post. doc.*) gjennom den 2 årige prosjektperioden. Prosjektleder har vært førsteamanuensis dr. scient. Arne Johannessen. Hovedfagsstudentene Suneetha Kristogu Baduge og Svein Bratteteig har vært tilknyttet prosjektet.

Faglig beskrivelse

Bakgrunn

Karakterisering av ernæringsstatus og veksthistorie til larver og yngel av marin fisk i naturen er av stor betydning for å kunne koble overlevelse med næringstilgang. Det er vanligvis ikke mulig å følge enkeltindivids vekst over tid, og man må da bruke andre metoder for å måle i hvilken grad fisken sultet eller vokser. Flere biokjemiske (RNA:DNA-forholdet, lipidklasse- og fettsyreanalyse og enzymanalyser) og morfologiske (f.eks.lengde/vekt-forholdet) markører, samt otolittsonemønster har blitt benyttet for å beskrive ernæringsstatus hos fiskelarver (e.g. Campana & Neilson 1985; Ferron & Leggett 1994; Clemmesen 1996). Vekst, målt som proteindeponering i muskel, er sluttresultatet av en lang rekke biokjemiske prosesser. RNA:DNA-forholdet har blitt brukt som et indirekte mål på veksthastighet (Buckley 1984; Bulow 1987). Imidlertid er det behov for kalibrering av metoden ved bruk av larvegrupper som vokser godt og dårlig under kjente betingelser. En annen mulighet for å estimere tidligere vekst hos fisken er å tilbakeberegne veksten basert på sonebredde i otolitten. Fiskens otolitt mikrostruktur avleires kontinuerlig gjennom utviklingen, og vil dermed inneholde informasjon om fiskens tidligere livshistorie (Campana & Neilson 1985; Jones 1986). Ulike vekstmål har sine styrker og svakheter, og det er derfor fordelaktig å anvende flere uavhengige vekstmål på samme individ.

Hovedmålet med delprosjektet har vært å klarlegge sammenhengen mellom sildelarvers (*Clupea harengus*) ernæringsstatus og veksthistorie og ulike morfologiske og biokjemiske

- a) Undersøke sensitiviteten til ulike vekst- og kondisjonsmål ved å generere ulik vekst og kondisjon hos sildelarver vha. forskjellige temperaturer og byttedyrtettheter.
- b) Kalibrere de valgte biokjemiske metodene for undersøkelser av kondisjon mot vekst.
- c) Undersøke hvor hurtig og i hvilket omfang ulike vekst- og kondisjonsmål forandrer seg med forandringer i byttedyrtilgang.
- d) Sammenligne predikert vekst mot estimert vekst fra regresjoner basert på kondisjonsmål.

- e) Teste hypotesen om at ulike kondisjonsmål fra samme larve er korrelert i felt.
- f) Undersøke om det er en sammenheng mellom kondisjons- og rekrutteringsindekser i felt.

Den eksperimentelle delen av dette delprosjektet ble gjennomført høsten 1995 og våren 1996. Høsten 1995 ble det utført et eksperiment der vekst og kondisjon hos larver av høstgytende sild ble undersøkt ved to ulike temperaturer (8° og 12° C) og fire ulike nominelle byttedyr-regimer (0, 20, 200 og 2000 byttedyr pr. l). Forsøkets varighet var 35 dager. Siktemålet med dette forsøket var å undersøke sensitiviteten til ulike vekst- og kondisjonsmål ved å generere ulike vekst og kondisjon hos sildelarvene med de valgte temperaturer og byttedyrtettheter samt å kalibrere de valgte biokjemiske metodene for undersøkelser av kondisjon. De ulike individuelle vekstmål som ble brukt var tilvekst i lengde, tørrvekt, mengde fettsyrer og protein og sagittale otolitter samt stadieutvikling. De ulike individuelle kondisjonsmål som ble benyttet var RNA:DNA-forhold, ulike indekser for fettsyre-mengde og -sammensetning samt den morfometriske indeksen, Fulton's kondisjonsindeks.

Våren 1996 ble det utført et eksperiment i samarbeid med NFR prosjektet "*Otolitt mikrosstruktur: presisjon, nøyaktighet og anvendelse*" der vekst og kondisjon hos larver av Norsk vårgytende sild (NVG) ble undersøkt ved 8° C. Larver i ulike stadier hadde enten alternerende perioder med lave (40 byttedyr pr. l) og høye (1200 byttedyr pr. l) byttedyrkonsentrasjoner eller konstant lav eller høy byttedyr-tetthet. Forsøkets varighet var 46 dager. Formålet med dette forsøket var å undersøke hvor hurtig og i hvilket omfang ulike vekst- og kondisjonsmål forandrer seg med en betydelig forandring i byttedyrtilgang.

De ulike vekst- og kondisjonsmål var de samme som for høstens forsøk. I tillegg ble det også tatt larveprøver i dette forsøket for å undersøke kondisjonen hos fiskelarver vha. 'flow cytometri'. Lengdemålinger og stadie-bestemmelser ble gjort på alle larvene under prøvetakingen. Dataene fra analysene av fettsyre-mengde og -sammensetning inngikk i en hovedfagsoppgave i organisk kjemi (Svein Bratteteig, Kjemisk institutt, UiB).

Feltdata

Data for ernæringsstatus av larver av NVG-sild samt hydrografi samlet inn langs Norskekysten i 1992, 1993 og 1994 ble sammenlignet, og RNA:DNA-verdier for larver av NVG-sild ble presentert for første gang. Formålet med dette arbeidet var å sammenligne mellom-år variasjoner i ernæringsstatus hos larver samlet inn om våren og sommeren fra 1992 til 1994. Hypotesen om at ulike kondisjonsmål fra samme larve er korrelert, ble testet, og det ble undersøkt om det er sammenheng mellom kondisjons- og rekrutteringsindekser.

Faglige resultater

Laboratorieforsøk

Høst 1995

Det var en klar effekt av ulike temperaturer og byttedyrkonsentrasjoner på gjennomsnittlig størrelse ved alder (Fig. 1), og ulike størrelsesmål viste de samme tendenser mhp. gruppevis forskjeller i størrelse ved alder. Vektspesifikke størrelsesmål viste at larvegrupper som hadde nominelle byttedyrtettheter på 200 og 2000 pr. l., hadde en markant økning i gjennomsnittlig størrelse fra dag 7. Larvegrupper som fikk nominelle tettheter av byttedyr på 20 pr. l fikk en markant økning i gjennomsnittlig størrelse først etter dag 14. Overlevelsen i lavfôrgruppene til dag 35 etter klekking var henholdsvis 43 og 25 % i 8° og 12° C gruppene. Larvegruppene som fikk nominelle tettheter av byttedyr på 200 og 2000 pr. l, hadde overlevelsesandeler fra 76 til 92 % til dag 35.

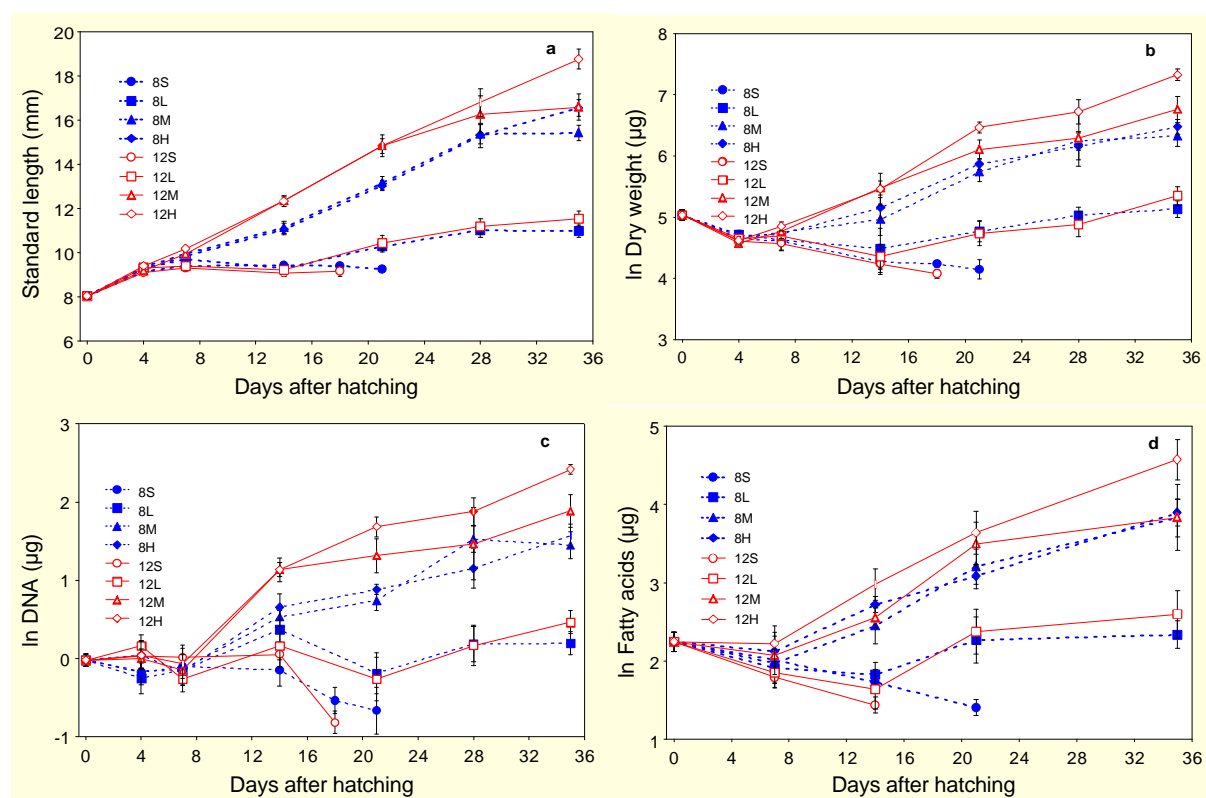


Fig. 1. Gjennomsnittlig størrelse (med 2 SE) gitt som a) standardlengde, b) frysetørrvekt, c) mengde DNA, og d) total mengde fettsyrer ved alder hos larver av høstgytende sild dyrket ved ulike temperaturer og byttedyrregimer. Symbolene S (sult), L (lav), M (middels) og H (høy) representerer nominelle byttedyrtettheter på 0, 20, 200 og 2000 dyr per l ved henholdsvis 8

Den gjennomsnittlige lengdetilveksten for larvegrupper som fikk 200 og 2000 byttedyr pr. l lå mellom 0,21 og 0,31 mm pr. dag (Fig.1a). Den daglige gjennomsnittlige tilveksten for førede larvegrupper basert på frysetørrvekt og total mengde fettsyrer var generelt høyere enn gjennomsnittlig tilvekst basert på DNA-mengde. Den daglige gjennomsnittlige otolitt-tilveksten for larvegrupper dyrket ved 8° C på 200 og 2000 byttedyr pr. l var mer enn 60 % lavere enn for larvegrupper dyrket ved 12° C ved tilsvarende byttedyrtettheter.

Det var ingen signifikante forskjeller i gjennomsnittlig otolittstørrelse mellom grupper som fikk 200 og 2000 byttedyr pr. l innen samme temperaturgruppe (Fig. 2a), og larvegrupper som fikk 20 byttedyr pr. l hadde svært lav tilvekst i otolittstørrelse. Larvegrupper dyrket ved 12° C hadde signifikant større otolitter ved samme lengde sammenlignet med larver dyrket

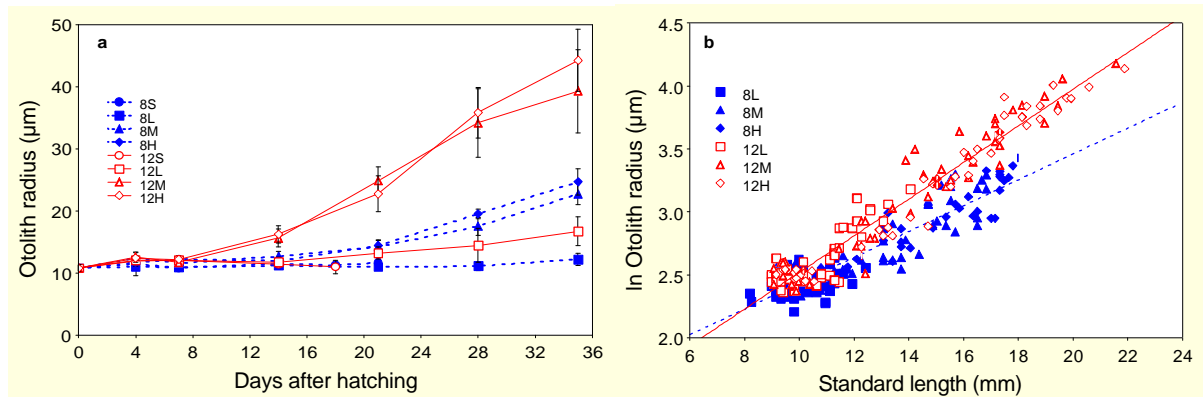


Fig. 2. a) Gjennomsnittlig otolitt radius (sagitta) (med 2 SE) ved alder, og b) otolitt (sagitta) radius som funksjon av standard lengde hos larver av høstgytende sild dyrket ved ulike temperaturer og byttedyrregimer. Ligninger i b): Stiplet linje - 8° C: $\ln y = 1,408 + 0,103*x$, $R^2 = 0,841$, $P < 0,0001$, $n = 138$; Heltrukken linje - 12° C: $\ln y = 1,063 + 0,146*x$, $R^2 = 0,944$, $P < 0,0001$, $n = 144$. Symboler som i Figur 1.

Flere kondisjonsmål ble testet:

- Fulton's kondisjonsfaktor (frysetørrvekt: standardlengde³)
- forholdet mellom frysetørrvekt og DNA-mengde
- forholdet mellom RNA-mengde og frysetørrvekt
- forholdet mellom RNA og DNA-mengder
- forholdet mellom fettsyrene EPA (20:5n-3) og DHA (22:6n-3)
- forholdet mellom utvalgte fettsyrer (SFA: 18:3n-3, 18:4n-3 og 20:5n-3) og DHA.
- forholdet mellom EPA-mengde og standardlengde³
- forholdet mellom SFA-mengde og standardlengde³
- forholdet mellom total mengde fettsyrer (TFA) og standardlengde³

De to førstnevnte kondisjonsmålene var dårlig egnet for å skille mellom larvegrupper med ulike føderegimer. De beste kondisjonsmålene er vist i Fig. 3. Forholdene mellom RNA og DNA og fettsyrene EPA og DHA gav klare forskjeller mellom larvegrupper med ulike føderegimer, og var relativt uavhengige av larvenes alder. Larver som fikk 200 og 2000 byttedyr pr. l hadde høyere RNA:DNA og EPA:DHA-verdier ved 8° enn ved 12° C. EPA:DHA-forholdet er et nytt kondisjonsmål for marine fiskelarver, og har ikke blitt anvendt tidligere i litteraturen som et mål på ernæringstilstand.

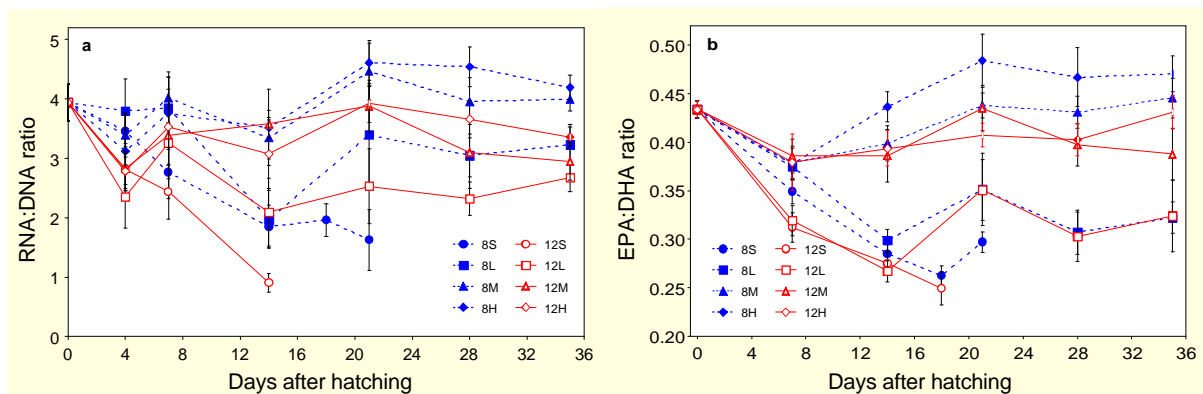


Fig. 3. Gjennomsnittlig ernæringstilstand (med 2 SE) gitt ved a) forholdet mellom RNA og DNA-mengde og b) EPA(20:5n-3):DHA(22:6n-3)-forholdet ved alder hos larver av høstgytende sild dyrket ved ulike temperaturer og byttedyrregimer. Symboler som i Fig. 1.

Kondisjonsmålene RNA:DNA, EPA:DHA og EPA:SL³ var best relaterte til daglig spesifikke vekstrater (Tabell 1). Det var en signifikant effekt av temperatur sammen med kondisjonsmålene RNA:DNA og EPA:DHA på vekstrate, og en signifikant effekt av kroppsstørrelse (ln frysetørrvekt) og temperatur sammen med kondisjonsmålene RNA:DNA, EPA:SL³ og EPA:DHA på vekstrate. Relasjonen mellom vekst og kondisjonsmålene RNA:DNA, RNA:DW og DW:DNA og temperatur hadde den høyeste forklaringsandelen (R²) (opptil 79 % av variasjonen i dataene).

Tabell 1. Stegvisse regresjonsmodeller ($n = 20$) for relasjonene mellom daglig spesifikke vekstrate (SGR, %/d) i tørrvekt og ulike kondisjonsmål, temperatur (T -°C) og frysetørrvekt

Regresjoner	R ²	P
Vekst vs. kondisjonsmål		
SGR = - 5,95 + 3,35*RNA:DNA	0,51	< 0,0004
SGR = - 12,01 + 43,98*EPA:DHA	0,43	< 0,0016
SGR = - 5,03 + 7,62*EPA:SL ³	0,45	< 0,0010
Vekst vs. kondisjonsmål og temperatur (T)		
SGR = - 14,93 + 3,81*RNA:DNA + 0,75*T	0,61	< 0,0003
SGR = - 18,06 + 2,85*RNA:DNA + 2,11*RNA:DW + 0,76*T	0,73	< 0,0001
SGR = - 30,05 - 1,75*RNA:DNA + 6,37*RNA:DW + 12,99*DW:DNA + 0,71*T	0,79	< 0,0001
SGR = - 18,70 + 47,21*EPA:DHA + 0,55*T	0,49	< 0,0030
Vekst vs. kondisjonsmål, temperatur og ln tørrvekt (DW)		
SGR = - 13,01 + 5,01*RNA:DNA + 1,06*T - 1,60*ln DW	0,65	< 0,0006
SGR = - 19,27 + 65,48*EPA:DHA + 0,81*T - 1,65*ln DW	0,53	< 0,0065
SGR = - 1,95 + 15,28*EPA:SL ³ + 0,77*T - 3,76*ln DW	0,58	< 0,0027

Faktoranalysen av vekst og kondisjonsdataene viste at 66,9 % av variasjonen ble forklart ved størrelsesmålene fordelt langs akse 1 (PC-1) (Fig. 4). Kondisjonsmålene RNA:DW, RNA:DNA, DW:DNA og EPA:DHA samt vekstmålet SGR (%/d) var tilnærmet ukorrelerte med størrelsesmålene. Kondisjonsmålene RNA:DNA, RNA:DW og EPA:DHA var korrelert med vekstmålet SGR (%/d) langs akse 2 (PC-2). Fulton's kondisjonsfaktor var korrelert med størrelsesmål, og tilnærmet ukorrelert med andre kondisjonsmål.

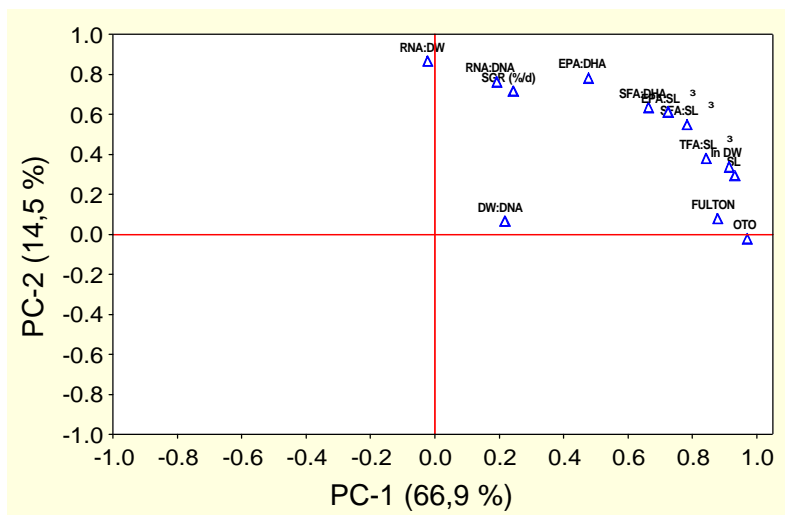


Fig. 4. Faktorladnings-plott der ulike størrelsesmål (SL, ln DW og Oto), kondisjonsmål (Fulton's, RNA:DNA, DNA:DW, RNA:DW, EPA:DHA, SFA:DHA, EPA:SL³, SFA:SL³ og TFA:SL³) og vekstmål gitt som daglig tørrvektsøkning (SGR (%/d)) er plottet langs 1. og 2. prinsipal komponent (PC).

Vår 1996

Størrelsesmålene responderte raskt på skifte i byttedyrregimer (Fig. 5). Ved dag 18, var det liten forskjell i gjennomsnittlig størrelse mellom grupper som hadde hatt likt føderegime, uavhengig av størrelsesmål. Overlevelsen i forsøksgruppene var generelt høye, og varierte fra 46 til 87 % til dag 46 etter klekking.

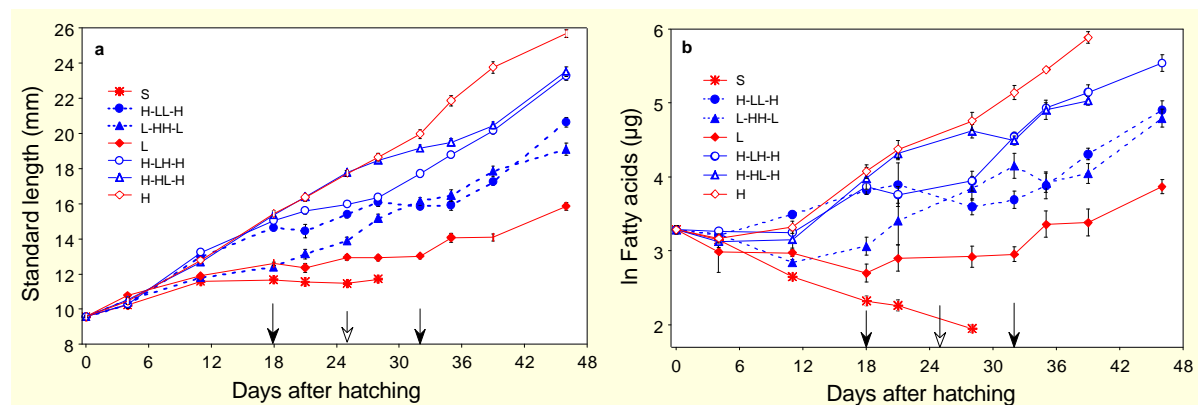


Fig. 5. Gjennomsnittlig størrelse (med 2 SE) gitt som a) standardlengde og b) total mengde fettsyrer ved alder hos larver av NVG-sild dyrket ved 8° C og konstante eller varierende føderegimer. Gruppene S (sult), L (lav) og H (høy) hadde konstante nominelle byttedyrtettheter på 0, 40, og 1200 dyr pr. l fra dag 4-46, mens de øvrige gruppene hadde varierende nivå av byttedyrtettheter angitt i rekkefølge for dagene 4-18, 18-25, 25-32 og 32-46. Larver fra gruppene L, L-HH-L og H-LL-H ble merket med alizarin complexon på dag 18 og dag 32. Pilene angir dagene føderegimene ble forandret.

Den gjennomsnittlige lengde-tilveksten ved lav og høy byttedyrkonsentrasjon var henholdsvis 0,10 og 0,37 mm pr. dag (Tabell 2), og de tilsvarende gjennomsnittlige vekstratene basert på tørrvekt var 1,4 og 7,6 % pr. dag. Larvegruppen som hadde konstant

høy byttedyrtetthet (1200 byttedyr pr. l), hadde høyere vekstrater enn larvene i dyrket ved 2000 byttedyr pr. l og 8°C høsten1995.

Kondisjonsmålene RNA:DNA og EPA:DHA reagerte raskt på en økning eller reduksjon i byttedyrtetthet med en latensperiode på < 3 dager (Fig. 6). RNA:DNA-verdiene var tilnærmet uavhengig av larvenes alder mens EPA:DHA-verdiene økte med larvenes alder spesielt etter dag 28.

Tabell 2. Enkle lineære regresjoner av ulike størrelsesparametre mot alder (dag 4-46 etter klekking) for larvegrupper av norsk vårgytende sild ved sult (S) og konstant lav (L, 40 byttedyr pr. l) eller høy (H, 1200 byttedyr pr. l) med determinasjons-koeffisient (R^2), statistisk signifikans (P), og antall observasjoner (n).

Larvegrupper	Ligninger	R^2	P	n
Standardlengde (mm) vs. alder (d)				
S	$y = 10,556 + 0,052 * x$	0,358	< 0,0001	183
L	$y = 10,499 + 0,101 * x$	0,587	< 0,0001	283
H	$y = 8,554 + 0,373 * x$	0,910	< 0,0001	297
ln Tørrvekt (μg) vs. alder (d)				
S	$\ln y = 5,428 - 0,027 * x$	0,876	< 0,0001	43
L	$\ln y = 5,086 + 0,013 * x$	0,219	< 0,0001	76
H	$\ln y = 4,942 + 0,074 * x$	0,918	< 0,0001	76
ln Fettsyrer (μg) vs. alder (d)				
S	$\ln y = 3,199 - 0,046 * x$	0,791	< 0,0001	35
L	$\ln y = 2,456 + 0,024 * x$	0,322	< 0,0001	66
H	$\ln y = 2,602 + 0,080 * x$	0,927	< 0,0001	65

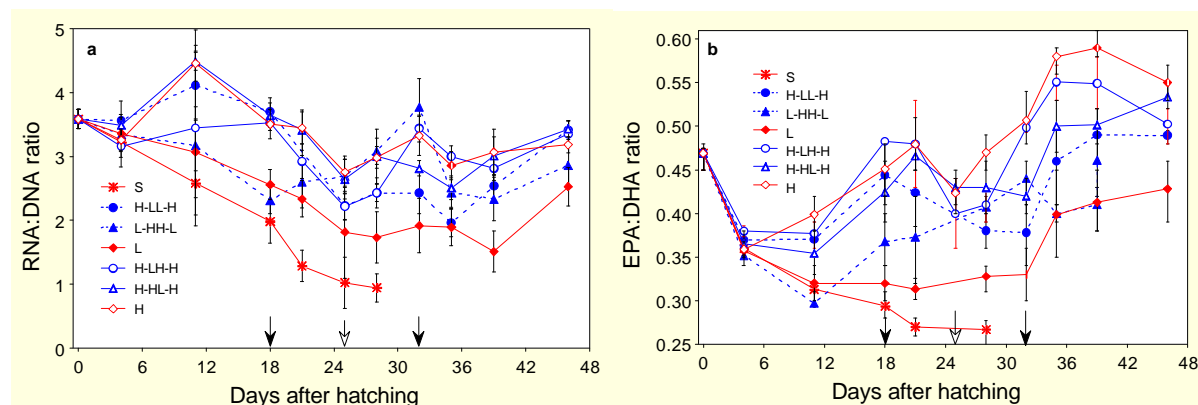


Fig. 6. Gjennomsnittlig ernæringsstilstand (med 2 SE) gitt ved a) forholdet mellom RNA og DNA-mengde og b) forholdet mellom fettsyrene EPA(20:5n-3) og DHA(22:6n-3) hos larver av norsk vårgytende sild dyrket ved 8° C og konstante eller varierende føderegimer. Symboler som i Fig. 5. Pilene angir dagene føderegimene ble forandret.

Tabell 3. Pearson's produkt-moment korrelasjoner ($n = 52$) mellom estimerte vekstrater av larver av norsk vårgytende sild basert på frysetørrvekt og vekstrater basert på stegvise regresjoner fra høst 1995 (se Tabell 2), Buckley's (1984) ligning og felles stegvise regresjoner fra høst 1995 og vår 1996. Ligninger:

1) $SGR (\%/d) = -14,93 + 3,81 * RNA:DNA + 0,75 * T$ (høst 1995);

2) $SGR (\%/d) = -18,70 + 47,21 * EPA:DHA + 0,55 * T$ (høst 1995);

3) $SGR - protein (\%/d) = -18,18 + 4,75 * RNA:DNA + 0,93 * T$ (Buckley 1984)

4) $SGR (\%/d) = -24,15 - 0,45 * RNA:DNA + 2,47 * RNA:DW + 6,13 * DW:DNA + 0,44 * T$

5) $SGR (\%/d) = -12,50 + 24,04 * EPA:DHA + 1,15 * EPA:SL^3 + 0,62 * T$

	SGR (%/d) RNA:DNA + temp. ¹⁾	SGR (%/d) EPA:DHA + temp. ²⁾	SGR(%/d) Buckley's ligning ³⁾	SGR (%/d) Nukleinsyrer begge år ⁴⁾	SGR (%/d) Fettsyrer begge år ⁵⁾
SGR (%/d) estimert	0,57***	0,75***	0,57***	0,82***	0,79***

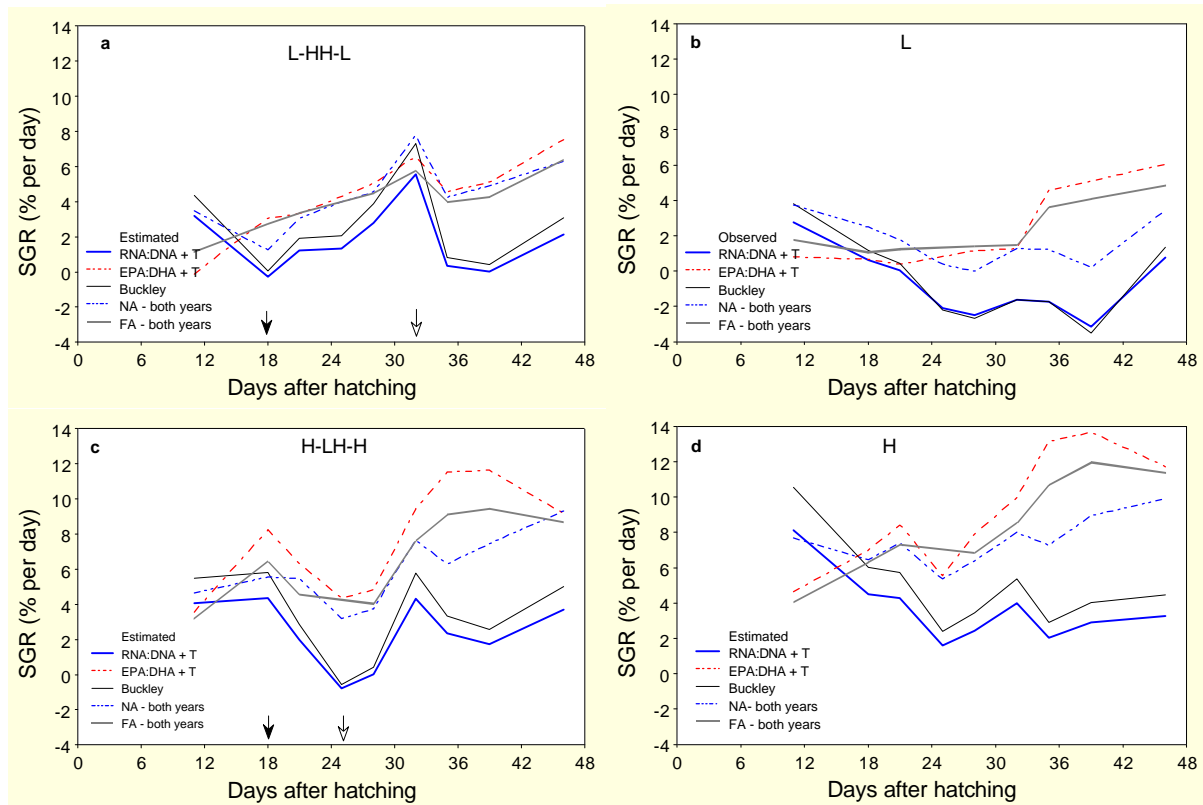


Fig. 7. Daglig spesifikke vekstrater (SGR % pr. dag) relatert til dager etter klekking for utvalgte forsøksgrupper vår 1996. Den tykke stiplede linjen angir estimert vekst basert på observerte tørrvekter mens de andre linjene angir predikterte vekstrater ut fra stegvise regresjoner fra høst 1995 (se Tabell 1 og 3).

Estimerte og predikterte daglige vekstrater ut fra regresjoner basert på kondisjonsmål er vist i Fig. 7, og korrelasjonene mellom disse er vist i Tabell 3. Regresjonen basert på EPA:DHA-verdier og temperaturer fra forsøket utført høsten 1995, gjenspeilte de estimerte vekstratene basert på tørrvekter fra 1996-forsøket svært bra (Pearson's produkt-moment korrelasjon = 0,75). Enda bedre sammenheng var det mellom estimerte og predikterte vekstrater når de predikterte vekstratene ble basert på regresjoner av kondisjonsmål, temperatur og kropp-

størrelse fra begge årene (Pearson's produkt-moment korrelasjoner = 0,79 og 0,82). De predikerte vekstratene basert på RNA:DNA verdier og temperaturer fra forsøket i 1995 var svært lik de predikerte proteinvekstratene basert på Buckley's (1984) ligning.

RNA:DNA forholdene til larver av NVG-sild økte med økende larvestørrelse alle år, unntatt for larver samlet inn sør for 62° N i 1994. RNA:DNA forholdene tydet på at bare en liten andel ($\leq 0,7\%$) av larvene sultet hvert av årene. Flere av kondisjonsmålene var signifikant korrelert med hverandre. Antallsdata for sild i tidlig larvefase og 0-gruppe stadiet fra 1992-1994 tydet på en høyere dødelighet i 1994 sammenlignet med de andre årene. Larvenes gjennomsnittlige ernæringstilstand var ikke signifikant forskjellig mellom år, men variasjonen i larvenes kondisjon var høyere i 1994 enn i de andre årene. Kondisjonen i de senere larvestadiene var også relativt lavere i 1994 enn i de andre årene.

Referanser

Buckley, L.J. 1984. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. — *Marine Biology* 80: 291-298.

Bulow, F.J. 1987. RNA-DNA ratios as indicators of growth in fish: A review. — Pp. 45-64 in R. C. Summerfelt & G. E. Hall (eds): *Age and growth in fish*. Iowa State University Press, Ames, Iowa.

Campana, S.E. & J.D. Neilson 1985. Daily growth increments in otoliths of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental variables in their production. — *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 39: 937-942.

Clemmesen, C.M. 1996. Importance and limits of RNA/DNA ratios as a measure of nutritional condition in fish larvae. — Pp. 67-83 in Y. Watanabe, Y. Yamashita & Y. Oozeki (eds): *Survival strategies in early life stages of marine resources*. A. A. Balkema, Rotterdam.

Ferron, A. & W.C. Leggett 1994. An appraisal of condition measures for marine fish larvae. — *Advances in Marine Biology* 30: 217-303.

Jones, C. 1986. Determining age of larval fish with the otolith increment technique. — *Fishery Bulletin U.S.* 84: 91-103.

Andre momenter

I prosjektsøknaden ble det nevnt at et annet interessant mål på øyeblikkelig veksthastighet hos fisk er aktiviteten til enzymet ornitin dekarboksylase (ODC). Denne metoden er prøvd ut på individuell juvenil fisk med godt resultat, men er foreløpig ikke tilpasset for bruk på individuelle fiskelarver. Våren 1996 ble det tatt ut ca. 250 larver som skulle analyseres for ODC ved Fiskeridirektoratets Ernæringsinstitutt, men disse analysene kunne ikke gjennomføres. Istedenfor vil disse prøvene bli analysert for ernæringstilstand vha. 'flow cytometri' av forsker Ivar Holmefjord på et prosjekt finansiert av NFR. Larvene som ble brukt til analyse av fettsyremengde og -sammensetning fra vårforsøket 1996, inngikk i

hovedfags-oppgaven til Svein Bratteteig, Kjemisk institutt, UiB. Det har vært en betydelig eksperimentell innsats i løpet av prosjektperioden, og totalt ble det tatt ut 1201 larver fra forsøket høsten 1995 og 2321 larver fra forsøket våren 1996. Forsøket våren 1996 ble utført sammen med NFR-prosjektet (108103/122): "Otolitt mikrostruktur hos sild, presisjon, nøyaktighet og anvendelse." I tillegg har RNA:DNA data fra 643 larver av NVG-sild fanget i felt, blitt analysert og publisert.

Prosjektet har sikret finansiering til en forsker fra 15. august 1995 til 31. desember 1997, og har stort sett blitt gjennomført i henhold til prosjektsøknaden. De eksperimentelle forsøkene på karakterisering av ernæringstilstand har vært konsentrert på larvestadiet av sild. Forsøkene hadde blitt altfor omfattende dersom man skulle ha gjennomført et tilsvarende opplegg på torsk parallelt. Imidlertid er en del av torskelarvene under del A av det strategiske programmet analysert for RNA og DNA, og et større otolittmateriale fra torsk er også opparbeidet. Forsøkene som har blitt gjennomført har vært meget vellykkede, og resultatene fra prosjektet vil gi grunnlag for flere arbeider som skal sendes inn til vitenskapelige tidsskrift. Resultatene har gitt ny viten om karakterisering av ernæringstilstand hos marine fiskelarver, og tiden er inne for at disse resultatene anvendes videre i feltundersøkelser.

Sammendrag

Biokjemiske markører basert på nukleinsyrer (RNA:DNA og RNA:DW) og fettsyrer (EPA:DHA og EPA:SL³) er funnet å være velegnet for å beskrive ernæringsstatus hos marine fiskelarver. EPA:DHA og RNA:DNA-forholdene var de mest sensitive markørene på larvers ernæringsstatus. Fettsyrebaserede kondisjons-indekser har ikke vært benyttet tidligere i litteraturen for å karakterisere marine fiskelarvers kondisjon. De nevnte markørene skilte klart mellom larver i god og dårlig kondisjon, men rangeringen av larvegrupper varierte noe mellom ulike indekser. Det var en generell temperatur-effekt på RNA:DNA og EPA:DHA-verdiene, og verdiene var høyere ved 8° C enn ved 12° C på larver av høstgytende sild ved samme byttedyrtetthet. Forandringer i føderegimer virket også klart inn på størrelsesmål som standardlengde, tørrvekt, mengder av DNA og fettsyrer og otolitter, og understreker betydningen av kjent alder. Larvegrupper dyrket ved 12° C hadde signifikant større otolitter ved samme lengde sammenlignet med larver ved 8° C. Ved 8° C og høy byttedyrtetthet, hadde larver av NVG-sild høyere gjennomsnittlige daglige vekstrater enn larver av høstgytende sild. Kondisjonsmålene RNA:DNA, RNA:DW, EPA:DHA og EPA:SL³ responderte raskt på forandringer i byttedyrtetthet med en latensperiode på < 3 dager. En regresjonsligning basert på EPA:DHA-forhold og temperatur fra forsøket gjennomført høsten 1995 var velegnet for å prediktere veksten av larver av NVG-sild i 1996-forsøket, og kan derfor anvendes for ulike bestander av atlantisk sild. Overlevelsen i laboratorie-forsøkene varierte mellom 25 og 92 % til dag 35 etter klekking for larver av høstgytende sild i 1995, og mellom 46 og 87 % til dag 46 for larver av NVG-sild i 1996. Felldata av RNA:DNA for larver av NVG-sild fra 1992-1994 viste at flere kondisjonsmål var positivt korrelerte. Det var ikke noen klar sammenheng mellom gjennomsnittlig kondisjon og overlevelse frem til 0-gruppe stadiet, men variasjonen i larvens kondisjon var høyere i 1994 enn i de andre årene og kondisjonen til sene larvestadier var relativt sett lavere i 1994 enn i de andre årene.

Presentasjoner av resultater

Vitenskapelige arbeider i bøker/tidsskrift med referee:

Baduge, S. K., A. Folkvord & A. Johannessen 1998. Responsiveness of selected condition measures of herring, *Clupea harengus*, larvae to starvation in relation to ontogeny and temperature. — *Environmental Biology of Fishes* 00: 000-000.

Blom, G., A. Folkvord, A. Johannessen, & P. Fossum 1997. Interannual variations in condition indices of larval Norwegian spring-spawning herring. — *Journal of Fish Biology* 51 (Supplement A): 370-384.

Folkvord, A. & E. Moksness 1995. RNA/DNA ratios and growth of herring larvae. — *Marine Ecology Progress Series* 121: 311-312

Folkvord, A., I. M. Haaland, O. Grahl Nielsen & A. Johannessen 1996. Fatty acid composition of herring (*Clupea harengus* L.) larvae off western Norway. — *Sarsia* 80: 399-305.

Folkvord, A., K. Rukan, A. Johannessen & E. Moksness 1997. Early life history of herring larvae in contrasting feeding environments determined by otolith microstructure analysis. — *Journal of Fish Biology* 51 (Suppl. A): 250-263.

Johannessen, A., G. Blom, A. Folkvord & H. Svendsen 1995. The effects of local wind on the distribution of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) larvae. — Pp. 365-384 in H. R. Skjoldal, C. Hopkins, K. E. Erikstad & H. P. Leinaas (eds.), *Ecology of fjords and coastal waters*. Elsevier, Amsterdam.

Manuskript under utarbeidelse:

Blom, G., A. Johannessen, A. Folkvord & F. Midtøy, in prep. Growth and condition of autumn spawned Atlantic herring, *Clupea harengus* L., larvae reared at different temperatures and prey densities.

Blom, G., A. Johannessen & A. Folkvord. Effects of shifting feeding regimes on the nutritional status of larval Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.).

Folkvord, A., G. Blom, A. Johannessen & E. Moksness, in prep. Growth dependent age estimation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae.

Johannessen, A., G. Blom, & A. Folkvord, in prep. Differences in otolith and somatic growth between spring and autumn spawned herring (*Clupea harengus* L.) larvae.

Hovedfagsoppgaver gitt i tilknytning til prosjektet:

Kristogu Baduge Suneetha 1996. Effects of starvation on selected condition measures including RNA:DNA of herring (*Clupea harengus*) larvae, in relation to temperature and size. 106 pp.

Bratteteig, S. 1998. Variasjoner i fettsyresammensetningen hos larver av norsk vårgytende sild (*Clupea harengus*) som følge av forskjellig næringstilgang - bruk av gasskromatografi, HPLC og flervariabel data-analyse. 102 pp.

Andre rapporter, foredrag og presentasjoner fra vitenskapelige møter:

Blom, G., A. Johannessen, A. Folkvord & F. Midtøy. "Growth and condition of autumn spawned Atlantic herring, *Clupea harengus* L., larvae reared at different temperatures and prey densities". Foredrag presentert ved 76th Annual meeting, American Society of Ichthyologists and Herpetologists, New Orleans, 13.-19. juni 1996.

Blom, G., A. Folkvord, A. Johannessen, og P. Fossum 1997. "Interannual variations in condition indices of larval Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus*)". Foredrag presentert ved Annual Symposium of the Fisheries Society of the British Isles, Galway, Irland, 8.-11. juli 1997.

Folkvord, A. "Studier av otolitter, hva kan de brukes til?" Seminar ved Institutt for fiskeri- og marinbiologi, Universitetet i Bergen, 29. mai 1998.

Johannessen, A. "Recruitment studies of marine fish". Foredrag presentert ved the Marine Biological Association of Hong Kong, Hong Kong University, 11. nov. 1997.

Annen forskningsformidling

Prosjektet har vært omtalt i NFR-bladet Forskning og nyhetsbulletin Stages tilhørende The Early Life History Section of the American Fisheries Society.

Sammendrag av sentrale arbeider

Baduge, S. K., A. Folkvord & A. Johannessen, in press. Responsiveness of selected condition measures of herring, *Clupea harengus*, larvae to starvation in relation to ontogeny and temperature. Environmental Biology of Fishes 00: 000-000.

A controlled laboratory experiment was performed to study the responsiveness of selected growth and condition measures to starvation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae in relation to temperature and size. Two size groups of larvae (10 mm and 14 mm) reared at three temperatures (5°C, 8°C and 11°C) were starved over 5 or 7 days, and the temporal changes in standard length, dry weight, DNA content, relative DNA (% dry weight), RNA content, relative RNA (% dry weight), Fulton's condition factor (CF) and RNA:DNA were assessed and compared with fed controls. Starvation led to decreases in dry weight, CF, RNA content, relative RNA and RNA:DNA while it led to an increase in relative DNA. Higher responsiveness to starvation was observed at higher temperatures, and the magnitude of the changes was higher in 14 mm group. The shortest latency in starvation response was found with respect to RNA:DNA which was length independent in the size range studied. Critical levels in relative DNA can be used (2.2% for 10 mm larvae, 3% for 14 mm larvae) to differentiate starved larvae from fed larvae, after 3 or 5 days of starvation. RNA:DNA was significantly correlated with average DNA growth, and the temperature adjusted DNA growth index developed ($Gdi = 7.32 \text{ RNA:DNA} + 0.52 T - 20.54$; $r^2 = 0.58$) is useful in estimating individual DNA growth (% day⁻¹) of herring larvae and differentiating fed and starved larvae. RNA:DNA was the most sensitive and suitable condition index studied in detecting early starvation, and growth of herring larvae.

Blom, G., A. Folkvord, A. Johannessen, & P. Fossum. 1997. Interannual variations in condition indices of larval Norwegian spring-spawning herring. Journal of Fish Biology, 51 (Supplement A): 370-384.

The seawater temperature off the Norwegian coast was lower in 1994 than in 1992 and 1993. RNA/DNA ratios of Norwegian spring spawning herring increased with increasing larval dry weight all years, except for larvae sampled south of 62°N in 1994. The RNA/DNA ratios indicated that each year, only a small portion (≤ 0.7 %) of the larvae were starving. RNA/DNA ratios and temperature were negatively correlated in 1992, but in the other years no significant correlations were found. Residuals of $\ln \text{RNA} \nu. \ln \text{DNA}$ and $\ln W \nu. \text{SL}$ were poorly correlated in all years, but residuals of $\ln \text{RNA} \nu. \ln \text{DNA}$ and $\ln \text{DNA} \nu. \ln W$ were negatively correlated all years. Principal component analysis showed that the RNA/DNA ratio and DNA (% of DW) were correlated with different axes. Abundance data for herring at the early larval and 0-group stages in 1992-1994 indicated higher mortality in 1994 compared with the other years. The data do not indicate that average larval condition was poorer in 1994 than in other years. However, the variability in larval condition was higher in 1994 than in the other years, and the condition of later larval stages was relatively lower in 1994 than in the other years.

Folkvord, A., G. Blom, A. Johannessen & E. Moksness, in prep. Growth dependent age estimation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae. Abstract submitted to the Otolith Symposium, Bergen, June 1998.

A controlled laboratory experiment was carried out to determine growth dependent otolith increment formation in herring larvae under constant and variable feeding regimes. Norwegian spring-spawning herring larvae were reared at 8°C for seven weeks using nominal prey densities of 40 (low) or 1200 (high) prey l⁻¹. Two groups of larvae were offered constant prey levels throughout the experiment (high and low), whereas the prey levels in two other groups were either temporarily increased or decreased. All groups were marked twice at the time of change in prey levels (day 18 and day 32 post hatching) by alizarin complexone immersion. Overall survival in the experiment ranged from 65 to 82%, and daily growth in length ranged from 0.04 to 0.4 mm day⁻¹. Average daily otolith growth in the low prey group was below 0.2 µm day⁻¹, and the apparent daily increment formation rate was significantly below one. The high prey group on the other hand had an increment deposition rate of about one after the first marking, and these increments averaged 1.1 µm. The alizarin marking confirmed that the otolith growth responded to changes in prey densities and larval growth within a few days.

Folkvord, A., L. Ystanes, A. Johannessen & E. Moksness 1996. RNA/DNA ratios and growth of herring (*Clupea harengus*) larvae reared in mesocosms. *Marine Biology*, 126: 591-602.

Autumn-spawned North Sea herring larvae were released in two outdoor mesocosms of 2 500 m³ (A) and 4 000 m³ (B). The mesocosms were monitored for temperature, salinity, oxygen, chlorophyll a, zooplankton and herring larvae abundance. The density of suitable prey for first feeding larvae (mainly copepod nauplii) was initially low in mesocosm A (<0.1 l⁻¹) compared to in mesocosm B (>1 l⁻¹). Half way during the experiment the situation was reversed, with higher densities of prey in mesocosm A (>3 l⁻¹) as compared to mesocosm B (~1 l⁻¹). The average temperature declined steadily in both mesocosms from 18°C at release to 11-12°C at the end of the experiment 60 days later. The RNA:DNA values of individual herring larvae were related to protein growth rates and temperature adjusted according to Buckley (1984). A corresponding DNA growth index (Gdi) was given as: $Gdi = 0.68 \text{ TEMP} + 3.05 \text{ RNA:DNA} - 9.92$. The RNA:DNA based growth indices were significantly correlated with other somatic growth estimates. The average estimated protein growth rate in the two mesocosms followed the same temporal pattern as somatic growth rate, but with a lag of 2 days or more. Residual analysis of the regression of ln RNA versus ln DNA also showed the same temporal pattern as the RNA:DNA ratios, but the shift in condition as estimated by this method occurred more in synchrony with the other somatic growth measures. Larvae in mesocosm A had RNA:DNA values similar to the starvation control kept in the laboratory the first days after release, confirming that larvae in mesocosm A initially were in poor nutritional condition. On the other hand, the majority of the herring from mesocosm B were characterised as being starving or in poor nutritional condition towards the end of the experiment. The assessment of growth and nutritional condition were in accordance with independent survival estimates which suggested that the majority of the total mortality occurred during the first 15 days in mesocosm A and thereafter in mesocosm B.

Johannessen, A., G. Blom, & A. Folkvord, in prep. Differences in otolith and somatic growth between spring and autumn spawned herring (*Clupea harengus* L.) larvae. Abstract submitted to the Otolith Symposium, Bergen, June 1998.

Laboratory experiments were conducted on herring (*Clupea harengus* L.) larvae in 500 liter tanks during autumn 1995 and spring 1996. Natural photoperiod for the time of year was simulated in both trials. The larvae were kept at 8° C, and were fed wild zooplankton; 2 tanks with low prey densities (20 and 40 prey l⁻¹) and another 2 tanks with high prey densities (1200 and 2000 prey l⁻¹). Monitoring of temperature, prey density and mortality was conducted every day, and larval sampling was performed at least once a week. The durations of the experiments were 35 days. Daily mortality rates were 2.4 (autumn) and 1.5 % (spring) in the low density groups, and 0.4 (spring) and 0.2 % (autumn) in the high density groups. The mean growth rates in length were 0.06 and 0.07 mm d⁻¹ in autumn and spring spawned larvae at low prey densities, and 0.24 and 0.35 mm d⁻¹ in corresponding high density groups, respectively. Average specific growth rates in weight were 2.0 and 1.2 % d⁻¹ in autumn and spring spawned larvae at low prey densities, respectively, and 6.1 and 7.1 % d⁻¹ in corresponding high density groups. The growth strategy of early autumn spawned larvae differed from that of spring spawned larvae. In autumn, the larvae had relatively high initial growth rates, reaching a maximum about 2 and 3-4 weeks post hatching for those fed at high and low rations respectively, after which the rates decreased. In spring, the larvae grew at approximately constant rates during the first three to four weeks, with increasing growth rates thereafter. Mean otolith growth rates were 0.04 and 0.05 μm d⁻¹ in autumn and spring spawned larvae at low prey densities, respectively, and 0.45 and 0.98 μm d⁻¹ in corresponding high density groups. Otolith growth rates in the control (starving) groups were not significantly different from the larval groups fed at low prey densities. Otolith radii were similar at corresponding lengths in both autumn and spring spawned larvae. We conclude that body length and otolith growth rates were higher for spring spawned larvae than autumn spawned ones, and the primary difference between the two experiments is suggested to be the seasonal day length.

Delprosjekt D: Utvikling av sanseorgan og nervesystem i relasjon til stadie- og størrelsesavhengig sårbarhet til predasjon

Prosjektansatte

Forsker Fil. dr. Bo. I. Holmqvist har vært prosjektansatt post. doc. i prosjektperioden. Forsker dr. scient. Jon Vidar Helvik har vært prosjektleder. Forskningsteknikker Torben Kallesøe har bidratt med uvurderlig teknisk hjelp til prosjektet siden 1997. Stipendiatene Johan Forsell og Carl Magnus Johnsson⁴, begge fra Universitetet i Lund, har arbeidet i tilknytning til prosjektet⁵.

Faglig beskrivelse

Bakgrunn

Pelagiske fiskelarver har allerede tidlig i utviklingen dannet sanseorgan for å få informasjon om omgivelsene (Noakes & Godin 1988). I tidlig fase er informasjon om lysforhold viktig for å kunne justere vertikal plassering, antagelig ved hjelp av informasjon fra pinealorganet og/eller øynene. På et tidlig stadie har fiskelarver utviklede neuromast organ som registrerer endringer i vannstrømmen rundt larven, en viktig informasjon for å oppdage predatorer. Ved fødeopptak er øynene svært viktige for å oppdage og fange byttedyrene. Utviklingen av disse organene gjenspeiler antagelig viktigheten av informasjonen etter hvert som larven utvikles (Browman 1989). De områdene i hjernen som mottar sanseintrykk vil i størrelse og differensieringsgrad gjenspeile viktighet av organene på ulike utviklingsstadier (Brandstätter & Kotschal 1989; Kawamura & Washiyama 1989). Hjernen utvikles altså parallelt med sanseorganene for å integrere og omsette informasjonen til aktive responser.

Første del av fiskelarvens utvikling blir gjennomført ved bruk av plommemassen. Senere er larven avhengig av føde fra omgivelsen for videre vekst og utvikling. Viktigheten av essensielle næringsstoffer vil dermed være mer kritisk i slike vekst perioder. De essensielle fettsyrer (EPA, 20:5 n-3 og DHA 22-6 n-3) vært vist å ha betydning for normal vekst og utvikling (Watanabe 1993). DHA er den viktigste flerumettede fettsyren i hjernens grå substans og i retinas fotoreseptorer (Neuringer & al., 1986). For piggvar er det vist at DHA nivået i hjernen kan relateres direkte til DHA- nivået i fôret (Mourente & Tocher 1992). For sild er det vist sammenheng mellom nivået av DHA i fôret og larvenes evne til å fange byttedyr ved lave lysintensiteter (Sargent & al. 1994), sannsynligvis på grunn av betydningen av DHA for normal utvikling av staver i retina. Ernæringsstatus ser dermed ut til å påvirke utvikling av sanseorganene og kanskje hjernens evne til å omsette informasjonen til aktiv respons.

Utviklingen av en organisme gjennomgår ulike faser hvor differensieringen er mer aktiv og hvor store endringer finner sted (Browman 1989). For eksempel differensierer hjernen mer i

⁴ Vi vil uttrykke vårt store savn av vår gode venn og kollega Carl Magnus som tragisk, og alt for tidlig forlot oss og dermed ikke fikk oppleve slutfasen av dette prosjektet.

⁵ Med finansiering fra LSF og NORFA.

Kartlegging av sansesystemets utvikling er en omfattende oppgave som vi har angrepet på

- b) via parallelle studier av mekanismer på cellulært og molekylært nivå
- c) ved å relatere utviklingen til økologisk tilpasning

Prosjektet er gjennomført med en integrert forskningsprofil. Dr Jon Vidar Helvik (delprosjektleder) har stått for den utviklingsbiologiske og atferdsmessige profil av prosjektet, mens dr Bo Holmqvist (ansatt forsker) har stått for den nevrobiologiske profilen i prosjektet og tilpasset nevrobiologiske metoder for utviklingsstudier av marin fisk. Studier av grunnleggende mekanismer på et cellulært og molekylært nivå er fra 1997 gjort i samarbeid med NFR prosjektet "Nevrobiologiske utviklingsstudier av sentralnervesystemet og sansorgans dannelse hos marin fisk" (Dr. Holmqvist prosjektleder). Komparativt er utviklingen av sansesystemet hos torsk og sild sammenlignet med kveite gjennom et samarbeid med NFR-prosjektet "Utvikling av sansorgan og nervesystem hos kveite" (Dr. Helvik prosjekt leder). Foruten de andre prosjekt medarbeiderne i det strategiske programmet har en gjennom hele prosjekt perioden har vi hatt et nært samarbeid med Universitetet i Lund (dr. Ekström's gruppe ved Zoologisk institutt). Atferdsmessige studier av synsdannelse er gjort i samarbeid med Dr. Anne Christine Utne (IFM, UiB) og Erling Kåre Stenevik (IFM, UiB). Studier av sidelinjesystemets utvikling i sild pågår i samarbeid med prof. Northcutt (Dept. Neurosciences, Univ. California, San Diego).

Materialet til dette delprosjektet er skaffet tilveie gjennom forsøkene i delprosjektene A og B. Nevromorfologiske og nevrokjemiske metoder er anvendt for å kartlegge sansesystemets utvikling. Spesielt har vi fokusert på tidspunktet når ulike sansesystem utvikles (anatomisk kartlegging), hvilke cellulære komponenter som dannes (morfologisk og immunohisto-kjemisk kartlegging) og når sansesystemet er funksjonelt (inneholder nevrokjemiske komponenter for funksjon). På et cellulært nivå har vi fulgt dynamikken i den funksjonelle dannelse av retina (syn), pineal organet (lys/lyperiode), neuromastene (bevegelse) og lukte organet (lukt) i relasjon til differensieringen av hjernen. I tillegg har vi studert uttrykket av spesifikke molekyler som uttrykkes fra dannelse av cellen (mitosen), gjennom utviklingen av cellen (differensieringen) til en funksjonell (fenotypisk) nervecelle. Vi har studert utviklingen

fra tidlig embryo fasen via ulike larvestadier til gjennomført metamorfose. Adulte stadier er også blitt studert for å få kjennskap til anatomen til ferdig utviklede individer.

Hovedmetodene har vært immunohistokjemiske metoder, det vil si bruk av antistoff mot spesifikke komponenter som uttrykkes (immunoreaktive: ir) i cellene på ulike stadier i differensieringsprosessen. I korthet fikseres embryo og larver, frysesnittes (ca 10µm) og farges immunohistokjemisk før preparatet analyseres i mikroskop. Minst 5 individer er benyttet for hvert stadie og for hver av de ulike markørene. Spesifikke molekyler detekteres som uttrykkes av cellen under mitosen, gjennom utviklingen av cellen (differensiering) og når cellen er funksjonell.

Disse teknikkene ble optimalisert for marine fisk høsten 1995 under vårt opphold ved Zoologisk Institutt, Universitetet i Lund, og har under 1996 og 1997 blitt etablert ved Molekylærbiologisk Institutt UiB, hvor vi i denne perioden har brukt metodene på to komplette samplingsserier av sild og torsk.

Nervecellenes differensiering og videre dannelse til funksjonelle sansesystem er klarlagt gjennom studier av:

1. celledeling / mitotisk aktivitet (immunodeteksjon av "Proliferating cell nuclear antigen", (PCNA), på normal vekst grupper av sild og torsk og sult- grupper av sild.
2. nydannelse av nevroner (immunofarging av acetyleret α -tubulin (AT)).
3. dannelse av funksjonelle transmittor nevroner (immunodeteksjon av transmittorer som GABA, catecholaminer (TH) og serotonin (5HT)).
4. dannelse av funksjonelle reseptor nevroner for lys/syns oppfattelse (immunodeteksjon av fotopigmentet opsin (OP) og transduksjonsmolekylene arrestin (SA) og α -transdusin (TD)).
5. synsdannelsen (optomotorisk respons), relatert til morfologisk/kjemisk utvikling.
6. identifisering av spesifikke organsystem i visse stadier ved hjelp av "tracing" metoder (fluorescerende carbocyanine molekyler som vandrer i nervebanene).

Måling av fiskelarvers synsdannelse (optomotorisk respons) er brukt for å teste utviklingen av synsevnen hos sild og torsk fra klekking og frem til sult gruppen døde. Denne metode bygger på at larven prøver å opprettholde et konstant forhold til omgivelsene, og dersom omgivelsene beveger seg vil larven prøve å følge etter. Metoden gjennomføres ved å plassere larven i et stasjonært kammer omgitt av en roterende sylinder med vertikale svarte og hvite striper. Dersom larven ser stripene vil den følge etter og svømme i ring. Ved å teste en serie sylindrer med stadig smalere stripebredde inntil larven ikke responderer kan en utfra smaleste stripebredden med respons beregne larvenes synsevne. Dette innbefatter hele synssystemets funksjon som inkluderer retina, sentrale visuelle integreringssenter, samt fysiologisk (motorisk) respons.

Faglige resultater

Prosjektet har fulgt den grunnleggende utviklingen av nervesystemet samt anatomi og sanseorgan hos sild og torsk, fra embryo til gjennomført metamorfose. Deler av nevroanatomen i den voksne hjernen er også dokumentert.

Fig. 1 og 2. Oversikten viser sekvensen av noen nevromorfologiske og nevrokjemiske begivenheter under dannelsen av pinealorganet, luktsystemet og hjernen hos torsk og sild fra befruktning og noen dager inn i plommesekkfasen.

i) Hjernen - sentral mottaking og integrering av sansesignaler

Differensieringen av hjernen starter et tidlig embryologisk stadium i både sild og torsk, og i samme sekvens i begge arter (Fig. 1, 2 og 3). Celledelingsaktiviteten (PCNAir) viser at mitotisk aktivitet starter rundt dag 2 etter befruktning. Ved klekking skjer mitosen mest i spesifikke hjerneområder, i delingssoner som finnes rundt ventriklene og i lillehjernen. Deler av disse vekstsonene finnes hos fisk livet ut.

De første nerveceller (ATir) dannes i sentrale hjernen hos sild og i luktsystemet (luktbulb) hos torsk. En høy aktivitet av nervedannelse skjer utover tidspunkt for klekking og gjennom tidlige larvestadier. Et stort antall nerver fortsetter å dannes i spesifikke deler av de sentrale visuelle system, i pineal systemet og i det olfaktoriske system gjennom metamorfosen og inn i det juvenile stadiet.

Fig. 3. Viser sagittalt snitt av hjernen hos sild midtveis i eggstadiet. α -tubulin immunoreaktiviteten (AT) viser ny dannede nerveceller, med kjerne og projeksjoner. Hjernen er på dette stadiet under kraftig utvikling og har allerede differensierte nervebaner i de ulike hjerneavsnittene.

Hos sild og torsk er de første fenotypiske neurotransmitter cellene GABA, TH og serotonin, som dannes innen de første 30 døgngradene. Nye fenotypiske nerveceller dannes frem mot klekking, da hjernen inneholder de fleste GABA, TH og serotonin neurotransmitter nervecelle-gruppene som finnes i adulte stadier. Cellegrupper i syns-systemet (i pretektum, med projeksjoner til og fra optiske tektum), luktesystemet (i luktbluben) og viktige katekolaminerge nervebaner dannes tidlig (halvveis i embryostadiet) hos sild og rett før klekking hos torsk. Generelt er hjernen noe tidligere utviklet hos sild enn hos torsk, men ved klekking er hjernen vel utviklet i begge arter. Torsk viser embryonalt en større individuell variasjon i tid for differensiering. Det sentrale visuelle systemet utvikles videre og en får en økning av antall celler og dannelse av mer distinkte cellegrupper. Hos sild utvikles et spesialisert synssystem i hjernen, et ekstra optisk tektum (caudal tektum) under slutten av larvestadiet og/eller tidlig i det juvenile stadiet.

ii) Pineal organet - lysoppfattelse og endogene rytmer

Nevroner dannes i pineal organet allerede de første dagene etter befruktning (Fig. 1, 2, 4 og 5). Fotoreseptorceller produserer fotopigmentet opsin, og foto-transduksjonsmolekylene arrestin og α -transdusin allerede rundt dag 3 i sild og dag 8 i torsk. Dagen etter produserer nervecellene serotonin (for stadium til melatonin som er involvert i døgnrytmikk). En fortsatt nevronal tilvekst av serotonin produserende celler og fotoreseptor celler foregår under larve- og juvenil stadiene. Hos sild er pineal organet relativt stort i alle livsstadier. Hos torsk dannes et parapineal organ under larvestadiet som også finnes i adulte stadier Dette organet har høy produksjonen av serotonin.

Fig. 4. Viser pinealorganet hos sild ved 42 d°, med immunodeteksjon av ulike molekyler som er viktig for lysoppfattelse (opsin: OP og arrestin: SA) og nervevev (α -tubulin: AT).

Fig. 5. Viser pinealorganet hos torsk ved 54, 64 og 96 d°, med immunodeteksjon av ulike molekyler som er viktig for lysoppfattelse (opsin: OP, transducin: TD), og av serotonin (5HT: forstadium til melatonin).

iii) Lukteorgan - kjemoresepsjon

De første nervekomponentene (ATir) i embryo finnes i forstadium til lukteorganet (olfaktorisk placode, Fig. 1, 2 og 6). Et enkelt organisert lukteorgan, med sentrale nervebaner og integrasjonssenter (se over), utvikles embryonalt hos torsk og sild. Luktorganet hos sild utvikles tidligere enn hos torsk, men begge arter har utviklet cellulære og molekyllære komponenter ved klekking som indikerer at organet er funksjonelt ved klekking.

Fig. 6. Viser lukterosetten hos et sildeembryo halvveis gjennom eggstadiet. AT immunoreaktiviteten viser at sansecellene har startet å differensiere (kort pil) og at nervebaner dannes til hjernen (lang pil).

iv) Retina - synsdannelse

Dannelse av retina hos både torsk og sild skjer i hovedsak embryonalt (Fig 7, 8 og 9). Ved klekking er retina hos sild kraftig utviklet og en kan tydelig skille de ulike celledag og cellyper. Immunohistologiske undersøkelser viser fortsatt celledeling i hele retina (PCNA), men en kan tydelig se høyere aktivitet i de marginale vekstsonene. I det indre pleksiforme laget finnes en tydelig lagdeling noe som tyder på at ON- OFF-kanaler er dannet på dette stadiet. TH positive innerpleksiform celler er kraftig utviklet. Fotoreseptorcellene inneholder arrestin, noe som tyder på at de er funksjonelle. Tilsvarende studier av torsk viser at retina her er mindre utviklet ved klekking. Pigmentepitelet hos torsk ser ut til å utvikle melanin granula senere enn hos sild. Det kan virke som om torskeembryo har en rask pigmenteringsprosess etter at de andre celledagene i retina er differensiert. Om dette kan være en pelagiske tilpasning for å redusere larvenes synlighet og for å unngå visuelle predatorer er uklart.

Fig. 7. Viser utvikling av retina hos sild på ulike stadier. Ved 42 °d sees differensiering av ganglion celler (pil, AT-ir) i nærheten av synsnerven. Videre sprer differensieringen seg til andre cellelag og celletyper ut i mot fotoreseptorcellelaget. Frem mot klekking uttrykker de intraretinale nervecellene neurotransmittorer som serotonin (5HT) og tyrosin hydroxylase (TH, pil).

Fig. 8. Viser utviklingen av retina hos torsk. Vi finner et tilsvarende forløp som hos sild, men retina er ikke så avansert ved klekking. Bilde 1 og 2 viser immunoreaktivitet mot AT. Øverste bilde til høyre viser spesielle amakrinoceller (pil). Nederste bilde til høyre viser et transversalt snitt av hele larven som foruten retina (re) også viser dannelse av nervebaner i synsnerven (sn) til det sentrale visuelle systemene. I hjernen (H), finnes bl.a. i et tydelig differensiert optisk tektum (Ote).

v) Neuromast/ sidelinjesystemet - bevegelse i vannet

Både torsk og sild utvikler neuromaster embryonalt som har cellulære og molekulære komponenter ved klekking som tilsier at de er funksjonelle ved dette tidsrom. På dette stadiet er et fåtalls neuromaster på hoved og kropp koblet opp i mot "Mauthner systemet" som igangsetter en refleksmessig muskelrespons. Et mer avansert sidelinjesystem utvikles under larvestadiet. De første neuromastene hos torsk og sild er små sammenlignet med kveite hvor to velutviklede neuromaster er lokalisert i bakre del av hodet. Juvenile sild ser ut til å mangle

Figur 9. Viser sekvensen av noen av de nevro-morfologiske og nevro-kjemiske begivenhetene under dannelsen av det visuelle systemet (retina og sentrale visuelle områder i hjernen) hos silde- og torske-larver, sammenlignet med utvikling av motorisk respons på visuelle stimuli (optomotorisk atferd, kurver).

vi) Mitotisk aktivitet, og sult-grupper i sild

Under tidlig embryonal utvikling skjer en generelt høy celledelingsaktivitet (Fig. 1 og 2) i sansesystemet. I samband med den nevronele differensieringen reduseres den generelle celledelingen unntatt i spesifikke soner, vekstsoner, hvor celledelingen opprettholdes livet ut. Generelt er vekstsonene organisert i det samme mønstret både hos sild og torsk. Sammenligner en med andre organ ser det ut til at celledelingsaktiviteten i nervesystemet opprettholdes lengre, og dermed er prioritert i perioder med dårlig næringstilgang. Studier av sult-grupper viste at en fikk en reduksjon i celledelingsaktiviteten først nær sulddød. Dette vises også i retina hvor sult-gruppen hadde en markant mindre vekstsoner enn normalt voksende larver.

vii) Optomotorisk respons - synsutvikling-ernæring

Ved å sammenholde morfologisk differensiering av retina mot funksjonelle studier av syn får en et bedre bilde av synsutvikling i og med at en kan relatere morfologiske endringer av retina og det sentrale synssystem med funksjonell utvikling. Det er tydelige forskjeller i synsutvikling mellom sild og torsk noe som gjenspeiles både morfologisk og i optomotorisk respons. Sild responderer umiddelbart etter klekking, og oppnår maksimal synsoppløsning på under 0,5 ° 12 – 15 dager etter klekking (Fig. 9). Morfologiske studier av torsk viser at retina er mindre utviklet ved klekking, noe som også bekreftes med optomotoriske målinger hvor torskelarven ikke responderer før 6 dager etter klekking.

Oppsummering av resultater

- Generelt skjer den grunnleggende utvikling av hjernen samtidig med dannelsen av sansesystemene i den embryonale perioden, med en gradvis modning opptil 10 dager etter klekking som for eksempel i synssystemet. Sekvensen av undersøkte nevroanatomiske og nevrokjemiske forandringer er like i sild og torsk, dog med en viss forskjell i tidpunkt (timing), der silden har en relativt tidligere, og muligens mer synkronisert, utvikling. Allerede 2-3 dager etter befruktning starter celle delingsfasen, generelt utbrett i hjerne og sanseorgan. Celledelingen er direkte fulgt av differensiering til nevroner, innen 1-2 dager og de første distinkte cellegruppene, bestående av mellom 2-20 nerveceller, oppviser fenotypisk karakter (f.eks. uttrykk av nevrottransmittorer) innen 1 dag. Den mest aktive celledelingen blir etablert i spesifikke regioner i hjerne og retina, ved dag 5-7, hvorfra den hovedsaklige fortsatte celledannelsen skjer (av nerve og andre celler). Disse spesifikke soner beholdes livet ut (proliferasjonssoner). De første fenotypiske nervecellegruppene dannes i sentrale deler av hjernen, i luktesystem og i pineal organet. Gradvis dannes fenotypiske nerveceller i retina og i flere ulike kjerneområder i hjernen. Retina, neuromaster og lukteorganet, og de ulike integrasjonssentra for de sensoriske organene differensieres under de seneste embryonalperiodene, og viser en funksjonell kapasitet ved klekking både hos sild og torsk. Korrelasjoner med optomotorisk atferd viser at en gradvis modning skjer de følgende 3-6 dager for å oppnå optimal funksjon. Dette skyldes trolig en omgivelsesstimulert seleksjon av anlagte nervenett (inkludert bl.a. celledød (apoptosis) og tap og nyformasjon av synaptiske kontakter). En fortsatt tilvekst av nervenettet skjer i ulik grad i de ulike sansesystem under larvestadiene og senere stadier.
- Ved klekking er spesifikke vekstsoner dannet og mange av de sentrale transmittersystemene er allerede utviklet. Etter startføring vokser hjernen kraftig og blir mer kompleks. Kjerneområdene blir mer stringent og nervenettet danner et mer komplekst mønster. Sentrale olfaktoriske, pineal og synssystemer utvikles med et økende antall celler og projeksjoner utover i det juvenile stadiet. Så langt finner vi få markante forskjeller mellom torsk og sild under den embryonale utviklingen, noe som antagelig beror på en tilsvarende sekvens av sanseorganenes utvikling.
- Den dramatiske embryonale utviklingen som finner sted både hos torsk og sild, gir den konklusjon at embryostadiet er det mest "kritiske", fulgt av en viktig interaksjonsfase med omgivelsene for utvikling av optimale system. Denne stadige vekst og reorganisering av nervesystemet medfører at selv mindre dramatiske endringer i senere stadier kan være kritiske for artens tilpasningsevne til nye omgivelser. De mest dramatiske forandringene av det basale nervesystem skjer sannsynligvis bare et par dager før markerte fysiologiske forandringer i livsstadier som f.eks. klekking og første fødeopptak, og dette vil dermed være de mest kritiske periodene.
- Sult forsøk med studier av celledelingsaktivitet viser at nervesystemets utviklingsprosesser og funksjon er prioritert for ernæringsopptak, sammenlignet med andre organ
- Både torsk og sild gjennomgår fortsatt dramatiske endringer i livsutfoldelse gjennom ulike utviklingsstadier (f.eks. metamorfose og stimdannelse hos sild), hvilket indikeres av forutgående reorganisering av spesifikke deler av nervenettet, inkludert nydannelse av celler, differensiering av nye nerveceller, nye synaptiske kontakter, og celle død (apoptosis).
- Både sild og torsk har før klekking en funksjonell lysoppfattelse via pinealorganet. Ved klekking, er både sansesystem for lys/syn-oppfattelse og trolig også for lukt og følelse av vannbevegelse tilstede. Sansesystemene viser ulik grad av differensiering og kompleksitet. Synsoppfattelsen ser ut til å være mest avansert, etterfulgt av luktesystemet. Lysoppfattelse hos pineal organer virker å representere det første funksjonelle sanseorganet.

- Lysoppfattelse finner sted via pineal organet i begge arter (også kveite), hvilket også indikerer en stor betydning av biologiske rytme allerede tidlig embryonalt. Torsken har i tillegg et vel utviklet parapineal organ, som kan indikere en høy produksjon av melatonin (fra serotonin). En eventuell rytme kan være av stor betydning for videre ”timing” av ulike biologiske prosesser, som metamorfose, reproduksjon vandring og lignende. Våre siste resultater fra sild, og andres fra andre arter, indikerer at pinealens lysoppfattelse er i den blå delen av lysspekteret. Hos kveite er det vist at lys påvirker tidspunktet for klekking og at pineal organet kan spille en rolle i denne prosessen. Videre studier av pineal organets rolle i tidlig og i senere biologiske prosesser vil øke forståelsen for dette organets viktighet og betydning for interaksjonene og tilpasningene til omgivelsene.
- Nevromorfologisk og nevrokjemisk er retina hos sild og torsk funksjonelt ferdig utviklet med sentrale nervebaner til hjernen ved klekking. Nye celler dannes i spesielle soner hvor videre vekst og differensiering gjør det visuelle systemet stadig mer komplekst utover i larvestadiet. Selv om både torsk og sild har synsevne kort tid etter klekking (ca dag 1 hos sild og dag 4-6 hos torsk) viser både våre nevrologiske og atferdsmessige studier at det visuelle systemet forbedres kraftig de første 7-10 dagene etter den første visuelle responsen. Dette viser at de retinale og sentralnervøse koblinger og integreringen av nervesignaler i hjernen utvikles i denne perioden, antagelig som en følge av interaksjoner med omgivelsen som er en forutsetning for at synaptiske kontakter mellom celler skal dannes. Et prematurt visuelt system som kan respondere på store objekter som predatorer kan ha betydning for larvenes evne til overlevelse, men det er først når det visuelle systemet blir mer avansert og med høyere oppløsningsevne at det er effektivt for larven til å finne og fange byttedyr.
- Sildens synsdannelse og sentralnervøse evne til motorisk å respondere på objekter (vertikale streker) i bevegelse forekommer tidligere enn hos torsk. Begge arter har en optimal visuell respons rundt 10 dager etter klekking, noe som indikerer en markant vekst og differensiering av det visuelle systemet utover i larvestadiet. Fortsatte studier av sildens spesialiserte synssystem i hjerne og retina vil vise sammenhengen mellom denne tilpasningen og sildens atferd. Data fra sidelinjesystemets utvikling vil bli relatert til synssystemets utvikling som igjen vil bli korrelert med atferdsutvikling som stimdannelse.
- Tidligere har vi oppdaget øyebevegelse hos torsk to dager etter klekking. En manglende optomotorisk svømme respons hos torsk (før dag 6) kan derfor tyde på at larven mangler evnen til å detektere og følge objekter (streker) i bevegelse. Sammenholder vi dette med forskjellen i søkestrategi mellom sild og torsk, er det verdt å merke seg at sild oppdager bytte mens den svømmer, mens torsk beveger seg stegvis og stopper for å se eventuelle byttedyr. Totalt sett ser det ut som sild har et mer komplett utviklet visuelt system etter klekking enn torsk. Dette stemmer bra med observasjoner om at sild starter første fødeopptak tidligere enn torsk. Interaksjonene med omgivelsene er kritisk for utvikling av nervecellenes synaptiske kontakter. Denne gradvis forbedring av synsevne beror på dannelse av stadig nye synaptiske kontakter i det sentrale visuelle systemet og i integrasjonssentra.
- Atferdsmessige studier av synsevnen til sult-grupper av torsk og sild viser at fødeinntaket har betydning for utvikling av de visuelle systemet. Sult-gruppen ser ikke ut til å klare å utvikle et øye med tilsvarende oppløsningsevne som den fôrede gruppen. Etterhvert som den sultede larven blir eldre reduseres evne til optomotorisk respons noe som kan tyde på redusert synsevne og overskuddsenergi til svømming. Dette tyder på at fôrede larver har en bedre synsevne allerede tidlig i utviklingen og er dermed i stand til å se byttedyr på lengre avstand. Studier av synsutvikling av sult grupper av torsk viser et tilsvarende bilde som hos sild, men hos torsk fant vi at et stort antall av larvene ikke responderte i motsetning til hos sild hvor responsen var tilnærmet 100 %. I fôringsforsøkene ser en også et tilsvarende bilde hvor det er stor dødelighet blant torskegruppen, mens 80-95% av sildelarvene overlevde i perioder med foring i overskudd.

- Komparative studier på kveite viser at utviklingen hos en art med en annen livsstrategi med et stort egg og en lang plommesekkfase (over 35 dager) har et noe forskjellig mønster i sansesystemets utvikling. Hos kveite utvikles ikke synsevne før 25 dager etter klekking, mens dannelse av mekanoreseptorer, luktsystem og lysregistrering via pineal organet prioriteres på det embryonale stadiet.
- Lukteorgan dannes tidlig embryonalt, og har en kontinuerlig tilvekst under larvale og juvenile stadier. Et tidlig funksjonelt luktsystem indikerer betydningen av å kunne sanse kjemiske substanser for tidlig stimulering og interaksjon med omgivelsene. Som det er indikert i andre arter kan denne tidlige utviklingen av luktsystemet være viktig for den grunnleggende differensieringen av hjernen. Den tidlige embryonale anleggelsen av nerver i det olfaktoriske systemet kan være relatert til deres tidligere dokumenterte rolle under utviklingen. Elektrofysiologiske studier og atferdsstudier vil i fortsettelsen gi mer informasjon om funksjon og betydning av lukteevne i larvestadiet og av mekanoreseptasjon i det delvis utviklede sidelinjesystemet.

Konklusjon

Prosjektet har gjort den første kartlegging av cellulære og molekylære komponenter involvert i utviklingen og funksjon av komplette sansesystem hos torsk og sild. Som hovedstrategi har prosjektet benyttet kombinasjonen av nevrobiologiske, nevroanatomiske/kjemiske, metoder på et unikt biologisk materiale (embryo og larver) oppdrettet under kontrollerte betingelser, med komparative studier av ulike arter i relasjon til fylogeni og økologi. Studier av en slik karakter er ikke tidligere gjort på marine, eller andre, fiskearter.

I både sild og torsk skjer den basale sentral nevronale utviklingen hovedsaklig under det embryonale stadiet, og den embryonale utviklingen av funksjonelt sansesystem er direkte avgjørende for larvens overlevelse. I de fleste nervesystem relatert til sanseorgan skjer en videreutvikling (modning) og evne til forandring (plastisitet) gjennom seleksjon ("parcellation processes"), sannsynligvis bare dager før de fysiologiske forandringene, de kritiske perioder. De første fenotypiske nervecellegruppene dannes i sentrale deler av hjernen, i luktesystem og i pineal organet. En gradvis modning av sansesystemene skjer opp til 6-10 dager etter klekking for å oppnå optimal funksjon, innbefatter trolig en omgivelsesstimulert seleksjon av anlagte nervernett. Videre forandringer i nervernettet skjer i ulik grad i de ulike sansesystem under larvestadiene og senere livsstadier. Mer detaljerte studier må vise graden av virkelig "tilvekst" i forhold til erstatning og fortsatt seleksjon, spesielt relatert til forandring i livsstrategi. Interaksjoner med omgivelsene i perioder med tilvekst og plastisitet under de embryonale og tidlige larvestadiene spiller trolig en avgjørende rolle for optimal utvikling, og videre liv.

Pineal organet er i begge arter det tidligst utviklede sansesystem, og indikerer lysoppfattelse allerede halveis gjennom embryonalutviklingen. Dette støtter våre teorier om en tidlig form for lysinfluerte biologiske prosesser, både direkte lyspåvirkede prosesser og via lysperiode influert biorytmikk.

Retina dannelse hos sild starter tidligere enn hos torsk og har ved klekking en anatomi tilsvarende en funksjonell retina. Den nevro morfologiske og nevrokjemiske utvikling av det visuelle systemet skjer i samme sekvens men med interspesifikke timing, dvs sild responderer på synsstimuli rett etter klekking og har tidligere optimal respons, mens torsk oppviser optomotorisk atferd først flere dager etter klekking og en seinere optimal respons.

Nevroanatomiske/kjemiske resultater angående luktesystem og mekanoreseptor system (sidelinjesystem) indikerer funksjon i tidlige stadier, muligens embryonalt, men må kompletteres med fysiologiske og atferdsmessige studier for å verifisere evne til lukt og oppfattelse av bevegelse.

Den grunnleggende dannelsen av nervesystem avhenger av optimal endogen ernæring, hvilket embryonalt er avhengig av morfiskens evne til å produsere plommemasse av god kvalitet. Både sild og torsk er indikert til tidlig å nytte flere sensoriske system i tiden fra klekking med optimal modning i 5-10 dager gamle larver. Systemene gir informasjon både om visuelle forhold, lukt og vannbevegelse, det å finne byttedyr og vokse videre på ekstern ernæring, samt å unngå predatorer. Resultater fra sult forsøk viser at nervesystemets utviklingsprosesser og funksjon er prioritert for ernæringsopptak, framfor andre organ.

Fortsatte studier av nevronal reorganisering relatert til fysiologiske og atferdsmessige målinger vil gi ytterligere informasjon om mekanismene bak de kritiske overgangene til nye livsstadier og omgivelsesbetingelser, og hvilken funksjonell rolle de sensoriske system har i ulike arter som torsk og sild.

Videre arbeid

Delprosjekt D er blitt gjennomført i henhold til skissert plan. Dette delprogram har bygget opp kompetanse og data på utviklingen av sild og torsk fra befruktning til gjennomført metamorfose. I disse dataene finnes informasjon om de viktigste komponentene i dannelsen av et funksjonelle sanseorgan og hjerne. Vi er nå i gang med å detalj analysere dette materialet og omsette det til vitenskapelige publikasjoner. Sammenstilling av resultat og videreføring av problemstillinger gjøres nå gjennom to pågående NFR prosjekter: 1) "Neurobiologiske utviklingsstudier av sentralnervesystemet og sanseorgans dannelse hos marin fisk" (Holmqvist prosjektleder) som vil fokusere på tidlig differensiering og organisering av sentralnervesystemet hos marin fisk på et cellulært og molekylært nivå. 2) "Utvikling av fargesyn hos kveite" (Helvik prosjektleder) som vil fokusere differensiering av fotoreseptorcelle med spesiell vekt på cellulær uttrykking av fotopigmentet opsin. Videre utviklingsstudier av neuromastene hos sild gjennom larvestadiet og metamorfose er i gang med prof. Northcutt, UCSD.

Referanser

Brandstätter, R & K. Kotrschal 1989. Life history of roach, *Rutilus rutilus* (Cyprinidae, Teleostei) A qualitative and quantitative study on the development of sensory brains areas. — *Brain, Behaviour and Evolution* 34: 35-42

Browman, H.I. 1989. Embryology, ethology and ecology of ontogenetic critical periods in fish. — *Brain, Behaviour and Evolution* 34: 5-12.

Kawamura, G. & N. Washiyama 1989 Ontogenetic changes in behavior and sense organ morphogenesis in largemouth bass and *Tilapia nilotica*. — *Transactions of the American Fishery Society* 118: 203-213.

Mourente, G. & D.R. Tocher 1992. Effects of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6n-3) levels in brain of developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.). — *Aquaculture* 105: 363-377.

Neuringer, M., W.E. Connor, D.S. Lin, L. Barstad, L. & S. Luck 1986. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal n-3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. — *Proceedings of the National Academy of Science of USA* 83: 4021-4025.

Noakes, D.L.G. & J.G.J. Godin 1988. Ontogeny of behavior and concurrent developmental changes in sensory systems in teleost fishes. — *Fish Physiology* vol XIB: 345-395.

Sargent, J., R.S. Batty, M.V. Bell, K. Fretwell & J.C. Navarro 1994. Docosahexaenoic acid. 22:6 (n-3) and development of the retina in marine fish larvae. — Abstract 3rd International Marine Biotechnology Conference 1994.

Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexanoic acid in marine larval fish. — *Journal of the World Aquaculture Society* 24(2):152-161.

Presentasjon av resultater

Vitenskapelig arbeid i bøker/tidskrift med referee:

Forsell, J., B.I. Holmqvist, J.V. Helvik & P. Ekström 1997. Role of the pineal in the photoregulated hatching of the Atlantic halibut. — *International Journal of Developmental Biology* 41:591-595

Poster

Holmqvist B.I., J. Forsell. & J.V. Helvik 1996. Patterns of embryonic development of the brain and sensory organs studied in three marine teleost species. *Soc. Neuroscience. Abstracts* Vol. 22, 395.9.

Holmqvist B.I., J. Forsell & J.V. Helvik 1997. Comparative studies of the embryonic development of the teleost brain. *Neuroscience day*. Lund, Sweden. A17, P39.

Forsell J., B.I. Holmqvist, J.V. Helvik, B.-O. Sætre, S. Blackshaw, Y. Grad., E. Hallberg & P. Ekström 1997. Comparative studies of sensory organs during embryonic development of teleosts. *Neuroscience day*. Lund, Sweden. A9, P69.

Johnsson C.-M., J. Forsell, P. Ekström & B.I. Holmqvist 1997. Distribution of proliferating cells in the brain of adult teleosts. *Soc. Neuroscience. Abstracts*. 1.120

Helvik, J.V., A.C. Utne, E.K. Stenevik, J. Forsell, C.-M. Johnsson, P. Ekström, & B.I. Holmqvist 1997. The development of retina in three marine teleosts species: Analyses by means of immunocytochemical techniques and optomotoric behaviour. *NATO Advanced course, Crete 18 - 28 June*.

Muntlige presentasjoner

Holmqvist, B.I. 1997. Seminar ved Fiskerihøgskolen Universitet i Tromsø “Is fish born with a high IQ?: Formation of sensory system neural networks during development and neural plasticity in teleosts”.

Helvik, J.V. 1997. Seminar ved Institutt for fiskeri og marinbiologi, Universitetet i Bergen. “Development of vision, a morphological and behaviour approach”.

Helvik, J.V. 1997. Seminar ved Molekylærbiologisk Institutt, Universitetet i Bergen. “Development of vision in three marine teleost fishes”.

Helvik, J.V. 1997. Seminar ved Havforskningsinstituttet. “Utvikling av syn i tre marine

(fra pågående analyser og sammenstillinger)

Holmqvist, B.I, J. Forsell & J.V. Helvik. Development and neural differentiation of the central nervous system in the Atlantic herring (*Clupea harengus*).

Holmqvist, B.I, J. Forsell & J.V. Helvik. Development and neural differentiation of the central nervous system in the Atlantic cod (*Gadus morhua*).

Forsell, J., B.I. Holmqvist, J.V. Helvik & P. Ekström. Embryonic development and photoreceptor differentiation of the pineal organ in Atlantic herring and cod.

Johnsson, C.-M., J. Forsell, P. Ekström & B.I. Holmqvist. Distribution of proliferating cells in the brain of adult teleosts.

Fiksen, Ø., A.C.W. Utne, D.L. Aksnes, K. Eiane, J.V. Helvik and S. Sundby. (submitted). Modelling the influence of light, turbulence and development on foraging in larval cod and herring. Sendt til Fisheries Oceanography

Helvik, J.V., A.C. Utne, J. Forsell & B.I. Holmqvist. The development of retina and optomotoric behaviour in Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic herring. (*Clupea harengus*)

Helvik, J.V., J. Forsell & B.I. Holmqvist. Organogenesis of sensory systems in Atlantic herring (*Clupea harengus*) and cod (*Gadus morhua*): morphology and neural differentiation.