

Schlussbericht nach Nr. 3.2 BNBest-BMBF 98 des Verbundprojekt CHASE, WTZ Großbritannien

<p>Zahlungsempfänger: Carl von Ossietzky Universität Oldenburg Ammerländer Heerstraße 114-118 26129 Oldenburg</p>	<p>Förderkennzeichen: 03F0803A</p>
<p>Vorhabenbezeichnung: Verbundprojekt WTZ Großbritannien: CHASE - Chronobiologische Untersuchungen in einem sich verändernden arktischen Ökosystem (<u>C</u>hronobiology of changing <u>A</u>rctic <u>S</u>ea <u>E</u>cosystems)</p>	
<p>Laufzeit des Vorhabens: 01.08.2018 – 30.11.2021</p>	<p>Berichtszeitraum: 01.08.2018 – 30.11.2021</p>
<p>Ziel des Verbundprojektes: Das übergeordnete Ziel von CHASE war die Resilienz von Schlüsselarten des Zooplanktons, wie Calanus und Krill, gegenüber dem Klimawandel zu untersuchen.</p>	

I. Kurze Darstellung

I.1 Aufgabenstellung

Der Klimawandel hat zu einer fortschreitenden Erwärmung des arktischen Ozeans geführt, was Zooplanktonorganismen, die eine tragende Rolle in der Funktionalität des marinen Ökosystems in der Arktis spielen, zwingt ihren Lebensraum polwärts auszudehnen. Zu diesen Arten zählen die Copepodenart *Calanus finmarchicus*, im folgenden Calanus, und die Krillart *Thysanoessa inermis*, im folgenden Krill. Durch die Ausdehnung beider Arten in kältere Bereiche, polwärts, sind sie neuen und extremeren Tageslängen (Photoperioden) ausgesetzt - was sich, wie bei vielen terrestrischen Arten bekannt, negativ auf deren Fitness auswirken kann. Da diesbezüglich keine Daten von marinen Arten vorliegen war das Ziel von CHASE zu verstehen, wie Calanus und Krill, Schlüsselarten des arktischen Zooplanktons, auf diese photoperiodischen Veränderung in ihrem Lebenszyklus reagieren. Wir haben daraufhin das Verhalten, physiologische und genetische Prozesse in Calanus und Krill unter verschiedenen photoperiodischen Bedingungen untersucht und inwieweit diese Prozesse über eine endogene zirkadiane biologische Uhr gesteuert werden. Aus terrestrischen Bereichen ist bekannt, dass endogene Uhren eine zentrale Rolle bei der Messung der Tageslänge und somit bei der Steuerung wichtiger täglicher und saisonaler Ereignisse im Lebenszyklus von Organismen einnehmen. Im marinen Bereich ist unser Wissen diesbezüglich noch sehr rudimentär, jedoch zum Verständnis der Adaptationsfähigkeit/Resilienz von marinen Organismen gegenüber dem Klimawandel essentiell.

I.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

CHASE war eingebettet im bilateralen Förderschwerpunkt "Arktis im Wandel" (Changing Arctic Ocean), in dem Großbritannien und Deutschland erstmalig gemeinsame Wege in der Meeres- und Polarforschung beschritten haben. Im Rahmen von zwölf Forschungsprojekten sollte der Einfluss des Klimawandels auf den Arktischen Ozean untersucht werden. Das britische Natural Environment Research Council (NERC) und das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) finanzierten diese Forschung mit mehr als neun Millionen Euro.

In Großbritannien wurde das Projekt CHASE federführend vom Meeresforschungsinstitut Scottish Association for Marine Science (SAMS) bearbeitet und in Deutschland durch das Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM) an der Universität Oldenburg. Für die Durchführung der umfangreichen Forschungsarbeiten an der Universität Oldenburg stand bis auf die Grundausstattung der Hochschule weder Mittel noch Personal zur Verfügung um das Projekt durchführen zu können. Daher wurde für die gesamte Projektlaufzeit eine volle Wissenschaftlerstelle geschaffen, welche zu 100% vom BMBF finanziert wurden. Die für die Durchführung der Forschungsarbeiten notwendige Ausstattung sowie die Dienstreisen wurden ebenfalls über die bewilligten Projektmittel finanziert. Für die Bearbeitung der einzelnen Aufgaben konnte zudem auf die langjährige Erfahrung der Projektleitung sowie den Gesamtverbundpartnern zurückgegriffen werden.

Um die Rolle der endogenen Uhr bei der Strukturierung des Lebenszyklus von Calanus und Krill zu verstehen, konzentrierte sich das Verbundvorhaben auf vier Forschungsfragen (Q1-4) und die damit verbundenen wichtigsten Ziele und Ergebnisse (Deliverables = D):

Q1: Wie verändert sich das Verhalten und die metabolische Aktivität von Calanus und Krill in Abhängigkeit verschiedener Breitengrade in der Arktis?

D1.1: Bestimmung des Lichtspektrums und die Bestrahlungsstärke des täglichen und jahreszeitlichen Lichtregimes in Abhängigkeit vom Breitengrad im geplanten Barentssee-Transect- und Fjord-Messstationen (Ettveit, Isfjorden).

D1.2: Charakterisierung der Verhaltensphänotypen von Copepoden und Krill in Abhängigkeit von Breitengrad und Jahreszeit.

D1.3: Bestimmung der metabolischen Aktivität der identifizierten Verhaltensphänotypen in D.1.2.

D1.4: Charakterisierung des Lipidgehalts und der Lipidzusammensetzung von Copepoden und Krill in verschiedenen Breitengraden.

Q2: Was sind die Triebkräfte der Diapause und die Folgen eines photoperiodischen/thermischen Missverhältnisses bei Calanus?

D2.1: Bestimmung der Rolle von Lipidreserven und der Photoperiode bei der Diapause von Calanus.

D2.2: Bestimmung der Folgen von thermischen und photoperiodischen Ungleichgewichten für das Verhalten und die metabolische Aktivität von Calanus.

Q3: Welche Rolle spielt die zirkadiane Uhr als Treiber der saisonalen Phänologie von Calanus und Krill?

D3.1: Charakterisierung von physiologischen Leistungsindikatoren in Abhängigkeit von Umweltparametern (Photoperiode, Temperatur, Nahrungsangebot) bei Calanus und Krill.

D3.2: Erstellung von saisonalen Transkriptomen für Calanus und Krill.

D3.3: Detaillierte Charakterisierung der genetischen Mechanismen, die an der Einleitung/Beendigung der Diapause in Calanus beteiligt sind.

D3.4: Charakterisierung der jahreszeitlichen Phänologie von Krill auf genetischer Ebene in Abhängigkeit der Photoperiode in Bezug auf Uhren- und Uhr-Assoziierten-Genen.

Q4: Was sind die Folgen des Klimawandels für Copepoden und Krill in zukünftigen arktischen Klimaszenarien hinsichtlich ihres Lebenszyklus und ihrer saisonalen Dynamik ihrer Körper-Lipid- Akkumulation?

D4.1: Konstruktion von dynamischen Lebenszyklus-Modellen für Calanus und Krill in Hinblick auf photoperiodische/thermische Umweltveränderungen, die in verschiedenen polaren Breitengraden vorgefunden werden, und die zukünftigen Auswirkungen auf die Populationsentwicklung beider Arten.

I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Das CHASE-Projekt war eingebettet im Programm "Arktischer Ozean im Wandel" und stellte ein Verbundvorhaben im Rahmen der WTZ mit Großbritannien dar. In Großbritannien wurde das Projekt federführend vom Meeresforschungsinstitut Scottish Association for Marine Science (SAMS, Oban) bearbeitet, unter der Leitung von Dr. Kim Last (kim.last@sams.uk) und in Deutschland durch das Institut für Chemie und Biologie des Meeres (ICBM) an der Universität Oldenburg, unter der Leitung von Prof. Dr. Bettina Meyer (b.meyer@uni-oldenburg.de).

Das Forschungsvorhaben im Verbundprojekt erforderte eine enge Zusammenarbeit zwischen beiden Projektpartnern. Aufgrund der wissenschaftlichen Expertise beider Arbeitsgruppen (AGs) war die AG von Dr. Last federführend für die Beantwortung der wissenschaftlichen Fragestellungen Q1, Q2 und Q4 verantwortlich, während die AG von Prof. Dr. Meyer federführend für die Beantwortung von Teilaspekten in der Fragestellung Q2 verantwortlich war, wie der Frage des Treibers der Diapause von Calanus aus molekularer chronobiologischer Sicht und der Beantwortung der Fragestellung Q3.

I.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Biologische Uhren sind für alle lebenden Systeme von zentraler Bedeutung. Sie liefern ein Maß für die Zeit, so dass die Organismen zyklische Veränderungen in ihrer Umwelt vorhersehen und sich an sie anpassen können. Während die genetische Grundlage dieser Uhr bei terrestrischen Arten gut bekannt ist, sind unsere Erkenntnisse bei Meeresorganismen noch

sehr rudimentär. Neue Erkenntnisse deuten darauf hin, dass im Zooplankton zirkadiane Uhr-Gene Verhaltensmuster, wie die tägliche Vertikalwanderung und metabolische Aktivität (z. B. Sauerstoffverbrauch) steuern¹ und durch die Messung der Tageslänge kann die zirkadiane Uhr das Timing saisonaler Lebenszyklusprozesse von Zooplanktonorganismen synchronisieren, sowie wir es von terrestrischen Arten, wie den Vögeln, kennen. Der problematische Punkt hier ist, dass die Photoperiode, der entscheidende Steuermechanismus für die endogene Uhr und folglich der Phänologie von Organismen, in geophysikalischen Prozessen, wie der Rotation des Sonne-Erde-Mond-Systems ihren Ursprung hat, wodurch sie durch den Klimawandel unbeeinflusst bleibt.

Die durch den Klimawandel bedingten geografischen Populationsverschiebungen des Zooplanktons in höhere, kältere, Breitengrade kann dazu führen, dass Zooplanktonorganismen eine Diskrepanz erfahren von einerseits optimalen thermischen Bedingungen gegenüber ihrem sich erwärmenden Ursprungsgebiet, andererseits treffen sie potenziell ungünstigere Photoperioden an. Solche Diskrepanzen sind in der Arktis besonders ausgeprägt, da sich die photoperiodischen Bedingungen über kurze Breitengrade rasch ändern und ein starker Anstieg der Meerestemperatur vorhergesagt wird². Für das Zooplankton generell und spezieller Schlüsselarten des Zooplanktons, wie Calanus (*Calanus finmarchicus*) und Krill (*Thysanoessa inermis*), sind die Folgen derartiger Diskrepanzen bisher nicht bekannt. In dieser Hinsicht war das übergeordnete Ziel von CHASE zu untersuchen, inwieweit die Rhythmik der zirkadianen Uhr Verhaltensmuster und physiologische Prozesse von Schlüsselarten, wie Calanus und Krill, bestimmt, und deren Phänologie und Fitness durch eine sich zunehmend erwärmende Arktis und die damit bedingten Umweltveränderungen gestört werden, so dass es die Populationsentwicklung beider Arten negativ beeinflusst. Durch die zentrale Rolle von Calanus und Krill im arktischen Nahrungsgnetz könnten Populationsveränderungen beider Arten die funktionelle Biodiversität des arktischen Ökosystems maßgeblich beeinflussen, so dass das übergeordnete Ziel von CHASE von erheblicher Bedeutung für die Anpassungsfähigkeit von Calanus und Krill gegenüber dem Klimawandel in der Arktis ist.

Licht- und Temperaturveränderungen - Licht hat im terrestrischen Bereich verschiedene wesentliche Auswirkungen auf das Leben, von der Regulierung des Schlaf-Wach-Rhythmus bis hin zu den saisonalen Aktivitäts- und Reproduktionszyklen von Tieren und Pflanzen. Unser Verständnis der Rolle des Lichts im Arktischen Ozean konzentriert sich jedoch in erster Linie auf die photosynthetisch aktive Strahlung (PAR), welche die Produktivität des Phytoplanktons antreibt. Das extreme arktische Lichtklima mit Perioden permanenter Dunkelheit im Winter und permanentem Licht im Sommer ist jedoch auch für die Strukturierung der Lebenszyklen von Zooplanktonorganismen von entscheidender Bedeutung, insbesondere für diejenigen, die aufgrund ihrer autotrophen Ernährungsweise auf die saisonalen Phytoplanktonblüten angewiesen sind³. Da sich der Arktische Ozean aufgrund des Klimawandels erwärmt, nehmen die Ausdehnung und Dicke des Meereises sowie die Dauer der Meereisbedeckung ab, was zu Veränderungen im Lichtregime führt und das Eindringen von Licht in den Ozean verstärkt.

Infolgedessen müssen die Organismen wichtige Prozesse in ihrem Lebenszyklus an das frühere Eintreffen der Frühjahrsblüte, das spätere Eintreffen der Meereisbedeckung und die zunehmende Länge der Nahrungsverfügbarkeit anpassen³.

Gleichzeitig führt der Anstieg der Meerestemperaturen durch den Klimawandel dazu, dass Zooplanktonarten ihren Lebensraum in nördliche Richtung verlagern, um in einem günstigen Temperaturbereich zu bleiben oder neue Lebensräume zu nutzen. Dies wurde bereits bei Copepoden, wie *Calanus (Calanus finmarchicus)* und Krill (*Thysanoessa inermis*) nachgewiesen, die eine primäre Nahrungsquelle für Fische und Säugetiere darstellen und somit für das pelagische arktische Ökosystem von zentraler Bedeutung sind⁴. Durch die polwärts gerichtete Verlagerung ihres Verbreitungsgebiets sind die Organismen stärkeren saisonalen Schwankungen der Lichtintensität und der Photoperiode ausgesetzt. Es wird jedoch angenommen, dass wichtige saisonale Prozesse in ihrem Lebenszyklus, wie z. B. der Zeitpunkt der Diapause bei *Calanus* und die Überwinterungsprozesse von Krill, sowie die Fortpflanzung beider Organismen, in erster Linie durch die Photoperiode ausgelöst werden, was die Anpassung des Lebenszyklus an höhere Breiten möglicherweise einschränkt⁵.

Künftige, durch den Klimawandel bedingte geografische Verschiebungen werden daher dazu führen, dass diese Zooplanktonarten eine Diskrepanz zwischen der thermischen und der photoperiodischen Umgebung erfahren, deren Folgen bisher nicht kannt sind. Bekannt ist jedoch, dass eine Fehlanpassung zu Fitnessverlusten bei Landorganismen und Zooplanktonarten führt^{3,6}. **Unser Ziel war es daher, den Einfluss der thermischen/photoperiodischen Fehlanpassung auf das Verhalten, die Physiologie und die Genexpression von *Calanus* und Krill zu untersuchen.**

Tägliche Vertikalwanderung (DVM) und circadiane Uhren - In der Meeresumwelt konzentrieren sich die Auswirkungen von Licht und Photoperiode auf das Zooplankton in erster Linie auf die tägliche Vertikalwanderung (DVM), ein wichtiges Verhalten, das die Zooplankton-Populationen zeitlich und räumlich strukturiert und durch die Vermeidung von Raubtieren dient⁷. Die täglichen Wanderungen werden durch das Licht gesteuert⁸, wobei es in der Arktis synchronisierte Wanderungen im Herbst/Frühjahr und unsynchronisierte Wanderungen während der Mitternachtssonne gibt⁹. Jüngste Untersuchungen haben gezeigt, dass selbst außergewöhnlich niedrige Lichtstärken von Sonne oder Mond in hohen Breitengraden ausreichen, um die Wanderungen während der Polarnacht aufrechtzuerhalten¹⁰. Es gibt jedoch immer mehr Belege, dass die großen vertikalen Biomassewanderungen durch DVM nicht nur eine Reaktion auf wechselnde Lichtverhältnisse sind, sondern auch von einer endogenen, zirkadianen Uhr gesteuert werden¹. Der neue Konsens ist, dass die endogene, zirkadiane Zeitmessung wahrscheinlich den täglichen Verhaltens- und physiologischen Rhythmen zugrunde liegt, wobei die Messung der Photoperiode durch die endogene Uhr das Timing der saisonalen Lebenszykluseignisse (Phänologie) bestimmt. Letztlich ermöglicht dies den Organismen, günstige Umweltbedingungen optimal auszunutzen und ungünstige zu vermeiden³. Bei terrestrischen Organismen, insbesondere bei Insekten, spielt die Photoperiode eine zentrale Rolle bei der

Induktion der Diapause¹¹. **Unser Ziel war es daher, die Auswirkungen des extremen photoperiodischen Klimas der Arktis auf die tägliche und saisonale Expression von Genen zu bestimmen, die im Lebenszyklus von Calanus und Krill eine entscheidende Rolle spielen (z.B. Wachstum, Fortpflanzung, Lipidakkumulation, Diapause, Funktionalität der endogenen Uhr)**

Photoperiodische Kontrolle des Lebenszyklus (Phänologie) - Das mechanistische Wissen darüber, wie die Photoperiode wichtige phänologische Ereignisse des marinen Zooplanktons reguliert, ist rudimentär. Trotz mehr als hundert Jahren Forschung sind die Auslöser für die Diapause bei calanoiden Copepoden, die eine wesentliche Lebensphase für boreale und arktische Arten darstellt, nach wie vor unbekannt^{7,13-15}. Darüber hinaus sind die Prozesse, welche die Eireifung und die saisonale Lipiddynamik sowohl bei Calanus als auch bei Krill steuern, noch nicht vollständig geklärt^{13,16-18} und auch die Rolle der zirkadianen Uhr bei der Regulierung phänologischer Prozesse in Krill und Calanus ist nicht bekannt, obwohl sie für verschiedene terrestrische Arten, insbesondere Insekten, gut beschrieben sind¹⁹. **Unser Ziel war es daher zu untersuchen, inwieweit eine endogene Uhr in Calanus und Krill wichtige Lebensprozesse in beiden Arten steuert.**

I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Zur Realisierung der definierten Arbeitsziele war in der gesamten Projektlaufzeit eine enge Zusammenarbeit zwischen den beiden Projektpartnern in Großbritannien und Deutschland notwendig. Zum fachlichen Abgleich und zur Bewertung der Zwischenergebnisse in der laufenden Forschung wurden regelmäßige Online-Konferenzen unter Teilnahme der Verbundprojektleitung und den Mitarbeitern aus den beiden Teilprojekten durchgeführt. Darüber hinaus wurden die Forschungsarbeiten in unserem deutsch/britischen Verbundvorhaben mit folgenden Kooperationspartnern fachlich begleitet:

Prof. Dr. David Pond, SAMS

Prof. Dr. Finlo Cottier, SAMS

Prof. Dr. Jonathan Cohen University of Delaware

Prof. Dr. Jørgen Berge, Arctic University of Norway, Tromsø (UiT) und UNIS

Prof. Dr. Janne Søreide, University Centre in Svalbard (UNIS)

Dr. Malin Daase, UiT

Prof. Dr. David Wilcockson, Aberystwyth University

Dr. Sören Häfker Universität Wien

Prof. Dr. Geraint Tarling, British Antarctic Survey (BAS)

II. Eingehende Darstellung

II.1 Verwendung der Zuwendung und des erzielten Ergebnisses im Einzelnen, mit Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele

Biologische Uhren sind für alle lebenden Systeme von zentraler Bedeutung. Sie liefern ein Maß für die Zeit, so dass die Organismen zyklische Veränderungen in ihrer Umwelt vorhersehen und sich an sie anpassen können, wie z. B. die saisonale Futterverfügbarkeit in polaren Regionen. Während die genetische Grundlage dieser Uhr bei Landlebewesen gut bekannt ist, wissen wir bei Meeresorganismen, einschließlich wichtiger Zooplanktonarten, wie Calanus und Krill, kaum etwas über ihre Funktionalität und wie sie wichtige Lebensprozesse von Meeresorganismen steuert. Durch die Messung der Tageslänge synchronisiert die zirkadiane Uhr das Timing der täglichen, aber auch der saisonalen Ereignisse im Lebenszyklus dieser Organismen als Reaktion auf die Hell-Dunkel-Zyklen der Sonne bzw. die jährlichen Veränderungen der Tageslichtdauer (Photoperiodismus). Der problematische Punkt hier ist, dass die Photoperiode, der entscheidende Steuermechanismus für die endogene Uhr und folglich der Phänologie von Organismen, in geophysikalischen Prozessen, wie der Rotation des Sonne-Erde-Mond-Systems ihren Ursprung hat, wodurch sie durch den Klimawandel unbeeinflusst bleibt.

Die Arktis ist durch mehrere Monate permanenter Helligkeit im Sommer, sowie Dunkelheit im Winter gekennzeichnet, mit unklaren Auswirkungen auf die Funktion der zirkadianen Uhr. Darüber hinaus werden durch den Klimawandel bedingte geografische Verschiebungen von Zooplanktonarten polwärts dazu führen, dass die Organismen neuen, extremen Photoperioden ausgesetzt sind, mit bisher unbekanntem Folgen für ihren Lebenszyklus und ihre Populationsetwicklung. Um zu verstehen, wie sich der Arktische Ozean und seine Ökosysteme verändern, war das Ziel von CHASE zu untersuchen, wie anpassungsfähig Zooplanktonorganismen wie Calanus und Krill, die eine tragende Rolle in der funktionellen Biodiversität in der Arktis spielen, gegenüber dem Klimawandel sind. Dementsprechend bestand **das Hauptziel des deutschen Teils des CHASE-Projekts darin, die Rolle der zirkadianen Uhr als Treiber der täglichen und saisonalen Phänologie von Calanus (*C. finmarchicus*) und Krill (*T. inermis*) zu untersuchen (Q3).**

Um dies umzusetzen haben wir die täglichen (i) und saisonalen (ii) molekularen Rhythmen in Calanus in Abhängigkeit von Umweltparametern untersucht, sowie genetische Mechanismen identifiziert, die Zusammenhänge aufzeigen, inwieweit die Phänologie von Calanus mit der Photoperiode und der zirkadianen Uhr in Verbindung steht (iii).

Unsere Untersuchungen von täglichen molekularen Rhythmen von Calanus in Abhängigkeit von Umweltparametern (i) haben gezeigt, dass selbst extrem schwache tägliche Lichtveränderungen im Hochsommer ausreichen, um die biologischen Prozesse von Schlüsselarten wie *C. finmarchicus* zu regulieren.

Solare Hell-Dunkel-Zyklen und saisonale Photoperioden untermauern die täglichen und jährlichen Rhythmen des Lebens auf der Erde. Die Arktis ist jedoch durch eine mehrmonatige Dauerbeleuchtung ("Mitternachtssonne") gekennzeichnet. Zwar haben begrenzte Studien gezeigt, dass mehrere arktische Arten während der Mitternachtssonne einen 24-Stunden-Aktivitätsrhythmus aufweisen⁴¹, doch wie die zirkadiane Uhr ohne offensichtliche Tag-/Nachtzyklen gesteuert wird, ist unbekannt und wird derzeit diskutiert^{412,43}. Um die Robustheit der molekularen 24-Stunden-Rhythmen während der Mitternachtssonne zu bestimmen, haben wir *Calanus* in der Nähe der Sommersonnenwende an einer südlichen (74,5° N) meereisfreien und einer nördlichen (82,5° N) meereisbedeckten Station beprobt. Die Sommersonnenwende ist die Zeit der Mitternachtssonne mit der geringsten tageszeitlichen Oszillation der Lichtintensität und des höchsten Sonnenstandes im Jahresverlauf. Wir untersuchten die Expression von Uhr-Genen mit quantitativer Real-Time-PCR⁴⁴ und erstellten ein tägliches Transkriptom von *C. finmarchicus* an beiden arktischen Stationen⁴⁵⁻⁴⁸. Die mRNAs der 42 Proben wurden mit durchschnittlich 126 ± 5 Millionen Reads (Mittelwert \pm SE) pro Probe sequenziert und an das Referenztranskriptom von Lenz et al. (2014)²⁴ angeglichen. Wir haben die Qualitätsbewertung der Datensätze und das vollständige Annotationsverfahren detailliert beschrieben und die resultierenden Datensätze vollständig verfügbar gemacht, was die Möglichkeit bietet, die tägliche Genexpression dieser ökologisch wichtigen Art in hohen arktischen Breiten zu untersuchen⁴⁵⁻⁴⁷. Wir konnten zeigen, dass im Feld unter diesen extremen photischen Bedingungen eine tägliche Genexpression der zirkadianen Uhr und ein weitgehend rhythmisches tägliches Transkriptom existieren^{44,48}. Diese Ergebnisse zeigen, dass sehr schwache Lichtsignale (Sonne immer über dem Horizont) ausreichen, um Organismen zu steuern. Darüber hinaus werden in extrem hohen Breiten und unter Meereis Uhr-Gen- und Transkriptom-Oszillationen so umorganisiert, dass sie <24h-Rhythmen umfassen^{44,48}. Die Synchronisation der Organismen mit ihrer Umwelt kann daher so moduliert werden, dass sie nichtphotische Signale (z. B. Gezeitenzyklen) einschließt. Die Fähigkeit des Zooplanktons, durch extrem schwache Tages- und möglicherweise Gezeitenzyklen synchronisiert zu werden, könnte eine adaptive zeitliche Reorganisation biologischer Prozesse in hohen Breitengraden bewirken. Schließlich deuten tägliche und ultradiane Oszillationen wichtiger Stoffwechselprozesse (z. B. Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel oder Proteolyse) stark auf das Fortbestehen von Fütterungs- und Atmungsrythmen während der Mitternachtssonne hin, was möglicherweise wichtige ökologische Konsequenzen für trophische Interaktionen und biogeochemische Prozesse hat.

Mit unseren Untersuchungen zur Identifizierung saisonaler molekularer Rhythmen in *Calanus* in Abhängigkeit von Umweltparametern (ii) haben wir mit dem generierten saisonalen Transkriptom von *Calanus* aus dem Feld eine hochwertige Ressource für die Untersuchung anueller transkriptomischer Rhythmen dieser Art unter Feldbedingungen geschaffen.

Wie viele andere Tiere in hohen Breitengraden haben Copepoden, wie *Calanus*, einen programmierten Entwicklungsstillstand, die sogenannte Diapause, entwickelt, um mit langen

Perioden begrenzten Nahrungsangebots zurechtzukommen, während Wachstum und Fortpflanzung zeitlich so abgestimmt sind, dass sie von saisonalen Spitzen in der Primärproduktion profitieren¹³. Die anthropogene Erwärmung führt jedoch zu Veränderungen des Zeitpunkts der Phytoplanktonblüte, was auf phänologische Fehlentwicklungen mit negativen Folgen für das Ökosystem des Nordatlantiks hindeutet⁴⁹. Während die Mechanismen der Diapause hauptsächlich bei terrestrischen Arthropoden, insbesondere bei Labormodellarten wie der Fruchtfliege *Drosophila*, untersucht werden, sind die molekularen Untersuchungen der Jahresrhythmen bei wildlebenden marinen Arten noch lückenhaft¹³. Im Rahmen des CHASE-Projekts haben wir eine stringente, einjährige monatliche Probenahmekampagne von *C. finmarchicus* in einem schottischen Loch (UK; 56,45°N, 5,18°W) durchgeführt, um ein jährliches Transkriptom zu erstellen⁵⁰. Die mRNA von 36 Proben (monatliche Triplikate von 25 Individuen) wurde mit einer durchschnittlichen Tiefe von 137 ± 4 Millionen Reads (Mittelwert \pm SE) pro Probe tief sequenziert, an das Referenztranskriptom von Lenz et al. (2014)²⁴ angeglichen und gefiltert. Wir haben die Qualität der Datensätze detailliert bewertet und eine hochwertige Ressource für die Untersuchung jährlicher transkriptomischer Rhythmen (35.357 Komponenten) in einer wildlebenden, diapausierenden palagischen Schlüsselart bereitgestellt⁵⁰ und die Datensätze vollständig verfügbar gemacht^{51,52}. Die (in Arbeit befindliche) Analyse des saisonalen Transkriptoms zeigt eine tiefgreifende saisonale Regulierung des Transkriptoms, wobei mehr als 90 % der Gene signifikante jährliche Rhythmen aufweisen. Gene, die vor, während und nach der Diapause exprimiert werden, werden identifiziert, und die jährliche Expression von Genen der zirkadianen Uhr wird auf der Grundlage von RNA-Sequenzierungs- und quantitativen Real-Time-PCR-Ergebnissen untersucht. Die molekularen Ergebnisse werden im Lichte der monatlichen Ergebnisse der Zusammensetzung der Gemeinschaftsstadien, der Größe der Individuen und der Umweltparameter diskutiert. Der Artikel, der diese Ergebnisse beschreibt, ist in Vorbereitung.

Wir haben ein Lichtexperiment im Labor durchgeführt, um ein mechanistisches Verständnis darüber zu erlangen, wie die Phänologie von *C. finmarchicus* mit der Photoperiode in Verbindung mit der zirkadianen Uhr zusammenhängt (iii).

Die Messung der Tageslänge durch die zirkadiane Uhr ist entscheidend für die Synchronisierung der Jahresrhythmen⁶¹. Das mechanistische Wissen darüber, wie die zirkadiane Uhr und die Photoperiode wichtige phänologische Ereignisse von marinen Zooplanktonarten regulieren, ist jedoch rudimentär. Wir haben ein Laborexperiment durchgeführt, um zu charakterisieren, wie die zirkadiane Uhr in der Lage ist, die Photoperiode entsprechend der Jahreszeit zu verfolgen und physiologische Prozesse wie das Verhalten zu steuern. Zu diesem Zweck haben wir die Auswirkungen der Tageslänge (konstante Dunkelheit vs. kurzer Tag vs. langer Tag) auf die zirkadiane Uhr und den täglichen Verhaltensrhythmus von Copepoden in zwei verschiedenen Jahreszeiten experimentell getestet. Die beiden Jahreszeiten wurden so gewählt, dass sie mit zwei sehr unterschiedlichen physiologischen Stadien der Copepoden übereinstimmen: aktiv während des Frühlingsexperiments, in

Diapause während des Herbstexperiments. Wir führten diese Experimente an der SAMS in Schottland durch, die von Dr. Kim Last geleitet wird. Das Verhalten der Organismen wurde kontinuierlich mit einem Infrarot-Detektionssystem (TriKinetic) gemessen, das wir so angepasst haben, dass es Organismen auf zwei Ebenen von einer 48 cm hohen Wassersäule erkennt. Dieses System hat sich bei der Erfassung des täglichen vertikalen Bewegungsverhaltens von Copepoden als effektiv erwiesen. Mit Hilfe der quantitativen Echtzeit-PCR-Technik untersuchten wir die Gene der zirkadianen Uhr unter den unterschiedlichen Lichtverhältnissen in den beiden Jahreszeiten. Die Proben wurden erfolgreich verarbeitet. Die Auswertung der Ergebnisse dieser Studie ist noch nicht abgeschlossen. Die Ergebnisse zeigen, dass der Laboransatz für die Untersuchung der Funktion und Synchronisierung der zirkadianen Uhr und des Tagesverhaltens durch Licht geeignet ist. Der Artikel, der diese Ergebnisse beschreibt, ist in Vorbereitung.

II.2 Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Im deutschen Teil des Verbundprojekt CHASE ist der wesentliche Teil der Kosten durch Personalausgaben in der Position 0812 – Beschäftigte (E12-15) entstanden. An zweiter Stelle folgten Ausgaben für die Position 0835 - Vergabe von Aufträgen, welche für die Sequenzierung der täglichen Calanus und Krill Transkriptome entstanden ist, sowie für die Sequenzierung des saisonalen Calanus Transkriptoms. Es folgten die Ausgaben für Dienstreisen (Position 0834) um die bei unserem englischen Kooperationspartner am SAMS, in Oban, geplanten Laborexperimente mit Calanus zu realisieren sowie die geplanten Expeditionen in die Arktis durchzuführen. Der letzte wichtige Ausgabenpunkt stellen die Verbrauchsmittel dar (Position 0843), die in erster Linie durch die kostenintensiven molekularen Arbeiten entstanden sind.

II.3 Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die geleistete Arbeit mit den verwendeten Ressourcen entsprach der im Projektantrag formulierten Arbeits- und Ressourcenplanung und sind daher als notwendig und angemessen zu beurteilen, da alle wesentlichen, im Arbeitsplan formulierten Aufgaben erfolgreich bearbeitet wurden.

II.4 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Das CHASE-Projekt hat wesentlich zu unserem Verständnis des Lichtklimas in hohen Breitengraden und der damit verbundenen biologischen Reaktionen während der Polarnacht beigetragen. Die enge Zusammenarbeit zwischen vielen CHASE-Partnern hat zu dem Buch "Polar Night Marine Ecology" geführt, bei dem das CHASE-Team entweder federführend war oder zu mehreren Kapiteln beigetragen hat⁵³. Die wichtigste Erkenntnis ist, dass die Sonnen- und Mondzyklen der Dämmerung auch dann biologisch relevant sind, wenn die Sonne zur Mittagszeit unter dem Horizont steht. So hat unsere Arbeit an wanderndem Krill während des

Winters gezeigt, dass die solaren/lunaren Oszillationen ausreichen, um zirkadiane Veränderungen der visuellen Empfindlichkeit zu bewirken, die bei Räuber-Beute-Interaktionen von ökologischer Bedeutung sind⁵⁴. Wir zeigen außerdem, dass die Photoperiode generell eine wichtige Rolle bei der Schwimmaktivität von *Calanus* spielt und dass die Lichtempfindlichkeit mit zunehmendem Breitengrad abnimmt, eine Reaktion, die durch das Geschlecht⁵⁵, das Lebensstadium und die Art moduliert wird und bei der die saisonale Bestrahlungsstärke des Sonnenlichts die Tiefe des Zooplanktons steuert, was Auswirkungen auf die Anfälligkeit gegenüber visuellen Räubern hat⁵⁶.

Das CHASE-Projekt zielte schon immer darauf ab, das Verhalten mit der Genexpression zu verknüpfen, was nun in mehreren Veröffentlichungen und Datenarchivbeiträgen realisiert wurde. Beim Übergang von der Polarnacht zur Mitternachtssonne haben wir detailliert nachgewiesen, dass die täglichen Transkriptomrhythmen in *C. finmarchicus* fortbestehen, was darauf hindeutet, dass auch die subtilen Lichtveränderungen in Jahreszeiten mit extremen photischen Bedingungen ausreichen, um die Uhr zu stellen und tägliche biologische Prozesse aufrechtzuerhalten^{44,45,48}. Darüber hinaus sind in sehr hohen Breitengraden die zeitenabhängigen Transkriptomrhythmen fast so zahlreich wie die täglichen Rhythmen unter dem Meereis, was die Plastizität/Anpassungsfähigkeit der rhythmischen Genexpression bei dieser Art offenbart. Wir zeigen, dass rhythmische Transkripte an allen wichtigen Stoffwechselprozessen beteiligt sind, was auf das Fortbestehen physiologischer Rhythmen (z. B. Fressen und Atmung) mit potenziell wichtigen ökologischen Folgen für trophische Interaktionen und biogeochemische Prozesse schließen lässt.

Wir arbeiten weiter an den saisonalen transkriptomischen Zyklen in der leicht zugänglichen lokalen Population von *C. finmarchicus* in Loch Etive und verfügen nun über qualitativ hochwertige Daten, die eine tiefgreifende Umstrukturierung der Genexpression zwischen dem aktiven und dem Diapausenstadium von *C. finmarchicus* zeigen (Payton et al. in Bearbeitung). Diese Daten spiegeln sich in den Ergebnissen von Verhaltensbeurteilungen in hohen Breitengraden (Framstraße) wider, was darauf schließen lässt, dass die Ergebnisse nicht spezifisch für Loch Etive sind⁵⁷. Ein umfassendes Verständnis der saisonalen Transkriptomregulierung bei dieser Art wird letztlich den Weg zur Entschlüsselung des Auslösers der Diapause ebnen.

Schließlich haben wir einen Großteil der Daten zusammengeführt und ein dynamisches Optimierungsmodell für die Lebensgeschichte von *C. finmarchicus* entwickelt, um zu verstehen, wie das Überleben maximiert werden kann. Die Entscheidungen basieren auf empirischen Beobachtungen (Bestrahlungsstärke, Nahrungsverfügbarkeit und Prädationsrate), wobei die wichtigsten Parameter innerhalb des Modells variiert werden können, um höhere polare Breitengrade zu repräsentieren, aber unter Beibehaltung des gleichen thermischen Regimes, d. h. Änderungen der Bestrahlungsstärke oder des Zeitpunkts der Frühjahrsblüte mit Sensitivitätsanalysen zur Stoffwechselrate in Ruhe. Letztendlich wird das Modell es uns ermöglichen, die vertikale Verteilung und den Zeitpunkt des Beginns der

Diapause für einzelne Copepoden im CV-Stadium als Funktion des inneren Zustands, der Lebensgeschichte und der Umwelt vorherzusagen.

II.5 Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordenen Fortschritts auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

keine

II.6 Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Im Projektzeitraum erfolgte Veröffentlichungen des deutschen Projektpartners:

Payton, L., Noirot, C., Last, K.S., Grigor, J., Hüppe, L., Conway, D.V.P., Dannemeyer, M., Suin, A., and Meyer, B. (2022). Annual transcriptome of a key zooplankton species, the copepod *Calanus finmarchicus*. *Ecology and Evolution*, 12, 2. <https://doi.org/10.1002/ece3.8605>

Meyer, B., Hüppe, L. and Payton, L. (2021) Timing requires the right amount and type of light. *Nature Ecology & Evolution, News and Views*. <http://doi.org/10.1038/s41559-020-01373-0>

Payton, L., Hüppe, L., Noirot, C., Hoede, C., Last, K.S., Wilcockson, D., Ershova, E., Valière, S., and Meyer, B. (2021). Widely rhythmic transcriptome in *Calanus finmarchicus* during the high Arctic summer solstice period. *iScience*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101927>

Payton, L., Noirot, C., Hoede, C., Hüppe, L., Last, K., Wilcockson, D., Ershova, E.A., Valière, S., and Meyer, B. (2020). Daily transcriptomes of the copepod *Calanus finmarchicus* during the summer solstice at high Arctic latitudes. *Scientific Data*, 7, 415. <https://doi.org/10.1038/s41597-020-00751-4>

Hüppe, L., Payton, L., Last, K., Wilcockson, D., Ershova, E., and Meyer, B. (2020). Evidence for oscillating circadian clock genes in the copepod *Calanus finmarchicus* during the summer solstice in the high Arctic. *Biology Letters*, 16, 20200257. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2020.0257>

Noch geplante Veröffentlichungen for 2022 und darüber hinaus:

Payton, L., Last, K.S., Noirot, C., Grigor, J., Hüppe, L., Conway, D.V.P., Dannemeyer, M., and Meyer, B. Deep annual transcriptomic regulation revealed in a key zooplanktonic species.

Payton, L., Hüppe, L., Meyer, B., Grigor, J., and Last, K.S. Active and diapausing behaviour and clock genes expression of *C. finmarchicus* in the lab.

Payton, L., Bahlburg, D., Daase, M., and Meyer, B., & Last, K.S. Investigation of the circadian clock gene expression in the northern krill during the high Arctic polar night.

Datensätze:

Payton, L., Noirot, C., Last, K.S., Grigor, J., Hüppe, L., Dannemeyer, M., Suin, A., and Meyer, B. (2022). BioProject PRJNA734260. Deep sequencing of the annual transcriptome of a key zooplanktonic species: The copepod *Calanus finmarchicus*. NCBI Sequence Read Archive. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/734260>

Payton, L., Noirot, C., Last, K.S., Grigor, J., Hüppe, L., Dannemeyer, M., Suin, A., and Meyer, B. (2022). Deep sequencing of the annual transcriptome of a key zooplanktonic species: The copepod *Calanus finmarchicus*. Figshare. Collection. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.5450397>

Payton, L., Noirot, C., Hoede, C., Hüppe, L., Last, K., Wilcockson, D., Ershova, E.A., Valière, S., and Meyer, B. (2020). BioProject PRJNA628886. *Calanus finmarchicus* transcriptome during the Arctic summer solstice. NCBI Sequence Read Archive. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA628886>

Payton, L., Noirot, C., Hoede, C., Hüppe, L., Last, K., Wilcockson, D., Ershova, E.A., Valière, S., and Meyer, B. (2020). Daily transcriptomes of the copepod *Calanus finmarchicus* during the summer solstice at high Arctic latitudes. Figshare. Collection. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.5127704.v1>

Vorträge auf Konferenzen:

November 2021. « CAO End of Programme Events », online.

Talk: « Molecular rhythms in key Arctic zooplankton species, CHASE project results » Payton *et al.*

November 2021. « Sea-ice seminar », Alfred Wegener Institute, Germany, online.

Talk: « The circadian clock and transcriptomic rhythms in a key zooplankton species during the high Arctic summer solstice » Payton *et al.*

October 2021. 47th congress of the Francophone Society of Chronobiology (SFC 2021), Bordeaux, France.

Talk (*in french*): « L'horloge circadienne et les rythmes transcriptomiques chez une espèce zooplanctonique clé pendant le jour polaire Arctique. » Payton *et al.*

October 2021. Seminar for the « Arctic Seasonal Timekeeping Initiative (ASTI) » group, UiT the Arctic University of Norway, Tromsø, Norway, online, open access.

Talk: « The circadian clock and transcriptomic rhythms in a key zooplankton species during the high Arctic summer solstice » Payton *et al.*

March 2021. Congress « Arctic Science Summit Week 2021 », Lisbon, Portugal, online.

Talk: « Widely rhythmic transcriptome in *Calanus finmarchicus* during the high Arctic summer solstice. » Payton *et al.*

January 2020. « Changing Arctic Ocean annual science meeting », Postdam, Germany.
Talk: «Chronobiology of changing Arctic Sea Ecosystems (CHASE). CHASEing Arctic Copepods & Krill » Meyer *et al.*
Poster: « Circadian clock gene oscillations of *Calanus finmarchicus* during the Arctic Midnight Sun. » Hüppe *et al.*

Publication of conference summary (French):

Payton, L., Hüppe, L., Noirot, C., Hoede, C., Last, K., Wilcockson, D., Ershova, E., Valière, S., and Meyer, B. (2021). L'horloge circadienne et les rythmes transcriptomiques chez une espèce zooplanctonique clé pendant le jour polaire Arctique. *Médecine Sommeil* 18, 192–193.
<https://doi.org/10.1016/j.msom.2021.10.020>

III. Erfolgskontrollbericht

Gesonderte Anlage

IV. Berichtsblatt Teilprojekt 1

Gesonderte Anlage

Referenzen

- 1 Häfker, NS et al. *Curr. Biol.* 27, 2194-2201 (2017).
- 2 Dillon, ME et al. *Nature* 467, 704-706 (2010).
- 3 Søreide, J et al. *Global Change Biol.* 16, 3154-3163 (2010).
- 4 Murphy, EJ et al. in *Proc. R. Soc. B.* 20161646 (The Royal Society).
- 5 Tarrant, AM et al. *Frontiers in zoology* 11, 91 (2014).
- 6 Emerson, KJ et al. *Evolution* 62, 979-983 (2008).
- 7 Brierley, AS *Curr. Biol.* 24, 1074-1076 (2014).
- 8 Gibson, R et al. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 47, 77-110 (2009).
- 9 Cottier, FR et al. *Limnol. Oceanogr.* 51, 2586-2599 (2006).
- 10 Last, KS et al. *Curr. Biol.* 26, 244-251 (2016).
- 11 Hut, RA et al. *Proc R Soc Lond, Ser B: Biol Sci* 280, 20130433 (2013).
- 12 Berge, J et al. *Prog. Oceanogr.* 139, 258-271 (2015a).
- 13 Baumgartner, MF & Tarrant, AM. *Annual review of marine science* 9, 387-411 (2017).
- 14 Hirche, H-J. *Ophelia* 44, 129-143 (1996).
- 15 Marcus, NH. *The Biological Bulletin* 162, 45-52 (1982).
- 16 Brown, M et al. *J. Plankton Res.* 33, 821-826 (2010).
- 17 Meyer, B & Teschke, M. in *Biology and ecology of the Antarctic krill (Euphausia superba Dana, 1851) Vol. 9, 145-174 (Springer, 2016).*
- 18 Teschke, M et al. *PloS one*, e26090 (2011).
- 19 Meuti, ME & Denlinger, DL. *Integr. Comp. Biol.*, 131-143 (2013).
- 20 Watson, NH & Smallman, B. *Canadian Journal of Zoology* 49, 855-862 (1971).
- 21 Falk-Petersen, S et al. *Mar. Biol. Res.* 5, 18-39 (2009).
- 22 Nielsen, TG et al. *Mar. Biol.* 161, 1299-1306 (2014).
- 23 Lindeque, P et al. *J. Plankton Res.* 28, 221-238 (2006).
- 24 Lenz, PH et al. *PloS one* 9, e88589 (2014).

- 25 Hunt, BJ et al. *Ecology and Evolution* (2017).
- 26 Meyer, B *Nature Ecology & Evolution* 1, 1853-1861 (2017).
- 27 Sales, G et al. *PloS one* 12, e0171908 (2017).
- 28 Bingham, C et al. *Chronobiologia* 9, 397-439 (1982).
- 29 Berge, J et al. *Biol. Lett.* 5, 69-72 (2009).
- 30 Kauranen, H et al. *J. Insect Physiol.* 89, 9-18 (2016).
- 31 Mayzaud, P & Conover, R. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 289-302 (1988).
- 32 Vogedes, D et al. *J. Plankton Res.* 32, 1471-1477 (2010).
- 33 Rey-Rassat, C et al. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 238, 301-306 (2002).
- 34 Bradshaw, WE & Holzapfel, CM. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, 14509-14511 (2001).
- 35 Tyukmaeva, VI et al. *Ecology and evolution* 1, 160-168 (2011).
- 36 Meyer, B et al. *Molecular ecology resources* 15, 1460-1471 (2015).
- 37 McNamara, JM & Houston, AI. *J. Theor. Biol.* 117, 231-249 (1985).
- 38 Clark, CW & Mangel, M. *Dynamic state variable models in ecology: methods and applications.* (Oxford University Press on Demand, 2000).
- 39 Groeneveld, J et al. *Ecol. Model.* 303, 78-86 (2015).
- 40 Stillman, RA et al. *Bioscience* 65, 140-150 (2015).
- 41 Blix, AS. *J. Exp. Biol.* 219, 1093–1105 (2016).
- 42 Abhilash, L et al. *Biol. Rhythm Res.* 48, 677–691 (2017).
- 43 Schmal, C et al. *Front. Physiol.* 11 (2020).
- 44 Hüppe, L et al. *Biol. Lett.* 16, 20200257. (2020).
- 45 Payton, L et al. *Sci. Data* 7, 415. (2020a).
- 46 Payton, L et al. Figshare. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.5127704> (2020b).
- 47 Payton, L et al. BioProject PRJNA628886. NCBI Sequence Read Archive (2020c).
- 48 Payton, L et al. *IScience* 24 (2021).
- 49 Kharouba, HM & Wolkovich, EM. *Nat. Clim. Change* 10, 406–415 (2020).
- 50 Payton, L et al. *Ecol. Evol.* 12 (2022a).
- 51 Payton, L et al. Figshare. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.5450397> (2022b).
- 52 Payton, L et al. BioProject PRJNA734260. NCBI Sequence Read Archive (2022c).
- 53 Berge, J et al. *Polar Night marine biology* Vol. 4 Springer Nature (2020).
- 54 Cohen, JH et al. *PLoS Biol* 19(10) e3001413 (2021).
- 55 Daase, M J et al. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 607, 53-69 (2018).
- 56 Hobbs, L et al. *Biol. Lett* 17, 20200810 (2021).
- 57 Grigor J et al. *Frontiers in Marine Science* in press (2022).