

## **Abschlußbericht des Forschungsvorhabens 03PL025A**

**Verbundprojekt: SO-GLOBEC -Saisonale Ernährungsstrategien  
antarktischer Krebse-**

**Teilprojekt 1: Nahrungsaufnahme und Nahrungsverwertung**

**Teilprojekt 2: Nahrungsquellen und Stoffumsatz**

**Teilprojekt 3: Energetische und ernährungsphysiologische  
Anpassungen**

# Schlussbericht des Forschungsvorhaben 03PL025A/1 (Saisonale Ernährungsstrategien antarktischer Krebse)

## Teilprojekt 1: Nahrungsaufnahme und Nahrungsverwertung

Vorgelegt von Dr. Bettina Meyer und Prof. Dr. Ulrich Bathmann

### Aufgabenstellung:

Das Projekt hatte das Ziel, die Ernährungs- und Lebenssituation des antarktischen Krill, *Euphausia superba*, beim Übergang zum Winter zu erfassen, wobei folgende Fragestellungen im Vordergrund standen:

- In welchem physiologischen Zustand befinden sich Larvenstadien sowie adulte *E. superba* beim Übergang zum Winter?
- Was und wie viel wird im antarktischen Herbst von den vorhandenen Larvenstadien sowie adulten Tieren an Nahrung aufgenommen?

Der Krill nimmt im antarktischen Ökosystem eine Schlüsselstellung ein, da er die Nahrungsgrundlage für eine Vielzahl von Warmblütern wie Wale, Robben, Pinguine und Seevögel bildet. Die Überwinterungsstrategie der Larvenstadien und der adulten Tiere ist bis heute umstritten und die Berechnung eines Jahres-Energiebudgets für *E. superba* ist bisher nicht möglich, da keine ausreichenden Datensätze aus den Herbst- und Wintermonaten vorliegen (Daly 1990, Knox 1994). Diese Daten sind aber zur Erstellung populationsdynamischer Modelle und zur Abschätzung des Krillbestandes und damit zur Entwicklung von Strategien zur nachhaltigen Bewirtschaftung von essentieller Bedeutung (Loeb et al. 1997). In diesem Zusammenhang stellt sich als zentrale Frage wie der Krill die Monate im Jahr überdauert, in denen die Primärproduktion gering ist und ein Großteil des antarktischen Ozeans mit Eis bedeckt ist? Forschungsprogramme zur Beantwortung dieser Thematik bilden innerhalb des "Southern Ocean GLOBEC" Programms sogenannte "Key actions" (GLOBEC Report No 7A). Zu den Überwinterungsstrategien des Krill zählen karnivore Ernährung, Fraß von Eisalgen, Reduktion der Körpergröße, Reduktion des Metabolismus, Nutzung von Lipidreserven, wobei jedoch immer nur von einem, bzw. wenigen Mechanismen gleichzeitig berichtet wurde. Was die spezifischen Überwinterungsmechanismen bestimmt, ist bisher nicht bekannt.

In den bisherigen Untersuchungen zur Bioenergetik von *E. superba* wurden nur jeweils einzelne Aspekte wie z. B. Futteraufnahme, Respiration oder Wachstumsraten bestimmt (Quetin und Ross 1991, Quetin, Ross und Clarke 1994). Studien, die alle Aspekte gleichzeitig berücksichtigen, fehlten bisher. Die bestehenden Datensätze beruhen in erster Linie auf

Untersuchungen mit adulten Krill während der Frühjahrs- und Sommermonate, in denen ausreichend Nahrung vorhanden ist. Nur vereinzelt existieren Daten zur Bioenergetik von ausgewachsenem Krill aus Monaten geringer Nahrungsverfügbarkeit (Kawagushi et al. 1986, Huntley et al. 1994, Torres et al. 1994, Hagen et al. 2001, Atkinson et al. 2002, Meyer et al. 2002a) und noch weniger Informationen gibt es über die Larvenstadien (Daly 1990, Frazer 1996, Frazer et al. 1997, Hagen et al. 2001, Meyer et al. 2002).

Die Untersuchungen zur Umsetzung der Vorhabenziele wurden während zweier Antarktisexpeditionen mit dem Forschungsschiff (FS) POLARSTERN im antarktischen Herbst durchgeführt. Das 1. Untersuchungsgebiet war die südwestliche Lazarevsee (ANT XVI/3: 14-20 April 1999), das 2. Untersuchungsgebiet die Bellingshausensee (ANT XVIII/5b 13. April-7. Mai 2002). Beide Expeditionen fanden im Rahmen des IGBP Kern-Projektes „Southern Ocean Global Ocean Dynamics“ (SO-GLOBEC) statt. Weitere Untersuchungen wurden auf der britischen Antarktisstation ROTHERA im antarktischen Sommer (Januar bis April 2000) durchgeführt.

Das gesamte Vorhaben erfolgte in enger Zusammenarbeit mit Dr. Angus Atkinson vom British Antarctic Survey als Kooperationspartner ausserhalb des Verbundes. Weiterhin erfolgte im Rahmen der Enzymanalytik eine enge Zusammenarbeit mit Dr. Reinhard Saborowski und Prof. Dr. Friedrich Buchholz (AWI, Kooperationspartner ausserhalb des Verbundes).

## **Ergebnisse**

Mit Hilfe des Vorhabens konnten wichtige Bausteine zur möglichen Überwinterungsstrategie des Krills geliefert werden, welches eine zentrale Fragestellung innerhalb des SO-GLOBEC Programms darstellt. Die von uns durchgeführten Untersuchungen, speziell die schiffsgebundenen Expeditionen fanden im Rahmen des SO-GLOBEC Programms statt. Die in diesem Vorhaben erhobenen Daten werden in soweit verwertet, dass sie in die Datenbank des SO-GLOBEC Programms einfließen. Mit den sich daraus ergebenden Erkenntnissen ist es angestrebt das bestehende Monitoring -Programm, welches im Rahmen von CCAMELAR durchgeführt wird, neu zu überdenken und auszuführen. Es wird angestrebt Managementpläne zur nachhaltigen Bewirtschaftung des antarktischen Krill, unter Berücksichtigung der Krillkonsumenten wie Wale, Robben, Pinguine, zu entwickeln.

Im Folgenden werden die Ergebnisse, die sich aus den einzelnen Expeditionen sowie den Stationsaufenthalt ergaben zusammengefasst und die erfolgten und geplanten Veröffentlichungen aufgeführt.

## 1. Expedition in die südwestliche Lazarevsee (ANT XVI/3: 14-20 April 1999)

### *Adulter Krill*

Die von Quetin und Ross 1991 aufgestellte Annahme, dass adulter Krill in den Wintermonaten seinen Metabolismus reduziert, konnte durch unsere Untersuchungen im antarktischen Herbst 1999 bestätigt werden (Atkinson et al. 2002). Im Vergleich zu Literaturwerten aus den Sommermonaten (Segawa et al. 1982, Ikeda and Mitchell 1982, Ikeda and Bruce 1986, Ishii et al. 1987) zeigte adulter Krill im Herbst um 30% geringere metabolische Raten. Weiterhin zeigten die im Herbst gemessenen Ingestionsraten, gegenüber Sommerdaten (Atkinson and Snýder 1999), um 50% reduzierte Werte. Auch nach einer 1 wöchigen Adaptationsphase waren die Tiere nicht in der Lage Phytoplanktonkonzentrationen wie sie im Sommer vorherrschen zu nutzen. Die auf Polarstern durchgeführten Fressexperimente, erfolgten in gleicher Art und Weise wie sie von Atkinson and Snýder (2000) im Sommer durchgeführt wurden. Somit war ein direkter Vergleich der Ergebnisse gewährleistet. Es zeigte sich aber in den Freßexperimenten im Herbst eine erhöhte Karnivorie im Vergleich zu Sommeruntersuchungen. Das in Atkinson et al. (2002) aufgestellte Energiebudget zeigt, dass adulter Krill in der Lage ist, mit seinem Lipid- und Proteingehalt über 200 Tage und somit den gesamten Winter ohne Nahrungsaufnahme zu überstehen. Unterstützt werden diese Ergebnisse durch Aktivitätsmessungen der Citratsynthase, ein Schlüsselenzym des Metabolismus, dessen Aktivität im Herbstkrill eine signifikante Reduktion gegenüber dem Sommerkrill zeigte (Meyer et al. 2002a). Es ist bisher völlig unklar was diese metabolische Reduktion auslöst. Zum einen kann dies durch das in dieser Jahreszeit geringe Nahrungsangebot ( $< 0.1 \mu\text{g Chl}a \text{ L}^{-1}$ ) verursacht werden, sogenannte Hungerbedingungen. Die Reduktion des Metabolismus während Hungerphasen, ist innerhalb der Crustaceen weit verbreitet, jedoch wären die Tiere dann in der Lage hohe Futterkonzentrationen, nach einer kurzen Adaptationsphase, zu nutzen, was sich in unseren Untersuchungen aber nicht bestätigte. Eine Hypothese, die sich aus diesen Ergebnissen ableiten wäre, dass die Photoperiode im antarktischen Jahresverlauf als Zeitgeber dient um interne physiologische Prozesse zu initiieren. In Vertebraten sowie Invertebraten, die in gemäßigten Klimazonen leben, wurde gezeigt, dass die Photoperiode die Sekretion des Hormons Melatonin beeinflusst, welches physiologische Prozesse wie Reproduktion oder Diapause etc. auslöst (Vivien-Reols et al. 1984, Vivien-Reols und Pevet 1986). An *E. superba* wurden photoperiodische Untersuchungen bisher noch nicht durchgeführt. Sie können aber in

Zukunft einen entscheidenden Schlüssel zum Überwinterungsverhalten des adulten Krills darstellen.

#### *Die Larvenstadien*

Aufgrund der fortlaufenden Entwicklung der Krilllarven während der Wintermonate (Daly 1990) und der geringen Lipidreserven (Hagen et al. 2001) wird vermutet, dass die Larven stetig Nahrung aufnehmen müssen.

Unsere Untersuchungen im antarktischen Herbst haben gezeigt, dass die metabolischen Raten der Larven vergleichbar sind mit Raten, die in den Sommermonaten gemessen wurden (Meyer et al. 2002, 2003). Die Aktivität der Citratsynthase zeigte bei vergleichbaren Larvenstadien aus dem Sommer – und den Herbstmonaten keine signifikanten Unterschiede (Meyer et al. 2002a). Im Gegensatz zum adulten Krill waren die Larvenstadien aus dem antarktischen Herbst in der Lage hohe Phytoplanktonkonzentrationen sofort zu nutzen. Unsere Untersuchungen zum Fressverhalten der Larven haben ebenfalls gezeigt, dass sie adulte Copepoden > 500µm nicht als Nahrungsquelle verwenden. Die Lipidreserven waren mit 16% der Trockenmasse gegenüber 58 % der Trockenmasse bei adultem Krill gering. Aus diesen Ergebnissen ergab sich die Frage in wieweit die Larvenstadien in der Lage sind lange Hungerperioden zu überstehen (siehe 2. Expedition).

#### **Aus den erhobenen Daten dieser Expedition ergaben sich folgende Veröffentlichungen:**

- Atkinson A, Meyer B, Bathmann U, Stübing D, Hagen W, Schmidt K (2002) Feeding and energy budget of Antarctic krill *Euphausia superba* at the onset of winter. II. Juveniles and adults. *Limnol Oceanogr* 47: 953-966
- Meyer B, Atkinson A, Stübing D, Oettl B, Hagen W, Bathmann U (2002) Feeding and energy budget of Antarctic krill *Euphausia superba* at the onset of winter. I. Furcilia III larvae. *Limnol Oceanogr* 47: 943-952
- Meyer B, Saborowski R, Atkinson A, Buchholz F, Bathmann U (2002a) Seasonal differences in citrate synthase and digestive enzyme activity in larval and postlarval Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Mar Biol* 141: 855-862

#### **Stationsaufenthalt: Antarktisstation *Rothera* des British Antarctic Survey auf Adelaide Island, westliche Peninsula (Januar – April 2000)**

Die Untersuchungen im antarktischen Spätsommer, die sich mit der physiologischen Kondition von Krilllarven sowie adulten Tieren aber speziell mit dem Fressverhalten und Wachstum der Larvenstadien befassten sollten als Vergleichswerte für die Untersuchungen im antarktischen Herbst dienen, da sie mit den gleichen methodischen Ansätzen durchgeführt

wurden (siehe Meyer et al. 2002a, Atkinson et al. 2002). Im Vergleich zum antarktischen Herbst in der Lazarevsee, wo wir sehr geringe Chlorophyll a (Chl a)–Konzentration von  $< 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  gemessen haben, lagen die Werte im Untersuchungsgebiet vor Rothera (Marguerite Bay) zwischen 5 und  $25 \mu\text{g Chl a L}^{-1}$ .

Die adulten Tiere zeigten um das doppelte höhere Sauerstoffverbrauchsrate als die Tiere unserer 1. Herbstexpedition und auch die Aktivität des metabolischen Enzyms Citratsynthase war im Sommer signifikant erhöht gegenüber den Aktivitätsmessungen aus dem Herbst. Im Gegensatz dazu zeigten die Larvenstadien keine signifikanten Unterschiede in ihren metabolischen Raten sowie in den Enzymaktivitäten (Meyer et al. 2002a).

Die im Untersuchungsgebiet dominanten Larvenstadien waren, Calyptopis III (CIII), Furcilia I und II (FI, FII). Die Messungen des Sauerstoffverbrauchs, der Fressraten sowie der Assimilationseffizienz der einzelnen Stadien ergab, dass diese sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. Ein Vergleich der Fressraten aus dieser Studie mit denen aus der Lazarevsee ergab, dass die Larven ihre maximale Aufnahme bei einer Nahrungskonzentration von  $150 \mu\text{g C L}^{-1}$  erreicht haben. Die Larvenstadien CIII und FI zeigten in den Fressexperimenten eine Präferenz für spezifische Beuteorganismen in einem weit gefächerten Größenspektrum (8-80 $\mu\text{m}$ ). Im Gegensatz dazu konnte für das Stadium FII kein selektives Fressverhalten ermittelt werden, was im Einklang steht zu den Herbstuntersuchungen mit FIII Larven in der Lazarevsee. Die Unterschiede im Fressverhalten zwischen jüngeren und älteren Larvalstadien ist in deren Morphologie begründet. Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben gezeigt, dass die Larven bis zum Stadium FI keinen Filterkorb besitzen. Dieser wird erst in dem Stadium FII ausgebildet. Die Folge ist das die jüngeren Stadien aktiv ihre Beute aufnehmen müssen hingegen bei den älteren Stadien der Filterkorb die Nahrungsaufnahme diktiert. Eine detaillierte Beschreibung der auf der Antarktisstation Rothera ermittelten Ergebnisse ist in Meyer et al. (2003) zu finden.

**Aus den erhobenen Daten dieser Expedition ergaben sich folgende Veröffentlichungen:**

- Meyer B, Saborowski R, Atkinson A, Buchholz F, Bathmann U (2002a) Seasonal differences in citrate synthase and digestive enzyme activity in larval and postlarval Antarctic krill, *Euphausia superba*. Mar Biol (im Druck)
- Blume B (2000) Wachstum und Energieumsatz der Larvenstadien des Antarktischen Krill-*Euphausia superba* Dana – im antarktischen Spätsommer. Diplomarbeit am Fachbereich Biologie der Universität Hamburg. 76 Seiten
- Meyer B, Atkinson A, Blume B, Bathmann U (2003). Feeding and energy budgets of larval Antarctic krill *Euphausia superba* in summer. Mar Ecol Prog Ser 257: 167-177

## **2. Expedition in die Bellingshausensee (ANT XVIII/5b: 13. April bis 7. Mai 2002)**

Auf dieser Expedition sollte aufgrund der vorrangigen Ergebnisse (siehe Exp. 1) der Schwerpunkt auf Experimentelle Arbeiten, zur Hungertoleranz von Krill gelegt werden. Im Untersuchungsgebiet hatten wir eine extrem hohe Dichte an Krilllarven vorgefunden (bis zu 26000 Larven m<sup>-2</sup>) und adulter Krill war kaum vorhanden, so dass sich die ökophysiologische Untersuchungen zur Hungertoleranz von Krill ausschließlich auf die Larven konzentrierten. Aufgrund der auf der 1. Expedition ermittelten Daten zur metabolischen Aktivität, Lipidreserven, Fressaktivität konnten ein Energiebudget erstellt werden, welches ergab dass FIII Larven nicht in der Lage sind länger als 3 Wochen ohne Futter zu überleben (Meyer et al. 2002). Aufgrund dieses Ergebnisses stellte sich die Frage ob die Larven in Hungerphasen über physiologische Adaptationsmechanismen verfügen wie es von anderen pelagischen Crustaceen bekannt ist z. B Reduktion des Metabolismus um Energie zu sparen. Um diese Frage zu klären wurden in einer Langzeithälterung zwei experimentelle Ansätze (1. Futter und 2. Hunger)durchgeführt.

Als Hälterungsmedium wurde im Futteransatz mit Phytoplankton angereichertes Seewasser, im Hungeransatz mit 0.2 µm filtriertes Seewasser verwendet. Alle drei Tage wurden den Experimentansätzen Unterproben entnommen um Wachstumsparameter (Länge, Trockengewicht, Entwicklungsdauer), Elementarzusammensetzung, biochemische Zusammensetzung, metabolische Raten (Respiration und Exkretion) und das RNA/DNA Verhältnis zu messen (vgl. Schema).

Die in der Bellingshausen See untersuchten Larvenstadien FIII, FIV und FV zeigen vergleichbare bis etwas niedrigere Körperlängen wie während der Sommermonate gemessene Larven der Scotia See, nahe den South Orkneys, in der Bransfield Straße und der Drake Passage (FRASER 1936, BRINTON & TOWNSEND 1984, BRINTON et al. 1986, HUNTLEY & BRINTON 1991).

Im Gegensatz dazu liegen die Trockengewichte der Larvenstadien FIII bis FV aus der Bellingshausen See bei vergleichbarer Phytoplanktonkonzentration deutlich unter den Werten, die von HUNTLEY & BRINTON (1987) für die Bransfield Straße angegeben werden. Die Ursache könnte in einer geringeren Futterqualität im Untersuchungsgebiet liegen. Das Futterangebot ist der wichtigste Faktor zur Steuerung von Wachstum und Entwicklung (DALY 1990). Durch die Bestimmung der Intermoult Period (IMP) erhält man bei direkter Entwicklung die Stadiendauer. Unter den optimalen Nahrungsbedingungen in der Gerlache Straße erreichen die älteren Furciliarlarven maximale Körperlängen und Trockengewichte, die

Stadiendauer liegt bei 13 Tagen (IKEDA 1984a). In der Bransfield Straße ermittelt WITEK (1980) bei suboptimalen Nahrungsbedingungen eine IMP von 20 Tagen. An diesen Vergleichsbeispielen läßt die bei den älteren Furciliastadien im Untersuchungsgebiet festgestellte IMP von 15 Tagen auf eine gute Nahrungssituation in der östlichen Bellingshausen See schließen. Die abgeschätzten Wachstumsraten in der Bellingshausen See liegen also höher als die bisher in diesem Gebiet beobachteten (IKEDA 1984a, ROSS & QUETIN 1991). Die Zusammenhänge zwischen Nahrungsangebot und Entwicklungsdauer werden durch den Vergleich mit der Hungersituation, wie sie an Larven aus dem Untersuchungsgebiet im Labor simuliert wurde, verdeutlicht. Die IMP verlängert sich von 15 Tagen bei den frisch gefangenen und gefütterten Tieren auf 24 Tage bei den hungernden! Trotz der andauernden Hungersituation im Experiment treten keine intermediären Larvenformen auf. Die Vorstellung, dass schlechte Nahrungsbedingungen in gehäuftem Auftreten von Zwischenstadien und einer indirekten Entwicklung resultieren (MAKAROV 1974, BRINTON et al. 1986) kann hier nicht bestätigt werden.

Ergebnisse des *Langzeitexperiments* zeigen keine Unterschiede zwischen hungernden und gefütterten Larven in Bezug auf Körperlänge und Trockengewicht. Deutliche Auswirkungen auf das Wachstum zeigt die Hungersituation nur durch eine erheblich verlängerte Stadiendauer.

Die Untersuchungen von Elementarzusammensetzung, Proteingehalt und Lipidstoffwechsel, sowie die Bestimmung der metabolischen Raten (Respiration und Exkretion) und des Nukleinsäuregehaltes sollen ein Gesamtbild der physiologischen Vorgänge und Strategien ermöglichen, die in den späten Furciliastadien während des antarktischen Herbstes im Freiland und in einer gezielten Hungersituation im Labor ablaufen und angewendet werden.

Adulter Antarktischer Krill erreicht Kohlenstoffgehalte von 47% und C/N Gehalte von 4,8 (HUNTLEY et al. 1994). Kohlenstoffgehalt und C/N Verhältnis der hier untersuchten späten Furciliastadien liegen mit 44% und 4,3 etwas niedriger und decken sich mit den Angaben von IKEDA (1984b). Nach IKEDA (1982) sind sowohl der niedrige Kohlenstoffgehalt, als auch das niedrige C/N Verhältnis Hinweise auf eine von Proteinen dominierte Körperzusammensetzung. Da er bei Hungerexperimenten keine Abnahme von Kohlenstoffgehalt und C/N Verhältnis feststellt, also keine Lipidumsetzung, schlägt er Proteine als Hauptenergiequelle von *Euphausia superba* vor. Die in der vorliegenden Arbeit simulierte Hungersituation löst nach 12 Tagen Hungern einen 3% niedrigeren Kohlenstoffgehalt bei den Larven aus. Der Stickstoffgehalt ändert sich nicht, daraus resultiert

ein niedrigeres C/N Verhältnis von 3,7. Man kann davon ausgehen, dass als Reaktion auf die Hungersituation geringfügig Lipide abgebaut werden.

Die frisch gefangenen und die gefütterten Furciliarven der Bellingshausen See zeigen für *Euphausia superba* typische Proteinanteile von etwa 33%. Im Hungerexperiment liegt der Anteil etwas erhöht bei 40%.

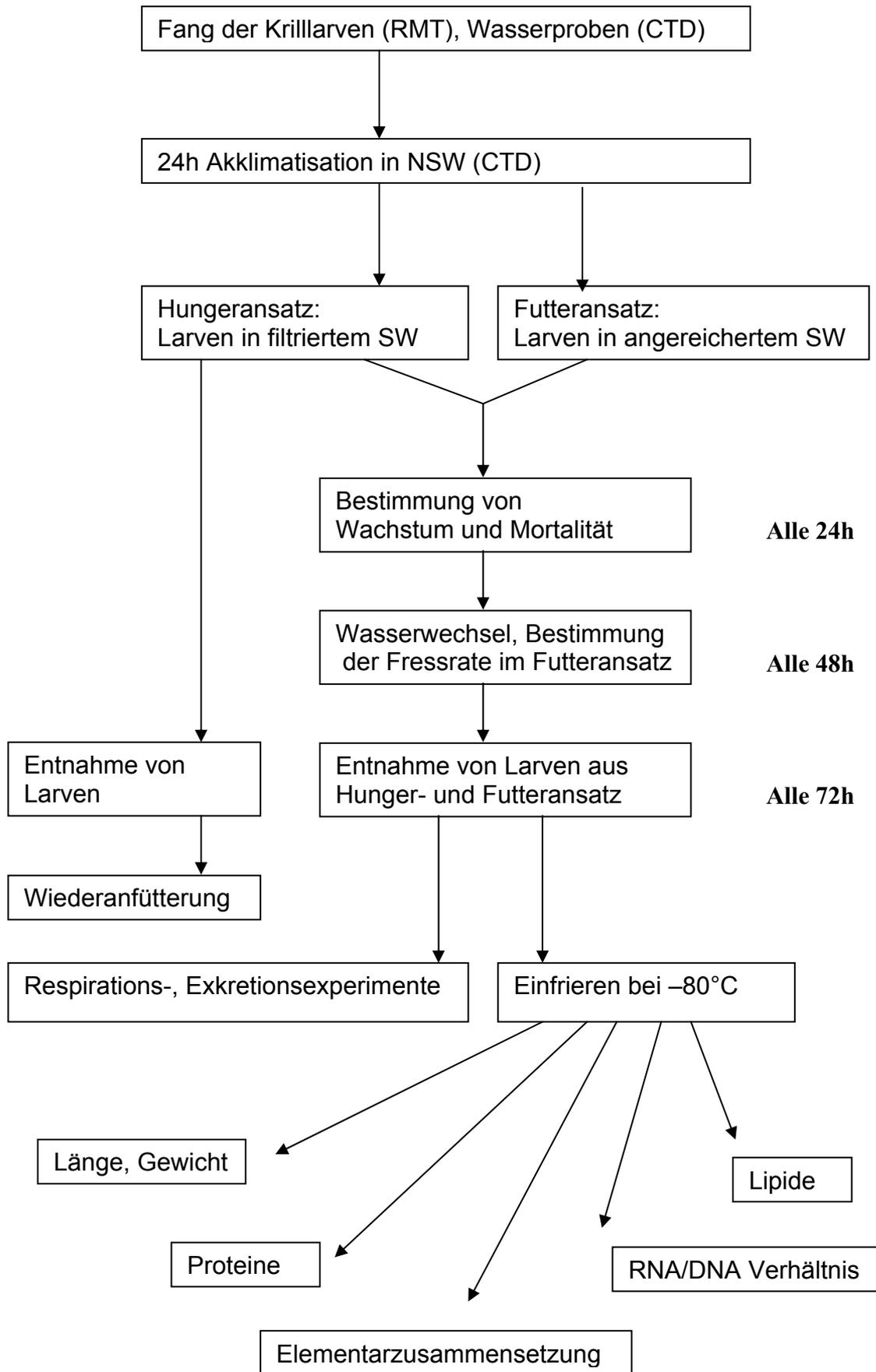
Der Gesamtlipidgehalt der frisch gefangenen Larven ist mit 8% sehr niedrig und mit Angaben für das Frühjahr vergleichbar (HAGEN et al. 2001). Die im Labor gefütterten Larven erreichen 10%. Diese Zunahme zeigt, dass die Futterbedingungen im Feld durch hohe Chlorophyllkonzentrationen im Labor noch optimiert werden können. Der Lipidgehalt nimmt im Hungerexperiment nach sechs Tagen auf 4%, im weiteren Verlauf bis auf 2% ab und sinkt damit unter den Wert von 3-5%, den HAGEN (1988) als essentiell für das Überleben der Larven annimmt. Die Larven nutzen offensichtlich trotz des niedrigen Gesamtlipidgehalts in einer Hungersituation ihre Lipide als Energiereserve. Die Lipidklassen zeigen im Futteransatz und im Hungeransatz vergleichbare prozentuale Anteile und lassen daraus schließen, dass die Abnahme des Gesamtlipidgehalts hier auf einem gleichmäßigen Abbau der Lipidklassen basiert. Einen tieferen Einblick in den Lipidstoffwechsel ermöglicht die Fettsäurezusammensetzung. Die dominierenden Fettsäuren der Furciliarven sind die mehrfach ungesättigten 20:5(n-3) und 22:6(n-3), die gesättigte 16:0 und zwei Isomere der einfach ungesättigten 18:1 (HAGEN et al. 2001). Dieses Fettsäuremuster zeigen auch die Larven der Bellingshausen See. Speziell für lipidarme Furcilien gibt HAGEN et al. (2001) einen hohen Anteil der mehrfach ungesättigten Fettsäure 20:5(n-3) an, die auch bei den hier untersuchten Larven die Fettsäurezusammensetzung mit einem Anteil von 26% dominiert. Die Markerfettsäure 16:1(n-7) ist bei den frisch gefangenen und im Labor gefütterten Furcilien der Bellingshausen See stark vertreten und spricht für eine von Diatomeen dominierte Nahrungszusammensetzung. Im Hungeransatz liegt der prozentuale Anteil von 16:1(n-7) an den Gesamtfettsäuren deutlich niedriger und zeigt, dass keine Nahrung mehr aufgenommen wird. Die Hauptfettsäuren der Phospholipide sind 20:5(n-3) und 22:6(n-3). Ihr Gesamtgehalt nimmt in der Hungersituation nicht ab und bestätigt die Ergebnisse der Lipidklassenzusammensetzung: die Larven der Bellingshausen See nutzen Phospholipide nicht als bevorzugte Lipidreserve.

Die gewichtsspezifische Respirationsrate der frisch gefangenen Furciliarven der Stadien FIII und FIV liegt bei  $1,03\mu\text{IO}_2/\text{mgDW}/\text{h}$  (IKEDA 1981). Die Larven der Bellingshausen See zeigen etwas höhere Werte. Unter Futterbedingungen liegt der Sauerstoffverbrauch im Bereich der frisch gefangenen Tiere von IKEDA (1981). Bei FIII Larven ist die Respiration

nach sieben Tagen Hunger mit  $0,5\mu\text{lO}_2/\text{mgDW}/\text{h}$  am niedrigsten (MEYER et al. 2002). Auch die Furciliarlarven der Bellingshausen See zeigen in einer Hungersituation mit 0,6 und  $0,8\mu\text{lO}_2/\text{mgDW}/\text{h}$  ähnlich geringe Raten und somit eine signifikant niedrigere Respiration. Die Ammoniumexkretion liegt etwas niedriger als die von IKEDA (1981) ermittelte und nimmt bei den Larven im Hungerexperiment leicht zu. MEYER et al. (2002) zeigt bei FIII Larven nach sieben Tagen Hunger einen Wechsel vom Lipidstoffwechsel zum Proteinstoffwechsel. Auch bei den Untersuchungen in der Bellingshausen See liegen die O/N Verhältnisse bei frisch gefangenen und gefütterten Larven über 50 und zeigen eine Dominanz des Lipidstoffwechsels. Im Hungerexperiment liegt das O/N Verhältnis schon nach drei Tagen unter 30 und sinkt nach zwölf Tagen auf den minimalen Wert von 22. Die von MEYER et al. (2002) festgestellte Umstellung im Stoffwechsel, ausgelöst durch eine Hungersituation, kann somit auch für die älteren Furciliarlarven bestätigt werden.

Als Ergänzung zu den bisher durchgeführten stoffwechselphysiologischen Untersuchungen wird bei den *Euphausia superba* Larven aus der Bellingshausen See erstmals auch der Nukleinsäuregehalt und das RNA/DNA Verhältnis bestimmt. Bei Fischlarven dient diese Methode standardmäßig zur Beurteilung von Ernährungssituation und physiologischer Kondition. Mit fortschreitender Hungerzeit kommt es zu einer Abnahme des Ribosomengehaltes und damit bei gleichbleibendem DNA-Gehalt zu einem messbar geringeren RNA-Gehalt. Die Proteinbiosynthese und in direkter Folge auch das Wachstum sind abhängig von der Menge gebildeter RNA. Das Verhältnis der RNA zu der jeweils konstant vorhandenen Menge an DNA ergibt damit einen Index für die metabolische Intensität (CLEMMESSEN 1992). Um Aussagen über den Ernährungszustand von Larven aus Feldproben machen zu können, müssen die Nukleinsäurenachweisverfahren durch Laborexperimente kalibriert werden. Eine erfolgreiche Kalibrierung bei den *Euphausia superba* Larven könnte das RNA/DNA Verhältnis für die Zukunft auch in der Krillforschung als schnelles und einfaches Verfahren etablieren, das Aussagen über Ernährungszustand und Rekrutierung der Nachwuchspopulation erlaubt. Die Nukleinsäuregehalte und das RNA/DNA Verhältnis der Furciliarlarven aus der Bellingshausen See sind extrem niedrig. Da sowohl die frisch gefangenen, als auch die im Labor gefütterten Tiere ein RNA/DNA Verhältnis von 0,5 zeigen, besteht die Möglichkeit, dass der Nukleinsäuregehalt der Larven allgemein gering ist (CLEMMESSEN, pers. Mitt.). Im Hungerexperiment nimmt der Quotient noch weiter ab und liegt nach 15 Tagen Hunger nur noch bei der Hälfte. Das RNA/DNA Verhältnis reflektiert die Auswirkungen der Hungersituation.

Um den Winter zu überdauern und sich erfolgreich zu entwickeln müssen Furciliarlarven ständig Nahrung aufnehmen (QUETIN & ROSS 1991). Sind sie nach einer Hungerphase bei erneutem Futterangebot physiologisch noch in der Lage zu fressen? Können sie die aufgenommene Nahrung sofort metabolisch umsetzen um zu überleben? Wiederanfütterungsversuche mit FIV Larven nach 3, 6, 9 und 12 Tagen Hunger zeigen, dass die Tiere die angebotene Nahrung sofort nützen. Die Ingestionsraten sind vergleichbar mit frisch gefangenen und gefütterten Tieren aus der Bellingshausen See. Da sich die Ingestion in den Tagen nach der Wiederanfütterung nicht mehr steigert, kann man davon ausgehen, dass die Larven keine Adaptationszeit benötigen um ihren Stoffwechsel von Hunger auf Fressen umzustellen. Der Point of no Return (PNR) (ROSS & QUETIN 1989) ist bei den FIV Larven noch nicht erreicht. Dies beweist, dass *Euphausia superba* Larven im Antarktischen Winter physiologisch in der Lage sind, durch geringe Primärproduktion oder ungleichmäßige Phytoplanktonverteilung ausgelöste Hungerperioden, in begrenztem Maß zu überdauern.



### **Aus den erhobenen Daten dieser Expedition ergaben sich folgende Veröffentlichungen:**

- Oetl B (2002) Ökophysiologische Untersuchungen an *Euphausia superba* – Larven.  
Diplomarbeit im Fachbereich Biologie/Chemie der Universität Bremen, 85 Seiten
- Meyer B, Oetl B (in Bearbeitung). Starvation tolerance of larval Antarctic krill *Euphausia superba*.

### **Im Schlussbericht zitierte Literatur**

- Atkinson A, Meyer B, Bathmann U, Stübing D, Hagen W, Schmidt K (2002) Feeding and energy budget of Antarctic krill *Euphausia superba* at the onset of winter. II. Juveniles and adults. *Limnol Oceanogr* 47:953-966
- Atkinson A, Snýder R (1997) Krill-copepod interactions at South Georgia, Antarctica, I. Omnivory by *Euphausia superba*. *Mar Ecol Prog Ser* 160:63-76
- Daly KL (1990) Overwintering development, growth, and feeding of larval *Euphausia superba* in the Antarctic marinal ice zone. *Limnol Oceanogr* 35:1564-1576
- Frazer TK (1996) Stable isotopes composition ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of larval krill, *Euphausia superba*, and two of its potential food sources in winter. *J Plankton Res* 18:1413-1426
- Frazer TK, Ross RM, Langdon B, Quetin J, Montoya P (1997) Turnover of carbon and nitrogen during growth of larval krill, *Euphausia superba* Dana: a stable isotope approach. *J Exp Mar Biol Ecol* 212:259-275
- Hagen W, Kattner G, Terbrüggen A, Van Vleet ES (2001) Lipid metabolism of the Antarctic krill *Euphausia superba* and its ecological implications. *Mar Biol* 139:95-104
- Huntley ME, Nordhausen W, Lopez MDG 1994. Elemental composition, metabolic activity and growth of Antarctic krill *Euphausia superba* during winter. *Mar Ecol Prog Ser* 107: 23-40
- Ikeda T, Mitchell AW (1982) Oxygen uptake, ammonia excretion and phosphate excretion by krill and other antarctic zooplankton in relation to their body size and chemical composition. *Mar Biol* 71: 283-298
- Ikeda T, Bruce B (1986) Metabolic activity and elemental composition of krill and other zooplankton from Prydz Bay, Antarctica, during early summer (November-December). *Mar Biol* 92: 545-555
- Ishii H, Omori M, Maeda M, Watanabe Y (1987) Metabolic rates and elemental composition of the Antarctic krill, *Euphausia superba* Dana. *Polar Biol* 7:379-382
- Kawagushi K, Ichikawa S, Matsuda O (1986). The overwintering strategy of Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana) under the coastal fast ice off the Ongul Islands in Lutzow-Holm Bay Antarctica. *Mem natn Inst polar Res Tokyo (Spec Issue)* 44: 67-85
- Knox GA 1994. *The biology of the Southern Ocean*. Cambridge University Press. 444 pp
- Loeb V, Siegel V, Holm-Hansen O, Hewitt R, Fraser W, Trivelpiece W, Trivelpiece S 1997. Effects of sea-ice extent and krill or salp dominance on the Antarctic food web. *Nature* 387: 897-900
- Meyer B, Atkinson A, Stübing D, Oetl B, Hagen W, Bathmann U (2002) Feeding and energy budget of Antarctic krill *Euphausia superba* at the onset of winter. I. Furcilia III larvae. *Limnol Oceanogr* 47:943-952
- Meyer B, Saborowski R, Atkinson A, Buchholz F, Bathmann U (2002a) Seasonal differences in citrate synthase and digestive activity in Antarctic krill, *Euphausia superba*: indicators of overwintering strategies of larvae and adults. *Mar Biol* (im Druck)

- Segawa S, Kato M, Murano M (1982) Respiration and ammonia excretion rates of the Antarctic krill, *Euphausia superba* Dana. Trans Tokyo Univ Fish 5:177-187
- Torres JJ, Donnelly J, Hopkins TL, Lancraft TM, Aarset AV, Ainley DG (1994) Proximate composition and overwintering strategies of Antarctic micronectonic Crustacea. Mar Ecol Prog Ser 113:221-232
- Vivien-Roels B, Pévet P (1986) Is melatonin an evolutionary conservative molecule involved in the transduction photoperiodic information in all living organism? Adv pineal Res: 61-68
- Vivien-Roels B, Pévet P (1993) Melatonin: presence and formation in invertebrates. Experientia 49: 642-647
- Quetin LB, Ross RM (1991). Behavioral and physiological characteristics of the Antarctic krill, *Euphausia superba*. Amer. Zool. 31: 49-63
- Quetin LB, Ross RM, Clarke A (1994). Krill energetics: Seasonal and environmental aspects of the physiology of *Euphausia superba* In: El-Sayed S (ed) Southern Ocean ecology. The BIOMASS perspective, Cambridge Univ Press pp:165-184

### **Abschlußbericht des TP 3: Nahrungsquellen und Stoffumsatz**

Teilprojektleiterin: Dr. Maren Voß  
Wissenschaftliche Mitarbeiterin: Dr. Katrin Schmidt  
Diplomandin: Nicola Plathner  
Institut für Ostseeforschung Warnemünde  
Seestr. 15  
18119 Rostock  
Germany

Kooperation: Prof. Dr. J. P. Montoya  
Dr. J. McClelland  
Georgia Institute of Technology  
Atlanta, Georgia  
USA

#### **Aufgabenstellung**

Das TP3 untersucht Nahrungsquellen und die metabolische Aktivität des Krills anhand von Daten stabiler Isotope des Stickstoffs und Kohlenstoffs. Folgende Fragestellungen standen im Vordergrund:

- Wovon ernähren sich Larven, juvenile und adulte Tiere in Monaten unterschiedlicher Produktionsbedingungen und unterschiedlichen Nahrungsangebotes?
- Mit welcher Geschwindigkeit wird neu aufgenommene Nahrung assimiliert und in verschiedene Körpergewebe (Hepatopancreas- und Muskelgewebe, Exoskelett) integriert bzw. durch Kotballen ausgeschieden?
- Von welchen Faktoren hängt die Fraktionierung der Stickstoffisotope im Stoffwechsel des Krills ab (Zusammensetzung der Nahrung, Assimilationseffizienz, Wachstum)?

#### **Wissenschaft und Stand der Technik**

Die Nahrungsquellen des Krills, die Umsatzgeschwindigkeit im Stoffwechsel und die Länge möglicher Hungerphasen in den verschiedenen Jahreszeiten sind bisher nur unzureichend geklärt. Stickstoff und Kohlenstoff haben eine Schlüsselstellung im Organismus und setzen sich natürlicherweise aus einer Mischung stabiler Isotope zusammen, wobei die schweren Isotope jeweils nur einen geringen Prozentsatz ausmachen (0,36%  $^{15}\text{N}$  und 1,1 %  $^{13}\text{C}$ ).

Nahrungsquellen können anhand einer Übereinstimmung der Isotopensignatur von Nahrung und Organismus eindeutig identifiziert werden (Haines und Montague 1978, Rau et al. 1983, Fry 1988, Wada et al. 1987, Montoya et al. 1990, Fry 1991, Jennings et al. 1997). Um auch die prozentuale Nahrungszusammensetzung aus den Isotopenwerten der Tiere zu rekonstruieren ist ein signifikanter Unterschied in den Isotopengehalten der potentiellen Nahrungsquellen notwendig (Haines und Montague 1978, Fry et al. 1984). Trophische Ebenen innerhalb eines Nahrungsnetzes können anhand der  $^{15}\text{N}$ -Werte gegeneinander abgegrenzt werden. Dabei wird ein mittlerer Anstieg von 3,4‰ pro trophische Ebene angenommen (Checkley und Entzeroth 1985, Checkley und Miller 1989). Die Erklärung für ein Abweichen von diesem Wert, wurde bisher in den sich saisonal ändernden Isotopensignaturen der Nahrung gesucht, die wiederum nicht befriedigend beprobt werden konnte. Man vermutete beispielsweise, daß Zooplankton lebendes Phytoplankton aus dem POM selektierte, jedoch die Probennahme nur Gesamtseston umfaßte (Rau et al. 1989). Hälterungsexperimente mit Copepoden ergaben einen Verlust in  $\delta^{15}\text{N}$  im exkretierten Ammonium um ca. 2,7‰ gegenüber der Nahrung, die produzierten Kotballen waren schwerer (Checkley und Entzeroth 1985, Altabet und Small 1990, Montoya 1994). Diese Phänomene gelten prinzipiell auch für die Fraktionierung des Kohlenstoffs, wobei die  $\delta^{13}\text{C}$  Werte der Nahrung unverändert an die Organismen weitergegeben werden (Fry et al. 1984, Mills et al. 1984).

#### **Zitierte Literatur:**

- Altabet, MA., Small LF 1990. The influence on fecal pellet nitrogen isotopic ratio by marine zooplankton. *Geochim Cosmochim Acta* 54:55-163
- Checkley DM, Entzeroth LC 1985. Elemental and isotopic fractionation of carbon and nitrogen by marine planktonic copepods and implications to the marine nitrogen cycle. *J Plank Res* 7: 553-568.
- Checkley DM, Miller TA. 1989 Nitrogen isotope fractionation by oceanic zooplankton. *Deep-Sea Res.* 36:1449-1456.
- Fry B, Anderson RK, Entzeroth L, Bird JL, Parker PL 1984.  $^{13}\text{C}$  enrichment and oceanic food web structure in the northwestern Gulf of Mexico. *Contr Mar Sci* 27: 49-63.
- Fry B 1988. Food web structure on Georges Bank from stable C, N, and S isotopic composition. *Limnol Oceanogr* 33: 1182-1190.
- Fry B 1991. Stable isotope diagrams of freshwater food webs. *Ecology* 72: 2293-2297.
- Haines EB, Montague CL 1978. Food sources of estuarine invertebrates analyzed using  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios. *Ecol* 60: 48-56.
- Jennings S, Reñones O, Morales-Nin B, Polunin NVC, Moranta J, Coll J 1997. Spatial variation in the  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  stable isotope composition of plants, invertebrates and fishes on Mediterranean reefs: implications for the study of trophic pathways. *Mar Ecol Progr Ser* 146: 109-116.
- Mills EL, Pittman K, Tan FC 1984. Food-web structure on the Scotian shelf, eastern Canada: A study using  $^{13}\text{C}$  as a food-chain tracer. *Rapp Reun Cons Internat D'Expl du Mer* 183: 111-118.

Montoya JP 1994. Nitrogen isotope fractionation in the modern ocean: implication for the sedimentary record. In Zahn R Pedersen TF, Kaminski MA, L. Labeyrie L (Eds) Carbon cycling in the Glacial Ocean: Constraints on the Ocean's Role in Global Change. Springer Verlag pp 259-280.

Montoya JP, Horrigan SG McCarthy JJ 1990. Natural abundance of  $^{15}\text{N}$  in particulate nitrogen and zooplankton in the Chesapeake Bay. Mar Ecol Progr Ser 65: 35-61.

Rau GH, Mearns AJ, Joung DR, Olson RJ, Schafer HA, Kaplan IR 1983. Animal  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  correlates with trophic level in pelagic food web. Ecol 64: 1314-1318.

Rau GH, Sullivan CW, Gordon LI 1991.  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  variations in the Wedell Sea particulate organic matter. Mar Chem 35: 355-369.

Wada E, Terazaki M, Kabaya Y, Nemoto T 1987.  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  abundances in the Antarctic Ocean with emphasis on the biogeochemical structure of the food web. Deep-Sea Res 34: 829-841.

## Ergebnisse

Adulter Krill kann sich von vielen verschiedenen Organismen ernähren, die auf unterschiedlichen trophischen Ebenen angesiedelt sind – Phytoplankton, herbivores und carnivores Zooplankton, Eisalgen und Benthos. Ob auch die Larven diese Nahrungsorganismen nutzen ist weitgehend unbekannt. Untersuchungen der erwähnten Nahrungsquellen mit stabilen Isotopen sind in der Antarktis gut möglich, da sie isotopisch voneinander unterschieden werden können (Wada et al. 1980). Eine bedeutende Rolle für die Ernährung im Winter scheinen Phytoplankter am Eisrand und im Packeis zu sein, da auch zu dieser Jahreszeit mit geringer pelagischer Produktion larvale und adulte Stadien mit gefülltem Hepatopankreas in der Antarktis gefunden wurden (Marschall 1988, Stretch et al. 1988). Andere Untersuchungen deuten darauf hin, daß zudem Protozoen und Detritus aufgenommen werden (Graneli et al. 1993). Eisalgen leben in einem extremen und in mehrfacher Hinsicht limitierenden Milieu, das sowohl durch Nitratmangel als auch  $\text{CO}_2$ -Mangel gegenüber dem Pelagial gekennzeichnet sein kann. Diese Situation findet ein deutliches Abbild in den Isotopenwerten. Hobson et al. (1995) fanden  $\delta^{15}\text{N}$  bzw.  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von +8,2‰ und -18,7‰ in Eisalgen; demgegenüber hatten suspendierter partikulärer organischer Kohlenstoff bzw. Stickstoff im Wasser +5‰ bzw. -28‰. Diatomeen, als wichtigste Primärproduzenten und Nahrung des Krills in der Antarktis, scheinen nach neueren Erkenntnissen grundsätzlich  $^{13}\text{C}$  reicher zu sein als das übrige Phytoplankton (ca. -18‰, Fry 1996). Dieses Phänomen bildet sich auch in der Nahrungskette ab, die auf einer Ernährung mit Diatomeen basiert (Fry und Wainright 1991). Die isotopischen Unterschiede in den Nahrungsquellen des Krills im Eis bzw. im Pelagial sollten sich auch in den Tieren abbilden und Rückschlüsse auf die Anteile der jeweiligen Nahrung aus dem Eis bzw. dem freien Wasserkörper erlauben.

In der südwestlichen Lazarev See (70° S, 7° W) hatten die Euphausiaceen und Copepoden im

April 1999 relative niedrige Stickstoff- und Kohlenstoffisotopenwerte ( $\delta^{15}\text{N}$  zwischen 1 und 5‰,  $\delta^{13}\text{C}$  zwischen -27 und -33‰). Dies wurde auf die Isotopensignatur des partikulären organischen Materials (POM) zurückgeführt ( $\delta^{15}\text{N}$  von -1‰,  $\delta^{13}\text{C}$  von -27‰). Die niedrigen Werte entsprachen den Erwartungen, da bei vermindertem Phytoplanktonwachstum im Herbst (etwa 0,5  $\mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$  im Oberflächenwasser) und reichem Angebot an Nitrat und  $\text{CO}_2$  in der Wassersäule eine starke Fraktionierung erfolgen kann.

Die vor Rothera im März 2000 gefangenen Copepoden und Euphausiaceen wiesen deutlich höhere Stickstoff- und Kohlenstoffisotopenwerte auf ( $\delta^{15}\text{N}$  zwischen 4 und 11‰,  $\delta^{13}\text{C}$  zwischen -23 und -30‰). Eine langanhaltende Phytoplanktonblüte mit etwa 5 - 8  $\mu\text{g Chl } a \text{ l}^{-1}$  im Oberflächenwasser (Blume 2000, Atkinson persönliche Mitteilung) hatte offensichtlich dazu geführt, dass die verfügbare Nitratmenge reduziert war und die Algen in zunehmenden Maße isotopisch schweren Stickstoff einbauen mussten. So hatte das POM des Oberflächenwassers Anfang März einen  $\delta^{15}\text{N}$  Wert von 3,7‰. Der Kohlenstoffisotopenwert des POM war mit -22 ‰ ebenfalls relativ hoch.

Es gibt zahlreiche Hinweise darauf, daß Unterschiede in den Isotopengehalten zwischen verschiedenen Entwicklungsstadien und Populationen vom Umsatz der betreffenden Elemente im Metabolismus abhängen (De Niro und Epstein 1981, Fry persönliche Mitteilung). Isotopenwerte sind eine integrierende Variable über den Zeitraum eines kompletten Umsatzes des körpereigenen Stickstoffes oder Kohlenstoffes. Sie bilden einen mittleren Isotopenwert der Nahrung (+ 3,4‰ für  $^{15}\text{N}$  und  $\pm 1$ ‰ für  $^{13}\text{C}$ ) in dem Organismus ab. Wachsende Crustaceen brauchen ca. eine 4-fache Gewichtszunahme, um den Isotopenwert der Nahrung in ihrem Gewebe abzubilden (Fry und Arnold 1982). Erste Messungen zum Stoffumsatz ("turnover") des Krill mit Hilfe stabiler N- und C-Isotope führten Frazer et al. (1997) durch, wobei sie eine Temperaturabhängigkeit in ihren Experimenten zwischen -1,5°C und +1,5°C feststellten. Nach 8-10 Wochen Inkubationszeit war nur ein geringer Stoffumsatz für Stickstoff oder Kohlenstoff erfolgt, obwohl die Larven neben dem Stoffumsatz auch noch Wachstum zeigten. Da aufgrund von Felddaten vermutet wird, daß Krillarven den Winter über Nahrung aufnehmen (Quetin und Ross 1991), sind Experimente zum Stoffumsatz (Respiration und Exkretion), zur Assimilationseffizienz und zur Fraktionierung der Nahrung zu beiden Jahreszeiten zum Verständnis der Felddaten unerlässlich. Zum Einfluß der Nahrungsqualität und der Stoffwechselaktivität auf die Fraktionierung der Isotope wurden in Kristineberg Laborexperimente mit der verwandten Euphausiacee, *Meganycitiphanes norvegica*, durchgeführt. Die wesentlichen Ergebnisse der Experimente sind:

1. Es wurden große individuelle Unterschiede in den Fressraten, im Wachstum und in der Änderung des Isotopensignals beobachtet (Abb. 5, 12, 13, 21), wobei kleine Tiere meist höhere Raten aufwiesen.
2. Die gemittelten Isotopensignale der Versuchstiere wiesen deutliche Änderungen gegenüber denen der Feldtiere auf. Im Kohlenstoffisotopensignal hatten die Versuchstiere in den 7 Experimentwochen kein isotopisches Gleichgewicht mit den neuen Nahrungsquellen erreicht, sondern im Mittel nur eine 25 bzw. 39 % Annäherung an den theoretischen Gleichgewichtswert erreicht. Im Stickstoffisotopensignal lagen die Feldtiere 1 - 2‰ höher als die beiden Nahrungsquellen und somit dem theoretischen Gleichgewichtswert bei einem Fraktionierungsfaktor von etwa 3,5 ‰ bereits sehr nahe. Eine trophische Anreicherung von 3,5‰ stellte sich bei beiden Nahrungsquellen innerhalb der 7 Wochen nicht ein, sondern sie betrug im Mittel 1,9 ‰ in den Experimenten mit kommerziellen Fischfutter und 1,8 ‰ bei Artemiennahrung.
3. Die mit Artemien gefütterten Tiere aus den Gemeinschaftsaquarien hatten sich im Kohlenstoff- und Stickstoffisotopensignal stärker verändert als einzeln inkubierten Tiere. Dies deutet darauf hin, dass sie in den Aquarien günstigere Bedingungen für Nahrungsaufnahme und Wachstum vorfanden. Gleiches gilt nicht für mit Fischfutter gefütterte Tiere, bei denen es in den  $\delta^{13}\text{C}$  und  $\delta^{15}\text{N}$  Werten kaum Unterschiede zwischen Aquarien- und Einzelinkubation gab.
4. Obwohl die meisten der im Überschuss mit Artemien gefütterten *Meganyctiphanes norvegica* höhere durchschnittliche Fressraten aufwiesen als Tiere die nur ein Drittel der Artemienmenge angeboten bekamen, unterscheiden sich die Isotopenwerte beider Tiergruppen nicht voneinander. Da die Tiere aus beiden Artemienansätzen ähnlich hohe Wachstumsraten aufwiesen, kann davon ausgegangen werden, dass sie die gefressene Nahrung unterschiedlich gut assimiliert haben. Diese unterschiedliche Assimilationseffizienz hatte aber offensichtlich keinen Einfluss auf die Isotopenwerte.
5. Unsere Untersuchungen haben bestätigt, dass zwischen der ingestierten Nahrungsmenge bzw. dem Wachstums und der Änderung des Isotopensignals ein positiver Zusammenhang besteht. Beim Fischfutteransatz wird besonders deutlich, dass einige der Tiere die geschrumpft sind, sich nicht in ihrem  $\delta^{13}\text{C}$  Wert geändert haben, während bei Tieren die bis zu 50 % ihres Ausgangsgewichtes zugenommen haben sich der Isotopenwert dem der Nahrungsquelle merklich angeglichen hat.

6. Eine unterschiedliche Wachstumsrate konnte maximal 70 % ( $\delta^{13}\text{C}$  Werte von Tieren des Fischfutteransatzes) der Variabilität in den Isotopenwerten erklären. Berechnungen zu den Umsatzraten haben gezeigt, dass auch Tiere die nicht gewachsen sind, aber nach 7 Wochen einen Kohlenstoffumsatz von bis zu 50 % aufwiesen, eine ähnliche Änderung im Isotopensignal erfuhren wie Tiere die stark gewachsen aber nur 30 % ihres ursprünglichen Kohlenstoffs ausgewechselt hatten (Berechnungen nach Frazer et al. 1997). Zwischen Umsatzrate und Wachstum bestand offensichtlich kein strenger Zusammenhang, da hohe und niedrige Umsatzraten bei Tieren mit geringem und starkem Wachstum auftraten. Da vor allem große Tiere nicht gewachsen oder gar geschrumpft sind, aber z. T. relativ hohe Umsatzraten aufwiesen, liegt die Vermutung nahe, dass ihnen zum Wachstum essentielle Komponenten gefehlt haben.
7. Die Exuvien der Tiere aus dem Fischfutteransatz hatten sich zwischen der 1. und der 6. Häutung (etwa 5 Wochen) im  $\delta^{13}\text{C}$  Wert um etwa 6 ‰ verringert, während der Wert der gesamten Tiere in 6 - 7 Wochen nur um 3 ‰ abgesunken ist. Daraus lässt sich schließen, dass die Häute sensitiver auf ein neues Isotopensignal der Nahrung reagieren als das Gesamttier. Ein Wechsel der Nahrungsquellen im Freiland würde sich somit in den Exuvien relativ schnell und deutlich abbilden. Offensichtlich weisen Exuvien eine gewebetypische Fraktionierung der Kohlenstoffisotope gegenüber der Nahrungsquelle auf.

In der letzten Phase des Projektes wurde die Experimente der zweiten Schiffsexpedition mit FS Polarstern (ANT XVIII/5b, April - Mai 2001) ausgewertet. Da die Ergebnisse noch nicht an anderer Stelle veröffentlicht wurden, sollen sie hier detailliert dargestellt werden. Ziel war es, die metabolische Aktivität des Krills mittels Verfütterung markierter Nahrung zu untersuchen. Die Markierung der Nahrung erfolgte mit dem Stickstoffisotop ( $^{15}\text{N}$ ) und Kohlenstoff ( $^{13}\text{C}$ ). Diese beiden Isotope haben eine sehr geringe natürliche Abundanz, können aber in anorganischen Stick- und Kohlenstoffverbindungen künstlich angereichert werden. Phytoplankton, dem diese Verbindungen als Nährstoffe dienen, werden ebenfalls mit den schweren Isotopen markiert und geben dieses Signal an ihre Konsumenten weiter. In den Tieren kann die Aufnahme neuen Stick- oder Kohlenstoffs in Abhängigkeit von der Fresszeit quantifiziert werden. Die geplante Bestimmung des  $\delta^{15}\text{N}$  Wertes in einzelnen Aminosäuren liefert darüber hinaus Informationen über deren Umsatzraten und insbesondere darüber wie der neue Stickstoff innerhalb der verschiedenen Aminosäure-Pools verteilt wird.

Als Nahrungsorganismen dienten zwei Diatomeen-Arten (*Thalassiosira weissflogii* und *Phaeodactylum tricornutum*) und Salinenkrebse (*Artemia salina*), die zuvor mit markierter *P. tricornutum* gefüttert wurden. Larvenstadien des Krills (Calyptopis, Furcilia II/III, Furcilia IV/V) und Copepoden der Gattung *Euchaeta* spp. wurden in insgesamt 10 Experimenten mit dieser Nahrung inkubiert und nach verschiedenen Zeitintervallen zwischen einer Stunde und zwei Tagen beprobt. Vor dem Einfrieren verblieben die Versuchstiere zur Entleerung des Darms für 2h in filtriertem Seewasser. Je nach zur Verfügung stehender Anzahl an Versuchstieren wurden in einigen Experimenten 10-15 Tiere je Probenahmezeitpunkt eingefroren, in anderen hingegen nur 4-5 Tiere. Im ersten Fall wurden die Versuchstiere gepoolt und das homogenisierte Material gemessen, im letzteren einzelne Tiere. Das restliche homogenisierte Material wurde aufbewahrt für geplante Messungen der Stickstoffisotopenwerte einzelner Aminosäuren am Georgia Institute of Technology in Atlanta (Drs. J. McClelland und J. Montoya). Ebenfalls in regelmäßigen Abständen wurden Unterproben der Nahrungssuspension filtriert für Messungen der Isotopenverhältnisse und des Kohlen- und Stickstoffgehaltes.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen, dass die Isotopenwerte des POM nicht konstant waren, sondern im Verlauf der Experimente um 30-50% abfielen. Der Gehalt an Kohlen- und Stickstoff sank zunächst ab und stieg dann deutlich an. Während der erste Effekt auf eine Nahrungsaufnahme des Krill schließen lässt, hängt letzteres möglicherweise mit einem Eintrag partikulären organischen Materials aus der Luft sowie mit Bakterienwachstum und Partikelbesiedelung zusammen. Auch das häufige Rühren der Proben kann zur Bildung von Aggregaten beigetragen haben. Wir gehen jedoch davon aus, dass die Algen selbst sich in ihrer Zusammensetzung nicht verändert und das ursprüngliche Isotopenverhältnis während des gesamten Versuchsverlaufes beibehalten haben.

Generell war die Aussagekraft der Experimente mit geringer Individuenanzahl (4-5) durch deren hohe Variabilität beeinträchtigt, Experimente mit 10-15 Versuchstieren je Entnahmezeitpunkt ergaben hingegen klare Ergebnisse. In Experimenten in denen Artemien verfüttert wurden, konnte keine (*Euchaeta* spp) oder nur eine sehr geringfügige (*Euphausia superba*) Aufnahme der Nahrung beobachtet werden. Bei *Thalassiosira weissflogii* als Nahrung stieg der Isotopenwert in den meisten Experimenten über die Versuchsdauer kontinuierlich an, während bei *Phaeodactylum tricornutum* -Nahrung die Isotopenwerte zunächst oftmals steil anstiegen, nach 12-18 Stunden aber ein Plateau erreichten oder wieder abfielen. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Artemien und auch *P. tricornutum* keine geeignete Nahrung für solche Experimente darstellten, *T. weissflogii* jedoch aufgenommen

und auch verwertet wurde. Die berechneten Aufnahmeraten an Stickstoff und Kohlenstoff waren generell gering (0-4% Körperstickstoff oder -kohlenstoff pro Tag, siehe Tabelle 1). Auffällig war jedoch, dass oftmals höhere Raten für Kohlenstoff als für Stickstoff verzeichnet wurden, und dass *Phaeodactylum tricornutum* über eine Periode von 24 Stunden insgesamt etwas besser aufgenommen wurde als *Thalassiosira weissflogii* (Tabelle 1).

**Tab. 1:** Laborexperimente mit Larvalstadien von *Euphausia superba*: Aufnahmerate von Kohlenstoff und Stickstoff aus unterschiedlichen Nahrungsquellen (Diatomeen: *Thalassiosira weissflogii* (T) und *Phaeodactylum tricornutum* (P), Salinenkrebsechen: *Artemia salina*), FS Polarstern April - Mai 2001

Experiment	I	II	III	VI	VII	IX	X
Date	18.4.	19.4.	21.4.	28.4.	30.4.	2.5.	4.5.
Krill	<b>Calyp.</b>	<b>FII/III</b>	<b>FIV/V</b>	<b>FI/II</b>	<b>FIV/V</b>	<b>FV</b>	<b>FIII/IV</b>
Dry mass	0,05 mg	0,5mg	1,6 mg	0,3 mg	1,0 mg	1,5 mg	0,85 mg
$\delta^{15}\text{N}$	2,1	2,0	4,4	4,5	2,1	3,9	2,7
$\delta^{13}\text{C}$	-28,0	-29,0	-30,6	-29,5	-29,0	-28,5	-28,5
<b>Aufnahmerate (% Körper-C, % Körper-N d<sup>-1</sup>)</b>							
<i>T. weis</i>							
N	0,35	1,1	0,3	0,25	0,1		0,05
C	1	1,8	0,4	0,45	0,15		0,1
<i>P. trico</i>							
N	0,8	3,4	0	0,25	0,25		
C	2,3	3,6	0,3	0,5	0,3		
<i>A. salin</i>							
N						0,25	
C						0,3	

## Zitierte Literatur

- Altabet, MA., Small LF 1990. The influence on fecal pellet nitrogen isotopic ratio by marine zooplankton. *Geochim Cosmochim Acta* 54:55-163
- Blume, B 2000. Wachstum und Energieumsatz der Larvalstadien des Antarktischen Krill-*Euphausia superba* Dana- im antarktischen Spätsommer. Diplomarbeit an der Universität Hamburg.
- Canuel EA, Freeman KH, Wakeham SG 1997. Isotopic compositions of lipid biomarker compounds in estuarine plants and surface sediments. *Limnol Oceanogr* 42: 1570-1583.
- DeNiro M, Epstein S 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim Acta* 45:341-351.
- Frazer TF, Ross RM, Quentin LB MJP 1997. Turnover of carbon and nitrogen during growth of larval krill, *Euphausia superba* Dana: a stable isotope approach. *J Exp Mar Biol Ecol* 212: 259-275.
- Fry B, Arnold C 1982. Rapid  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  turnover during growth of brown shrimp (*Penaeus aztecus*). *Oecologia* 54: 200-204.
- Fry B, Wainright S 1991. Diatom sources of  $^{13}\text{C}$ -rich carbon in marine food webs. *Mar Ecol Progr Ser* 76: 149-157.
- Fry B 1996.  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  fractionation by marine diatoms. *Mar Ecol Progr Ser* 134: 283-294.
- Graneli E, Graneli W, Rabbani MM Daugbjerg N, Fransz G, Cuzin-Roudy J, Alder V 1993. The influence of copepod and krill grazing on the species composition of phytoplankton communities from the Scotia-Weddell Sea: An experimental approach. *Polar Biol* 13: 201-213.
- Hobson KA, Ambrose Jr WG, Renaud PE 1995. Sources of primary production benthic - pelagic coupling, and trophic relationships within the Northeast water Polynya: insights from  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis. *Mar Ecol Progr Ser* 128: 1-10.
- Marschall H-P 1988. The overwintering strategy of Antarctic krill under the pack ice of the Wedell Sea. *Polar Biol* 9: 129-135.
- McClelland JW, Montoya JP 2002. Trophic relationship and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton. *Ecology*
- Quetin L.B, Ross RM 1991. Behavioral and physiological characteristics of the Antarctic Krill, *Euphausia superba*. *American Zool* 31: 49-63.
- Stretch JJ, Hammer PP, Hamner WM, Michel WC, Cook J, Sullivan CW 1988. Foraging behavior of antarctic krill *Euphausia superba* on sea ice microalgae. *Mar Ecol Progr Ser* 44: 131-139.
- Wada E 1980. Nitrogen isotope fractionation and its significance in biogeochemical processes occurring in marine environments. In Goldberg ED, Horibe Y, Saruhashi K. (Eds.) *Isotope Marine Chemistry*. pp. 375-398.

## Bisherige Veröffentlichung der Ergebnisse

1. Plathner N (2001) Eine experimentelle Studie zur Fraktionierung stabiler Kohlenstoff- und Stickstoffisotope durch *Meganyctiphanes norvegica* – der Einfluss der Nahrungsquelle, der Assimilationseffizienz, des Wachstums und der turn-over Rate. Diplomarbeit, Eingereicht am Fachbereich Biologie der Universität Rostock.
2. Schmidt K, Voss M, Atkinson A, Stübing D, McClelland JW, Montoya JP (2003) Trophic relationships among Southern Ocean copepods and krill: Some uses and limitations of a stable isotope approach. *Limnol Oceanogr*. 48: 277-289

**Förderkennzeichen: 03PL025B/4**

**Verbundvorhaben**

**SO-GLOBEC - Saisonale Ernährungsstrategien antarktischer Krebse**

**Teilprojekt:**

**Energetische und ernährungsphysiologische Anpassungen**

**Abschlussbericht**

der Arbeitsgruppe Marine Zoologie  
Universität Bremen  
Postfach 330 440  
28334 Bremen

Teilprojektleiter: Prof. Dr. Wilhelm Hagen  
Wissenschaftliche Mitarbeiterin: Dorothea Stübing

## Schlussbericht

### 1 Aufgabenstellung

Im Teilprojekt (TP) 2 sollten die energetischen und ernährungsphysiologischen Anpassungen des antarktischen Krills *Euphausia superba* im Hinblick auf die saisonal stark schwankenden Umwelt- und Nahrungsbedingungen untersucht werden. Folgende Fragestellungen standen hierbei im Vordergrund:

- Welche chemische Zusammensetzung weisen die verschiedenen Krillstadien (Larven, Juvenile, Männchen, Weibchen) zu unterschiedlichen Jahreszeiten auf?
- Inwieweit tragen Energiereserven (in Form von Lipiden) zum Überwinterungserfolg des Krills bei?
- In welcher Form werden die Lipide gespeichert? Welche Bedeutung kommt hierbei dem Phosphatidylcholin (Lecithin) zu?
- In welcher Weise bestimmen Stoffwechselprozesse bei der Nahrungsaufnahme und –wertung sowie bei der Exkretion die Lipidzusammensetzung des Krills?
- In welchem Maße eignen sich Fettsäuren als Marker für Nahrungsnetzbeziehungen?

### Planung und Ablauf

Innerhalb des Projektzeitraumes sollten während drei Feldphasen zu unterschiedlichen Jahreszeiten Proben von *Euphausia superba* gesammelt werden und anhand ihres Gesamtlipidgehalts und ihrer Lipidzusammensetzung Kondition und Nahrungsgewohnheiten der verschiedenen Entwicklungs- und Reifestadien charakterisiert werden. Experimentelle Arbeiten sollten die Prozesse verdeutlichen, welche die Nahrungsabhängigkeit der Lipidzusammensetzung des Krills bestimmen. Dies sollte zur besseren Interpretation der Ergebnisse der Felduntersuchungen beitragen.

Dank der hervorragenden logistischen Voraussetzungen an Bord von „Polarstern“ verliefen Probennahme und Experimente während der beiden Herbstexpeditionen reibungslos. Im zweiten Projektjahr musste jedoch eine Änderung gegenüber dem geplanten Ablauf vorgenommen werden, da die Wissenschaftliche Mitarbeiterin des TP2 aus Platzgründen nicht auf der Station des „British Antarctic Survey“ (BAS) Rothera arbeiten konnte (die Anzahl der beantragten Forschungsvorhaben überstieg die Kapazität der Station, so dass Wissenschaftler des BAS bevorzugt berücksichtigt wurden). Dennoch konnte das Gesamtkonzept aufrechterhalten werden, da sowohl auf Rothera von TP1 Krillproben für Lipidanalysen gesammelt wurden, als auch während der AMLR (Antarctic Marine Living Resources, s.u.)-Expedition von TP2 Proben für die TP 1 und 3. So konnten zusätzlich zu den geplanten Proben weitere Daten aus einem anderen Untersuchungsgebiet an der Antarktischen Halbinsel erhoben

werden. Diese beiden Datensätze ergänzen sich auch deshalb so gut, weil auf Rothera hauptsächlich Larvalstadien gefangen wurden, im Gegensatz zu überwiegend adulten Tieren bei der AMLR-Expedition.

Zwischen den Expeditionen erfolgten wie geplant die Laboranalysen und die Auswertung der Ergebnisse. In den letzten Projektmonaten wurden die Ergebnisse der einzelnen Teilprojekte ausgewertet und in Form von Manuskripten/Publicationen ausgearbeitet (s. Kapitel 9: Veröffentlichungen). Im Februar 2002 wurden sie wie geplant auf der ASLO (American Society for Limnology and Oceanography)-Tagung in einer "Special session" einem internationalen Kreis von Wissenschaftlern vorgestellt. Zuvor wurden Zwischenergebnisse des TP2 bereits auf drei anderen Konferenzen präsentiert: im August 1999 auf dem "Second International Symposium on Krill" in Santa Cruz, Kalifornien, U.S.A.; im Februar 2001 auf der Deutschen Crustaceologen-Tagung in Hamburg und im August 2001 auf der SCAR-Tagung in Amsterdam, Niederlande.

### **Stand der Wissenschaft zu Beginn des Projekts**

Die Nutzung von Energiereserven stellt eine von vier möglichen Überwinterungsstrategien antarktischer Crustaceen dar (Torres et al. 1994). Lipide sind die typischen Energiereserven vieler Zooplanktonarten aus hohen Breiten (Clarke 1983; Hagen 1988), ihre Bedeutung für den Krill ist jedoch umstritten. Nicht zuletzt die Tatsache, dass *Euphausia superba* keine Wachsester anreichert (Clarke 1980; Hagen 1988), hat zu der Annahme geführt, dass Krill nicht wie andere polare Zooplankter Lipide als Energiespeicher nutzt, um den nahrungsarmen Winter zu überstehen (Clarke 1984; Virtue et al. 1993a). Saisonale Untersuchungen weisen hingegen auf eine Nutzung von Lipiden als winterliche Energiereserve hin (Quetin and Ross 1991; Hagen 1996).

Mit der detaillierten Bestimmung der Lipidzusammensetzung des Phytoplanktons und herbivoren Zooplanktons kann anhand von Fettsäuremarkern Aufschluss über Nahrungsnetzbeziehungen zwischen Primärproduzenten und Konsumenten gewonnen werden (Sargent et al. 1987; Hagen 1996; Hagen and Kattner 1998; Kattner and Hagen 1998). Derartige Biomarker sind für bestimmte Phytoplanktongruppen charakteristisch, werden vom Konsumenten aufgenommen und in unveränderter Form in die körpereigenen Lipide eingebaut (Graeve 1993; Pond et al. 1993; Graeve et al. 1994a; Graeve et al. 1994b).

Eine Besonderheit polarer Euphausiaceen ist ihr aussergewöhnlich hoher Gehalt an Phosphatidylcholin (PC). (Hagen et al. 1996) postulieren, dass es sich hierbei um ein zusätzliches Speicherlipid handelt. Diese Hypothese ist jedoch noch umstritten, nicht zuletzt aufgrund der chemischen und physikalischen Eigenschaften dieses amphipatischen Moleküls.

## **Ergebnisse**

Die Ergebnisse der ersten zwei Projektjahre (1999 und 2000) wurden ausführlich in den beiden Zwischenberichten dargelegt. Im folgenden sollen zunächst die neuen Erkenntnisse aus der dritten Feldphase geschildert werden. Abschließend soll eine übergreifende Diskussion der Ergebnisse erfolgen und allgemeine Schlussfolgerungen daraus gezogen werden. Für die detaillierte Darstellung und Diskussion der Ergebnisse sei auf die beigefügten Manuskripte verwiesen.

### **Ergebnisse der dritten Feldphase**

Während der zweiten Herbstexpedition vom 13.4.-7.5.2001 konnten sehr große Mengen von Krilllarven gefangen werden, darunter Vertreter des letzten Calytopisstadiums sowie aller sechs Furcilia-Stadien. Juvenile und Adulte blieben hingegen nur Einzelfunde, so dass sich die Ausführungen hier auf die Larvalstadien konzentrieren.

Darüber hinaus wurden im dritten Projektjahr Untersuchungen zur Rolle des Phosphatidylcholins (PC), besser bekannt als Lecithin, vergleichend an adulten *Euphausia superba* und anderen antarktischen Euphausiaceen durchgeführt. Durch die Kombination biochemischer und histochemischer Methoden konnte die Hypothese bestätigt werden, dass PC bei den untersuchten antarktischen Euphausiaceen als zusätzliches Speicherlipid dient.

### **Larvaler Krill**

Der umfassende Datensatz verdeutlicht die zunehmende Bedeutung der Lipide bei den älteren Stadien. Die detaillierte Analyse der Lipidzusammensetzung erlaubt hierbei die Identifikation der jeweils wichtigen Komponenten. So können Rückschlüsse auf Stoffwechselprozesse bei der Aufnahme und Verwertung von Lipiden im Verlauf der Larvalentwicklung gezogen werden.

#### *Gesamtlipidgehalt*

Trockenmasse und Gesamtlipidmasse der Krilllarven nehmen mehr oder weniger stetig zu von wenigen Mikrogramm in den Calytopis-Larven zu den Furcilia-Stadien III und IV, mit deutlicher Erhöhung in den späten Furcilia-Stadien V und VI (Abb. 1). Während die Zunahme der Lipidmasse linear zu verlaufen scheint, erkennt man bei genauerer Betrachtung, dass dies tatsächlich nur in den älteren Stadien der Fall ist (Abb. 1a). Bei den jüngeren Stadien bis

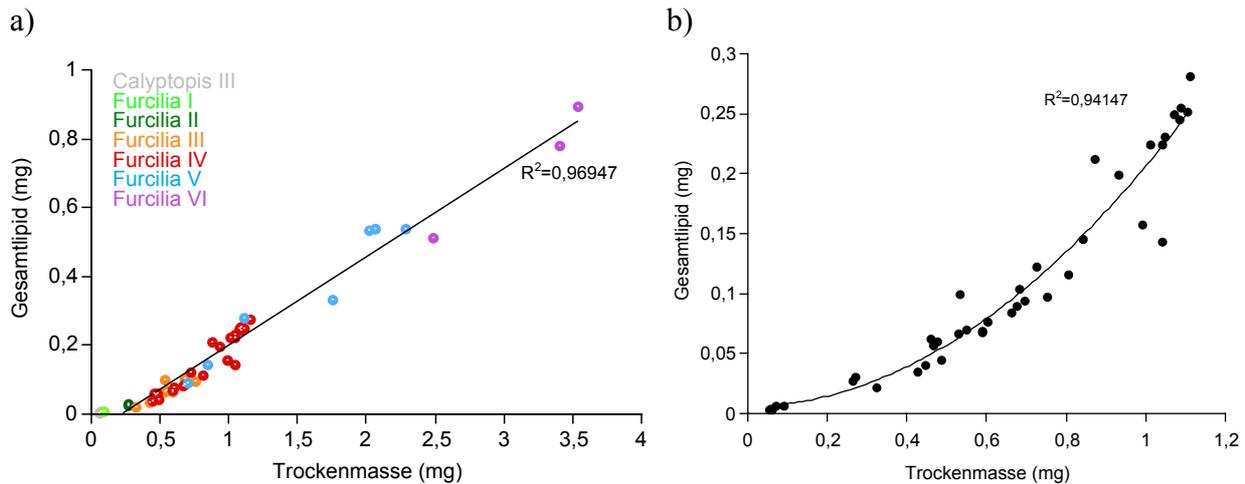


Abb. 1: *Euphausia superba*. Beziehung zwischen Gesamtlipidmasse und Trockenmasse der verschiedenen larvalen Entwicklungsstadien (a) bzw. der Stadien Calyptopis III-Furcilia IV (b) im April 2001.

zu einer Trockenmasse von ca. 1,2 mg zeigt sie einen Kurvenverlauf (Abb. 1b). Das bedeutet, dass in den frühen Larvenstadien das somatische Wachstum überwiegt. Es wird erst dann mehr Energie in die Akkumulation von Lipidreserven investiert, wenn die Körpermasse einen bestimmten Schwellenwert erreicht hat. Es zeigt sich weiterhin, dass die Datenpunkte für die verschiedenen Stadien deutlich überlappen (Abb. 1a), was die Schwankungen der Kondition innerhalb der einzelnen Stadien illustriert.

Aus Abb. 2 ist der Gesamtlipidgehalt der Larven in Prozent der Trockenmasse (TM) ersichtlich. Im Calyptopis-Stadium beträgt er minimale 5% und steigt auf über 23% TM bei den Furcilien V und VI.

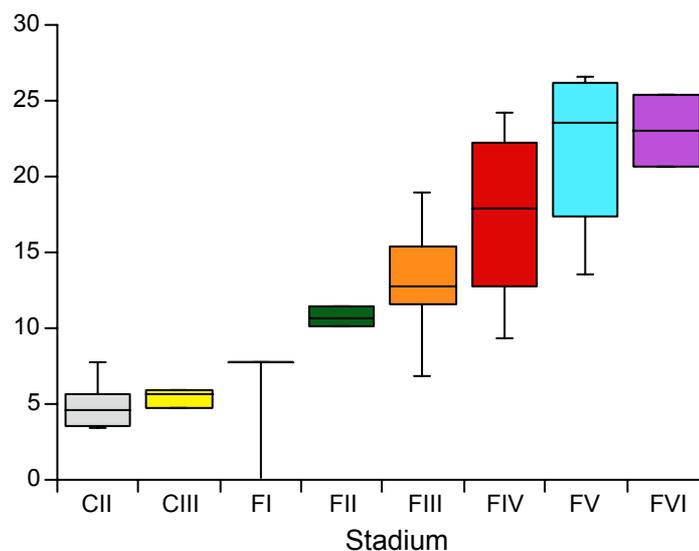


Abb. 2: *Euphausia superba*. Gesamtlipidgehalt in % der Trockenmasse der verschiedenen larvalen Entwicklungsstadien (C= Calyptopis, F= Furcilia).

### Lipidklassenzusammensetzung

Phospholipide dominieren in allen Stadien (Abb. 3), was auf die hohen Anteile von Phosphatidylcholin (PC) zurückzuführen ist. Die zweite wichtige Phospholipidklasse, Phosphatidylethanolamin (PE), liegt hingegen mit maximal 3,3% TM in wesentlich geringeren Mengen vor. Während der PE-Gehalt in allen Stadien relativ konstant bleibt, nimmt PC zusammen mit dem für *E. superba* typischen Speicherlipid Triacylglycerin (TAG) mit steigendem Lipidgehalt zu.

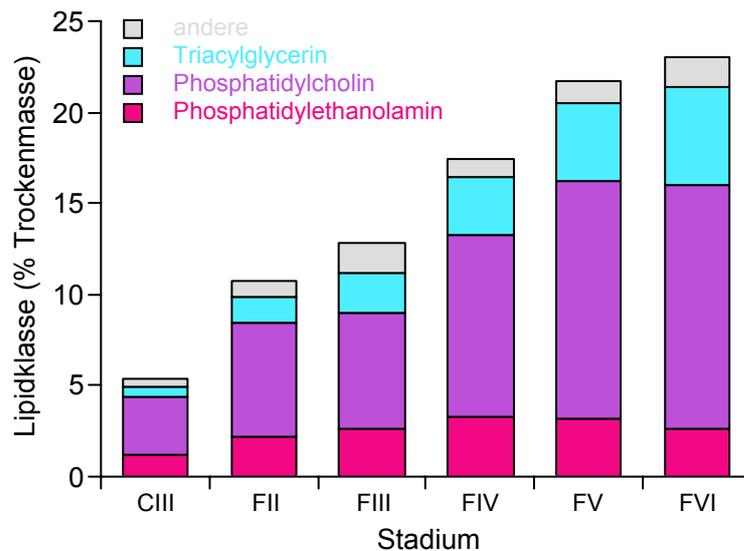


Abb. 3: *Euphausia superba*. Lipidklassenzusammensetzung der verschiedenen larvalen Entwicklungsstadien.

### Fettsäurezusammensetzung

Obwohl sich Gesamtlipidgehalt und Lipidklassenzusammensetzung zwischen den Larvenstadien stark unterscheiden (s.o.), wird das vom Fettsäuremuster nicht sehr deutlich widerspiegelt (Abb. 4). Zwar ist tendenziell eine Zunahme der neutrallipidtypischen Fettsäuren, 14:0 und 18:4(n-3), und zugleich eine Abnahme der langkettigen hochungesättigten Fettsäuren in den späteren Stadien zu beobachten, wesentlich größer sind jedoch nahrungsbedingte Unterschiede. Dies zeigt sich besonders klar im inversen Verhältnis von 20:5(n-3) zu 22:6(n-3). Hohe Werte dieses Quotienten indizieren eine Diatomeen-dominierte Ernährung und gehen mit erhöhten Anteilen von 16:1(n-7) einher, während niedrige Werte auf einen stärkeren Flagellateneinfluss schließen lassen, was durch den Anstieg von 18:4(n-3) bekräftigt wird. Diese Unterschiede sind jedoch keineswegs stadienspezifisch; die hohen Standardabweichungen speziell in diesen Nahrungsmarkern illustrieren die große individuelle Variabilität und verdeutlichen die Flexibilität, mit der die Furcilia-Larven die unterschiedlichen Ernährungssituationen nutzen können.

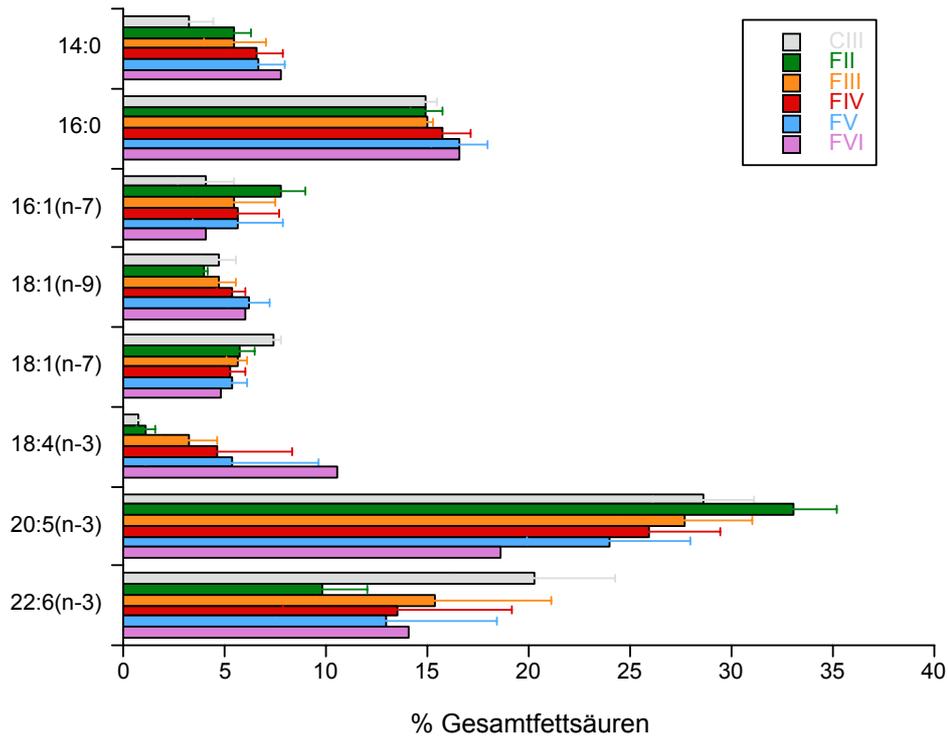


Abb. 4: *Euphausia superba*. Fettsäurezusammensetzung in % der Gesamtfettsäuren der verschiedenen larvalen Entwicklungsstadien.

### Lecithinspeicherung

Die ungewöhnlich starke Phospholipidakkumulation mit zunehmendem Gesamtlipidgehalt bei *Euphausia superba* (Abb. 5) und anderen polaren Krillarten ist bereits bekannt (Saether et al. 1986; Hagen et al. 1996; Mayzaud 1997). Unklar blieb bisher jedoch die physiologische Be-

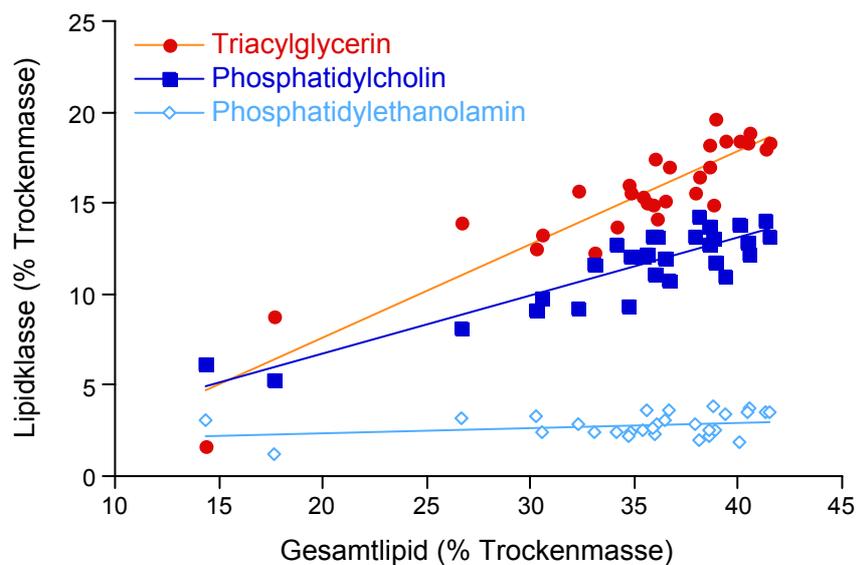


Abb. 5: *Euphausia superba*. Beziehung zwischen den drei Hauptlipidklassen und dem Gesamtlipidgehalt in % der Trockenmasse (n=29).

deutung dieses Phänomens. (Sargent and Henderson 1995) bezweifeln, dass Phospholipide von herbivoren Euphausiaceen als Energiespeicher akkumuliert werden, die großen Mengen spiegeln wohl vielmehr die Bedeutung der phospholipidreichen Mitteldarmdrüse in diesen Tieren wider. Aus diesem Grunde wurden zunächst histochemische Färbungen von Gefrierschnitten angefertigt, um herauszufinden, welche Gewebe besonders viele Neutral- oder Phospholipide enthalten. Aus den getrennten Lipidanalysen von herauspräparierten Organen bzw. Körperteilen (Abdominalmuskel, Gonaden, Mitteldarmdrüse) war bekannt, dass der Cephalothorax die lipidreichsten Organe enthält, während das Abdomen sehr lipidarm ist (Mayzaud et al. 1998). Daher wurden vom Cephalothorax in bestimmten Abständen 3-4  $\mu\text{m}$  dicke Gefrierschnitte angefertigt, die mit Farbstoffen zur spezifischen Anfärbung von Neutral- bzw. Polarlipiden behandelt wurden.

Abb. 6 zeigt Fotos von Dünnschnitten durch den Cephalothorax eines lipidreichen *E. superba*-Männchens. Die Neutrallipide sind rot angefärbt (links), die Polarlipide blau (rechts). Es zeigt sich deutlich, dass zell- und membranreiche Organe wie Muskeln und die Mitteldarmdrüse überwiegend blau eingefärbt sind und keine bzw. nur wenige Neutrallipide enthalten. Dies stimmt mit Lipidanalysen dieser Organe überein: Der lipidarme Muskel (5,7% TM) besteht zu fast 90% aus Polarlipiden (PL), die Mitteldarmdrüse enthält 17% TAG und 72% PL. Dagegen ist ein großer Teil des Thorax mit einem relativ strukturlosen Gewebe ausgefüllt, das sowohl auf die Neutral- als auch auf die Polarlipidfärbung reagiert.

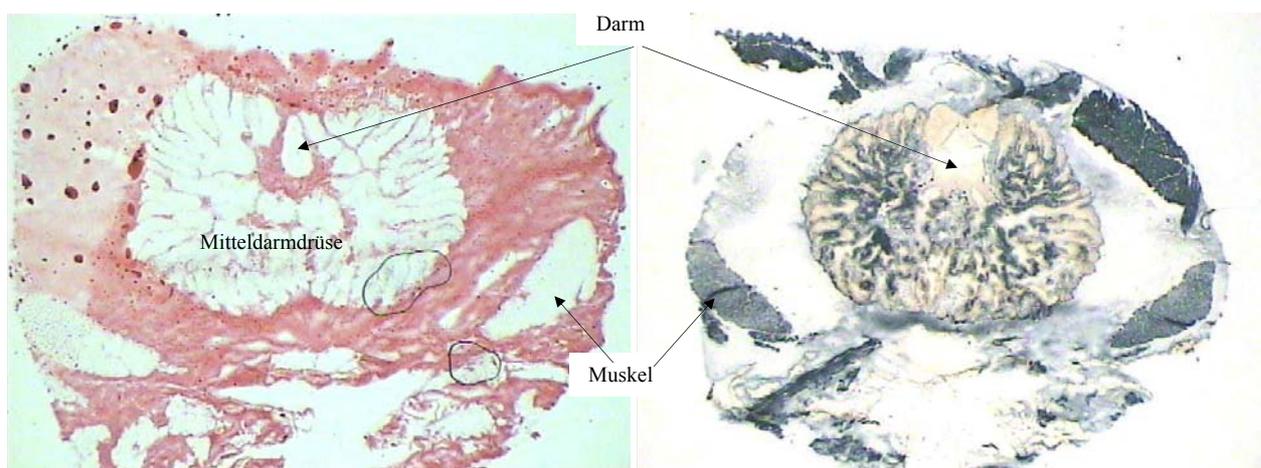
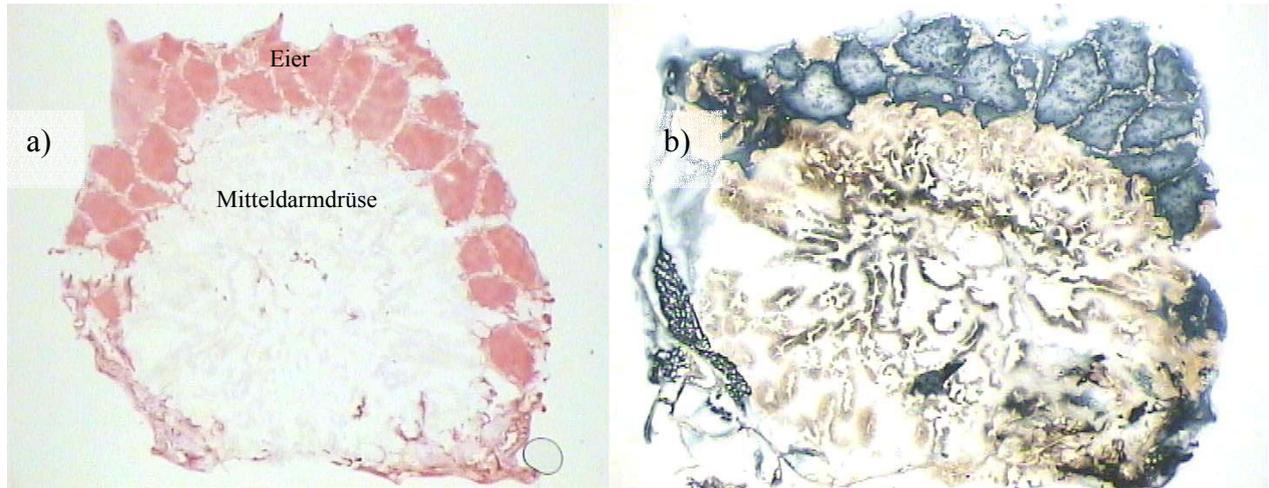


Abb. 6: *Euphausia superba*. Kryoschnitte durch den mittleren Teil des Cephalothorax eines lipidreichen Männchens. Färbung der Neutrallipide (links) bzw. der Polarlipide (rechts).

Ähnlich sieht es bei den Schnitten eines eitragenden Weibchens aus (Abb. 7). Allerdings findet sich hier nicht wie beim Männchen das strukturlose lipidreiche Gewebe um die Mitteldarmdrüse herum. Der Cephalothorax ist vielmehr mit Eiern angefüllt, die ebenfalls durch

beide Farbstoffe angefärbt werden. Die Lipidklassenanalyse der lipidreichen Eier (ca. 60% TM) ergab ebenfalls eine Dominanz der Polarlipide mit 66% gegenüber 25% TAG.

Abb. 7: *Euphausia superba*. Kryoschnitte durch den mittleren Teil des Cephalothorax eines eitragenden Weibchens. Färbung der Neutrallipide (links) bzw. der Polarlipide (rechts).



In der Detailvergrößerung des neutral- und polarlipidreichen Gewebes der Männchen lassen sich deutlich Öltropfen erkennen, die vom Polarlipidfarbstoff nicht angefärbt werden (Abb. 8a). In den Eiern sind keine Öltropfen zu erkennen (Abb. 8b). Die Form, in der PC in diesen Geweben vorliegt, ließ sich mit lichtmikroskopischen Mitteln jedoch nicht auflösen.

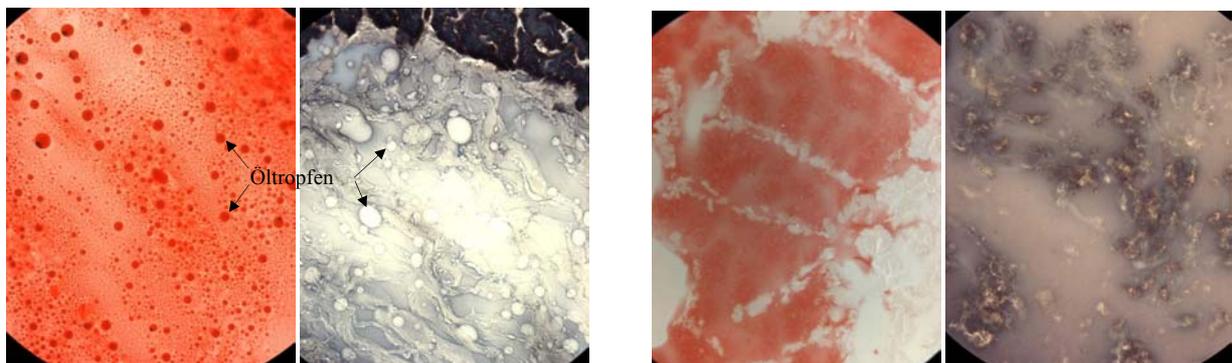


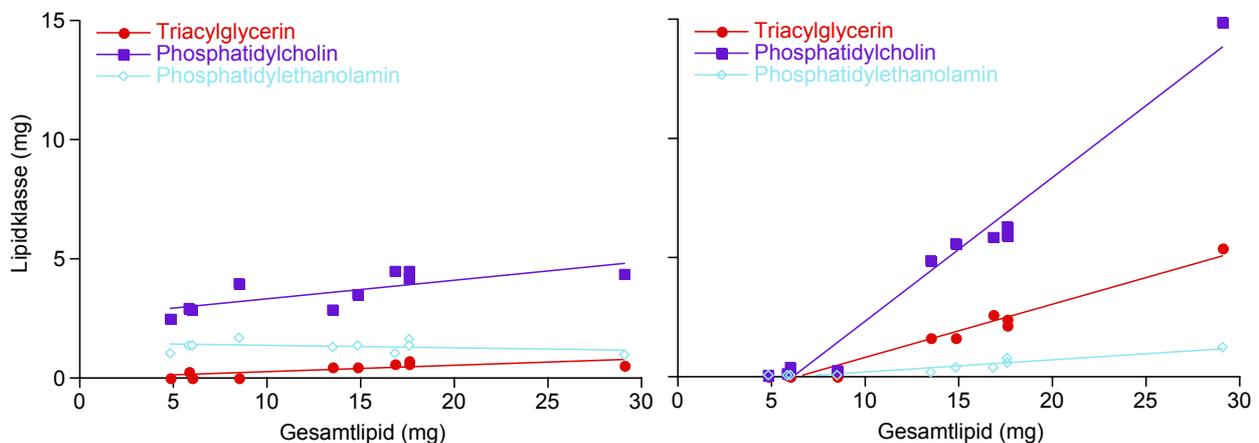
Abb. 8: *Euphausia superba*. Detailaufnahmen des Speichergewebes des lipidreichen Männchens (a) und der Eier des Weibchens (b).

Um nun dennoch Aussagen über die Form der PC-Speicherung treffen zu können, wurde eine einfache Zellfraktionierung durchgeführt. Durch Ultrazentrifugation von *E. superba*-Homogenaten wurden die schweren Zellbestandteile wie Zellmembranen und Zellorganellen von leichten Komponenten wie den ungebundenen Speicherlipiden getrennt. Diese Analysen wurden an reproduktiven Männchen (Kirkwood 1982) und eitragenden Weibchen (Stadium W3d) von der Sommerexpedition 2000 durchgeführt. Sie hatten eine relativ einheitliche Größe von

48-55 mm. Wie im zweiten Zwischenbericht dargelegt wurde, sind diese Männchen mit durchschnittlich etwa 6% TM extrem lipidarm, sie verfügen über keinerlei Reserven und zeigen eine sehr hohe Sterblichkeit (Virtue et al. 1996). Sie wurden daher als Negativkontrolle verwendet, da man davon ausgehen kann, dass ihre Lipidreserven, in welcher Form sie auch vorliegen, weitgehend erschöpft sind.

Abb. 9: *Euphausia superba*. Lipidklassenverteilung in den durch die Zentrifugation erhaltenen Fraktionen. Beziehung zwischen der Menge der drei Hauptlipidklassen und der Gesamtlipidmasse im Niederschlag (a) bzw. im Überstand (b) (n=10).

Abb. 9 zeigt die Verteilung der drei Hauptlipidklassen in den beiden durch die differenzielle Zentrifugation gewonnenen Fraktionen. Im Niederschlag, der die Zellmembranen und Organellen enthält, bleiben PE, aber auch PC auf einem nahezu konstanten Niveau. Dies entspricht den Erwartungen und spiegelt die Grundmenge dieser beiden Hauptpolarlipide wider,



die in den Membranen von *E. superba* zur Aufrechterhaltung struktureller Funktionen benötigt wird. Im Gegensatz dazu steigt die Menge an PC im Überstand, der die leichten Zellbestandteile wie Fett enthält, mit der Gesamtlipidmasse deutlich an. Dies zeigt, dass PC nicht in membrangebundener Form vorliegt, sondern wie TAG als freie Lipide verfügbar ist. Anhand des Quotienten aus PC und PE im Niederschlag kann man das Verhältnis dieser beiden Lipidklassen in den Membranen von *E. superba* berechnen. Es beträgt  $2,8 \pm 0,9$ , höhere Werte lassen auf überschüssiges, nicht membrangebundenes PC schließen, das als zusätzliche Energiereserve dienen kann. Die physiologischen Vorteile einer solchen PC-Speicherung sind bisher noch nicht geklärt. Saether et al. (1986) spekulieren, dass Phospholipide möglicherweise leichter mobilisierbar sind, und (Olsen et al. 1991) führen dies auf die bessere Emulgierbarkeit dieser amphipathischen Moleküle zurück, wodurch ihre Aufnahme durch Pinocytose erleichtert wird.

### **Synthese und Schlussfolgerungen**

In Teilprojekt 2 des Verbundprojektes über die saisonalen Ernährungsstrategien des antarktischen Krills wurde die Bedeutung der Lipide für den Überwinterungserfolg der verschiedenen Entwicklungsstadien untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass im Herbst erhebliche Energiespeicher in Form von Lipiden angelegt werden. Der Lipidgehalt von Juvenilen und Adulten erreicht Maximalwerte von über 40% der Trockenmasse und besteht etwa zu gleichen Teilen aus Neutral- und Phospholipiden. Zieht man hierbei noch in Betracht, dass von diesen Phospholipiden bis zu 2/3 ebenfalls als Energiereserve zur Verfügung stehen, kann man davon ausgehen, dass die Bedeutung von Speicherlipiden für die Überwinterung von juvenilen und adulten *E. superba* bislang unterschätzt wurde.

Im Sommer liegt der Lipidgehalt geschlechtsreifer Adulter mit maximal 30% TM deutlich unter den Herbstwerten. Möglicherweise wird für die Reproduktion weniger Energie in Form von Lipiden benötigt als für die Überwinterung. Während im Herbst keine geschlechtsspezifischen Unterschiede im Lipidgehalt von adultem Krill erkennbar sind, ist der Lipidgehalt im Sommer sehr stark von Reproduktionsprozessen beeinflusst. Dabei schwankt er bei den Weibchen zwischen den Reifestadien weit weniger als bei den Männchen, bei denen nach der Paarung nur noch minimale Lipidmengen vorliegen, was sich auch in ihrer allgemein schlechten Kondition und hohen Sterblichkeit niederschlägt.

Furcilien akkumulieren im Laufe ihrer Entwicklung ebenfalls moderate Mengen an Speicherlipiden, allerdings in weitaus geringerem Umfang als die postlarvalen Stadien. Wie in TP1 von Meyer et al. (2002) gezeigt werden konnte, reduzieren Furcilia-Larven zum Winter nicht ihren Metabolismus und sind somit in stärkerem Maße auf eine kontinuierliche Nahrungsaufnahme angewiesen. Dementsprechend sind auch die Fressraten im Herbst gleichbleibend hoch. Es wurde weiterhin eine hohe individuelle Variabilität des Lipidgehaltes bei den Furcilien gefunden, abhängig von ihrer Ernährungssituation (Flagellatenmarker in den Lipiden).

Anhand von Feldproben- und Fütterungsexperimenten wurde ausserdem das Potential bestimmter Fettsäuren als Marker für Nahrungsbeziehungen untersucht. Im Herbst ist der Einfluss der Nahrung auf die Fettsäurezusammensetzung von juvenilen und adulten *E. superba* vernachlässigbar gering. Dies scheint nicht nur an den erniedrigten Fressraten und der reduzierten Stoffwechselaktivität zu liegen, wie in TP1 ermittelt wurde (Atkinson et al. 2002), denn auch Sommerproben von Stationen mit unterschiedlichen Phytoplanktongemeinschaften (= unterschiedliche Lipidsignaturen) wiesen keine signifikanten Unterschiede in ihren Fettsäuremustern auf. Es scheint, dass der größere Lipidspeicher des postlarvalen Krill kurzfristige, nahrungsbedingte Veränderungen stärker abpuffert, dass mit der Nahrung aufgenommene

Lipide in größerem Maße modifiziert werden und so ein bestimmtes Muster aufrechterhalten bleibt.

Bei Furcilien ist der Einfluss der Nahrung auf ihr Fettsäuremuster hingegen wesentlich stärker ausgeprägt. Hier konnten sowohl im Feldmaterial Unterschiede zwischen den Stationen beobachtet als auch in Fütterungsexperimenten Änderungen induziert werden.

In der Literatur werden oftmals verschiedene Fettsäuren zueinander ins Verhältnis gesetzt und als trophische Indizes verwendet (z.B. Cripps und Atkinson 2000). Solche Indizes sollten jedoch nur für den Vergleich von Individuen mit ähnlichem Lipidgehalt herangezogen werden, da in TP2 nachgewiesen werden konnte, dass die Fettsäurezusammensetzung der Tiere generell von ihrem Gesamtlipidgehalt abhängig ist.

### **Veröffentlichungen**

Die Ergebnisse der beiden Herbstexpeditionen mit FS „Polarstern“ (18.03.-08.06.1999 und 13.04.-07.05.2001) wurden bei der renommierten Fachzeitschrift „Limnology and Oceanography“ veröffentlicht. Ein weiteres Manuskript, das die Ergebnisse der Fettsäureanalysen aus allen drei Expeditionen (ANT 16/3+4, AMLR 2000 und Ant18/5b) in Beziehung zu trophischen Indizes stellt, wurde bei der Zeitschrift "Polar Biology" eingereicht und ist dort bereits im Druck. Eine dritte Veröffentlichung, die die aussergewöhnliche Bedeutung des Lecithins für polare Euphausiaceen darlegt, wird derzeit fertiggestellt und soll in Kürze bei der internationalen Fachzeitschrift „Marine Ecology Progress Series“ eingereicht werden. Ein Beitrag hierzu wurde von cand. rer. nat. Tobias Kreibich im Rahmen eines in der Arbeitsgruppe betreuten Projektes angefertigt; der Bericht hierzu liegt als Anlage bei.

Während der Sommerexpedition 2000 mit der amerikanischen Forschergruppe wurden anhand der Lipidzusammensetzung Untersuchungen zu ontogenetischen und reproduktionsbiologischen Prozessen der Lipidakkumulation und -mobilisierung durchgeführt. Die daraus resultierenden Erkenntnisse über die Rolle von Lipiden im Lebenszyklus des antarktischen Krill sollen in einer weiteren Veröffentlichung dargelegt werden. Darüber hinaus wurden während der drei Expeditionen Proben von drei weiteren Leuchtgarnelenarten genommen; die Ergebnisse hierzu sollen vergleichend zu *Euphausia superba* in einer weiteren Publikation dieses Teilprojekts veröffentlicht werden.

Die nachfolgende Liste gibt einen Überblick über die geplanten und erfolgten Veröffentlichungen mit Autoren, Titel und Name der Fachzeitschrift:

- Stübing D, Hagen W & Schmidt K (2003). On the use of lipid biomarkers in marine food web studies: An experimental case study on the Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Limnology and Oceanography* 48(4), 1685-1700
- Stübing D & Hagen W (im Druck). Fatty acid biomarker ratios – suitable trophic indicators in Antarctic euphausiids? *Polar Biology*
- Stübing D, Kreibich T & Hagen W. Energy storage via phosphatidylcholine (lecithine) in Antarctic euphausiids – biochemical and histochemical evidence of an unusual phenomenon. *Marine Ecology Progress Series*
- Stübing D & Hagen W. The influence of ontogenetic development and reproductive processes on the lipid biochemistry of *Euphausia superba*. *Marine Biology*
- Stübing D & Hagen W. Comparative studies on the lipid biochemistry of the Antarctic euphausiids *Euphausia frigida* and *E. triacantha*. *Polar Biology*
- Meyer B, Atkinson A, Stübing D, Oettl B, Hagen W & Bathmann UV (2002). Feeding and energy budgets of Antarctic krill *Euphausia superba* at the onset of winter – I. Furcilia III larvae. *Limnology and Oceanography* 47(4), 943-952
- Atkinson A, Meyer B, Stübing D, Hagen W, Schmidt K & Bathmann UV (2002). Feeding and energy budgets of Antarctic krill *Euphausia superba* at the onset of winter – II. Juveniles and adults. *Limnology and Oceanography* 47(4), 953-966
- Schmidt K, Voss M, Atkinson A, Stübing D, McClellan JW & Montoya JP (2003). Trophic relationships among Antarctic zooplankton: Some uses and limitations of a stable isotope approach. *Limnology and Oceanography* 48(1), 277-289

## Literatur

- Clarke, A., 1980. The biochemical composition of krill, *Euphausia superba* Dana, from South Georgia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 43, 221-236.
- Clarke, A., 1983. Life in cold water: the physiological ecology of polar marine ectotherms. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 21, 341-453.
- Clarke, A., 1984. Lipid content and composition of Antarctic krill, *Euphausia superba* Dana. *Journal of Crustacean Biology* 4 (Spec. Issue 1), 285-294.
- Cripps, G. C., Atkinson, A., 2000. Fatty acid composition as an indicator of carnivory in Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57 (Suppl. 3), 1-7.
- Cripps, G. C., Watkins, J. L., Hill, H. J., Atkinson, A., 1999. Fatty acid content of Antarctic krill, *Euphausia superba*, at South Georgia related to regional populations and variations in diet. *Marine Ecology Progress Series* 181, 177-188.
- Falk-Petersen, S., Hagen, W., Kattner, G., Clarke, A., Sargent, J., 2000. Lipids, trophic relationships, and biodiversity in Arctic and Antarctic krill. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57 (Suppl. 3), 178-191.
- Graeve, M., 1993. Umsatz und Verteilung von Lipiden in arktischen marinen Ökosystemen unter besonderer Berücksichtigung unterer trophischer Stufen. *Berichte zur Polarforschung* 124, 1-141.
- Graeve, M., Hagen, W., Kattner, G., 1994a. Herbivorous or omnivorous? On the significance of lipid compositions as trophic markers in Antarctic copepods. *Deep-Sea Research I* 41 (5/6), 915-924.
- Graeve, M., Kattner, G., Hagen, W., 1994b. Diet-induced changes in the fatty acid composition of Arctic herbivorous copepods: Experimental evidence of trophic markers. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 182, 97-110.
- Hagen, W., 1988. Zur Bedeutung der Lipide im antarktischen Zooplankton. *Berichte zur Polarforschung* 49, 1-129.

- Hagen, W., 1996. The role of lipids in the ecology of polar plankton and nekton - a synopsis. Habilitationsschrift, Univ. Kiel, pp. 124.
- Hagen, W., Kattner, G., 1998. Lipid metabolism of the Antarctic euphausiid *Thysanoessa macrura* and its ecological implications. *Limnology and Oceanography* 43 (8), 1894-1901.
- Hagen, W., Van Vleet, E. S., Kattner, G., 1996. Seasonal lipid storage as overwintering strategy of Antarctic krill. *Marine Ecology Progress Series* 134, 85-89.
- Kattner, G., Hagen, W., 1998. Lipid metabolism of the Antarctic euphausiid *Euphausia crystallorophias* and its ecological implications. *Marine Ecology Progress Series* 170, 203-213.
- Kirkwood, J. M., 1982. A guide to the Euphausiacea of the Southern Ocean. ANARE Research Notes 1, 1-45.
- Ligowski, R., 2000. Benthic feeding by krill, *Euphausia superba* Dana, in coastal waters off West Antarctica and in Admiralty Bay, South Shetland Islands. *Polar Biology* 23, 619-625.
- Mayzaud, P., 1997. Spatial and life-cycle changes in lipid and fatty acid structure of the Antarctic euphausiid *Euphausia superba*. In: Walton, D. W. H. (Eds.), *Antarctic Communities: Species, Structure and Survival*. Cambridge University Press, UK, Cambridge, pp. 284-294.
- Mayzaud, P., Albessard, E., Cuzin-Roudy, J., 1998. Changes in lipid composition of the Antarctic krill *Euphausia superba* in the Indian sector of the Antarctic Ocean: influence of geographical location, sexual maturity stage and distribution among organs. *Marine Ecology Progress Series* 173, 149-162.
- Mayzaud, P., Albessard, E., Virtue, P., Boutoute, M., 2000. Environmental constraints on the lipid composition and metabolism of euphausiids: the case of *Euphausia superba* and *Meganyctiphanes norvegica*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57 (Suppl. 3), 91-103.
- Nelson, M. M., Mooney, B. D., Nichols, P. D., Phleger, C. F., 2001. Lipids of Antarctic Ocean amphipods: food chain interactions and the occurrence of novel biomarkers. *Marine Chemistry* 73 (1), 53-64.
- Olsen, R. E., Henderson, R. J., Pedersen, T., 1991. The influence of dietary lipid classes on the fatty acid composition of small cod *Gadus morhua* L. juveniles reared in an enclosure in northern Norway. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 148, 59-76.
- Perissinotto, R., Gurney, L., Pakhomov, E. A., 2000. Contribution of heterotrophic material to diet and energy budget of Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Marine Biology* 136, 129-135.
- Phleger, C. F., Nelson, M. M., Mooney, B. D., Nichols, P. D., 2002. Interannual and between species comparison of the lipids, fatty acids and sterols of Antarctic krill from the US AMLR Elephant Island survey area. *Comparative Biochemistry and Physiology* 131 (B), 733-747.
- Pond, D., Priddle, J., Sargent, J., Watkins, J. L., 1993. Lipid composition of Antarctic microplankton in relation to the nutrition of krill. *Antarctic Special Topic*, 133-139.
- Quetin, L. B., Ross, R. M., 1991. Behavioral and physiological characteristics of the Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Amer. Zool.* 31, 49-63.
- Saether, O., Ellingsen, T. E., Mohr, V., 1986. Lipids of North Atlantic krill. *Journal of Lipid Research* 27, 274-285.
- Sargent, J. R., Henderson, R. J., 1995. Marine (n-3) polyunsaturated fatty acids. In: Hamilton, R. J. (Eds.), *Developments in oils and fats*. Blackie Academic and Professional, London, pp. 32-65.
- Sargent, J. R., Parkes, R. J., Mueller-Harvey, I., Henderson, R. J., 1987. Lipid biomarkers in marine ecology. In: Sleigh, M. A. (Eds.), *Microbes in the sea*. Ellis Horwood, Chichester, U.K., pp. 119-138.
- Torres, J. J., Donnelly, J., Hopkins, T. L., Lancraft, T. M., Aarset, A. V., Ainley, D. G., 1994. Proximate composition and overwintering strategies of Antarctic micronektonic Crustacea. *Marine Ecology Progress Series* 113, 221-232.
- Virtue, P., Nichols, P. D., Nicol, S., Hosie, G., 1996. Reproductive trade-off in male Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Marine Biology* 126, 521-527.
- Virtue, P., Nichols, P. D., Nicol, S., McMinn, A., Sikes, E. L., 1993. The lipid composition of *Euphausia superba* Dana in relation to the nutritional value of *Phaeocystis pouchetii* (Hariot) Lagerheim. *Antarctic Science* 5 (2), 169-177.