

Aus dem Leibniz-Institut für Meereswissenschaften  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

# **Einfluss der Nahrung auf die Fettsäure- und Isotopensignatur des Gemeinen Tintenfisches, *Sepia officinalis***



## **Diplomarbeit**

vorgelegt von

**Nicole Hielscher**

im Oktober 2007

**Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der  
Christian-Albrechts-Universität Kiel**



<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>7</b>
2.1	GENERELLES KONZEPT .....	7
2.1.1	Vorstellung der Untersuchten Arten.....	7
2.1.1.1	<i>Sepia officinalis</i> (Linnaeus, 1758).....	7
2.1.2	Vorstellung der Futterorganismen .....	9
2.1.2.1	<i>Paramysis nouveli</i> (Labat, 1953) .....	9
2.1.2.2	<i>Palaemonetes varians</i> (Leach, 1814) .....	10
2.1.2.3	<i>Gobius sp.</i> .....	10
2.1.2.4	<i>Atherina sp.</i> .....	11
2.1.3	Kultivierung.....	12
2.1.3.1	Versuchsaufbau .....	14
2.1.3.1.1	Experiment 1 : Hatchlinge.....	14
2.1.3.1.2	Experiment 2 : Juvenile.....	16
2.1.3.2	Versuchsdurchführung.....	17
2.1.3.2.1	Experiment 1 : Hatchlinge.....	17
2.1.3.2.2	Experiment 2 : Juvenile.....	18
2.2	ANALYSEMETHODEN.....	19
2.2.1	Abiotische Parameter .....	19
2.2.2	Wachstum / Gewichtszunahme von <i>S. officinalis</i> .....	19
2.2.3	Mortalität von <i>S. officinalis</i> .....	20
2.2.4	Biochemische Analysen.....	20
2.2.4.1	Aufbereitung der Proben für die Fettsäureanalytik .....	20
2.2.4.2	Bestimmung von Fettsäuren .....	21
2.2.4.3	Analyse der stabilen Isotope.....	23
2.3	STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	26
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>27</b>
3.1	ABIOTISCHE PARAMETER.....	27
3.2	WACHSTUM VON <i>SEPIA OFFICINALIS</i> .....	28
3.2.1	Experiment 1 : Hatchlinge.....	28
3.2.2	Experiment 2 : Juvenile .....	29
3.3	MORTALITÄT VON <i>SEPIA OFFICINALIS</i> .....	30
3.4	ANALYSE DER FETTSÄUREN.....	31
3.4.1	Fettsäuremuster der Futterorganismen .....	31
3.4.2	Fettsäuremuster Experiment 1 : Hatchlinge .....	34
3.4.3	Fettsäuremuster Experiment 2 : Juvenile .....	39

3.5	ANALYSE DER STABILEN ISOTOPE.....	46
3.5.1	$\delta^{15}N$ und $\delta^{13}C$ Signaturen.....	46
3.5.1.1	Experiment 1: Hatchlinge.....	46
3.5.1.2	Experiment 2: Juvenile.....	48
3.5.1.3	Trophische Fraktionierung.....	49
3.5.1.4	C:N Verhältnis.....	51
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>53</b>
4.1	KULTIVIERUNG UND WACHSTUM.....	53
4.2	FUTTER UND WACHSTUM.....	55
4.2.1	<i>Hatchlinge</i> .....	56
4.2.2	<i>Juvenile Sepien</i> .....	56
4.3	FUTTER UND MORTALITÄT .....	58
4.3.1	<i>Hatchlinge</i> .....	58
4.3.2	<i>Juvenile Sepien</i> .....	58
4.4	ÄNDERUNGEN IN DER BIOCHEMISCHEN ZUSAMMENSETZUNG.....	60
4.4.1	<i>Fettsäuren</i> .....	60
4.4.1.1	Hatchlinge.....	61
4.4.1.2	Juvenile.....	61
4.4.2	<i>Stabile Isotope</i> .....	64
4.4.2.1	Hatchlinge.....	65
4.4.2.2	Juvenile.....	66
4.4.2.3	Vergleich Versuchstiere und Wildtiere.....	67
4.4.2.4	C:N Verhältnisse.....	69
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>70</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>79</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>81</b>

# 1 Einleitung

Cephalopoden spielen in marinen Ökosystemen eine große Rolle. Sowohl als opportunistische Prädatoren als auch als nahrhafte Beuteorganismen besetzen sie einen wichtigen Platz im Nahrungsnetz (Clarke 1996).

Um diesen Platz genauer definieren und so ihre Rolle im marinen Ökosystem besser verstehen zu können, sind viele Informationen von Bedeutung, z.B. ihre Interaktionen mit anderen Arten, ihr Wachstum, ihr Lebenszyklus, ihr Migrationsverhalten, aber auch die Energieflüsse innerhalb der Tiere sowie Speicherung, Transport und Verwertung von Nahrung und den darin enthaltenen chemischen Bestandteilen.

Unter den Cephalopoden ist der Gemeine Tintenfisch *Sepia officinalis* neben dem Gemeinen Oktopus *Octopus vulgaris* eine der am häufigsten verwendeten Tintenfischarten bei der wissenschaftlichen Grundlagenforschung.

In der Vergangenheit wurden nicht nur Feldstudien, sondern auch eine Vielzahl von Labor- und Aufzuchtsexperimenten an Tintenfischen erfolgreich durchgeführt, um unter anderem einen Einblick in die Physiologie, das Verhalten und den Lebenszyklus dieser Tiergruppe zu gewinnen (z.B. Boletzky und Hanlon 1983; Forsythe und van Heukelem 1987; DeRusha et al. 1989; Forsythe et al. 1994; Nixon und Mangold 1998). Es wurde aber auch das Potenzial von Tintenfischen als geeignete Kandidaten für die Aquakultur geprüft (Coelho et al. 1989), da Tintenfische mittlerweile auch in der Wirtschaft mit einem Anteil von 14 % am weltweiten Fischereiertrag einen besonderen Stellenwert einnehmen (Sykes et al. 2006b). Gerade *S. officinalis* bestätigt mit jährlichen Fangraten zwischen 8 500 und 14 000 t (FAO 2007) die weltweit wachsende Nachfrage. *S. officinalis* ist mit seinem Nährwertprofil eine ideale Proteinquelle sowie Omega-3-Fettsäurelieferant und hat so einen wirtschaftlichen Nutzen. Gerade durch die stärkere Befischung der Wildbestände gewinnt die Aufzucht der Tiere in Aquakulturanlagen zunehmend an Bedeutung und bestärkt damit die Notwendigkeit, diese kommerziell interessante Art intensiver zu erforschen.

In den letzten Jahren beschäftigte man sich deshalb unter anderem mit ernährungsphysiologischen und biochemischen Analysen, wie der Zusammensetzung von Fettsäuren bzw. stabilen Isotopen bei *S. officinalis* (Filgueira und Castro 2002; Domingues et al. 2004; Almansa et al. 2006; Hobson und Cherel 2006), um den Einfluss des Futters auf die Tiere und deren Verwertbarkeit zu prüfen. Auch bei anderen Cephalopoden wie Oktopus oder verschiedenen Kalmar-Arten wurden biochemische Untersuchungen durchgeführt (Navarro und Villanueva 2000; Stowasser 2004; Cherel und Hobson 2005). Diese Art von Analysen ermöglichte erste Einblicke in die trophischen Interaktionen zwischen Tintenfischen sowie deren Rolle im marinen Nahrungsnetz.

Die Techniken der Fettsäureanalyse und der stabilen Isotopenanalyse bieten sich hier als ideale Methoden an, da sowohl die Fettsäuren als auch die stabilen Isotope als trophische Indikatoren und Marker fungieren und so die Nahrungsnetzbeziehungen sichtbar machen (Jackson et al. 2007).

Die Verhältnisse der stabilen Isotope werden u.a. dazu verwendet, um die Ernährungsweise der Tiere nachzuvollziehen (Fry und Parker 1979), um Änderungen in Ernährungsgewohnheiten zu verfolgen (Fry und Sherr 1984), den physiologischen Zustand des untersuchten Organismus einzuschätzen (Haubert et al. 2005) und den Verbleib der assimilierten Nährstoffe im Tier zu bestimmen (Schlechtriem et al. 2004).

Basierend auf den Experimenten von DeNiro und Epstein (1978) und in vielen weiteren Untersuchungen kristallisierte sich heraus, dass speziell die Nahrung einen besonderen Einfluss vor allem auf die Verteilung der Kohlenstoff- und Stickstoffisotope im Tier hat und die stabile Isotopensignatur eines Konsumenten die Signatur seiner Nahrung reflektiert. In den meisten ökologischen Studien wird die Isotopensignatur (relativ zu einem Standard) als  $\delta$ -Wert ausgedrückt, welcher die Menge der schweren zur Menge der leichten Isotope ins Verhältnis setzt (Peterson und Fry 1987). Im Allgemeinen werden die Isotopenverhältnisse von Kohlenstoff und Stickstoff verwendet, da sie zum einen relativ einfach zu messen sind und zum anderen am besten den Weg des organischen Materials im Organismus aufzeigen. Die Fraktionierung der Isotope wird durch physikalische und chemische Reaktionen verursacht und bewirkt eine spezifische Verteilung der Isotope, welche den Reaktionsprozess reflektiert, aber auch Informationen über deren Ursprung aufzeigt.

Eine relativ hohe Fraktionierung von  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  findet bei den Stoffwechselprozessen des Organismus statt. Hauptsächlich während der Proteinassimilation, aber auch bei der Exkretion von Stickstoffverbindungen wird Stickstoff fraktioniert, wobei die leichteren  $^{14}\text{N}$ -Isotope bevorzugt ausgeschieden werden (Abb. 1), während die schwereren  $^{15}\text{N}$ -Isotope im Körper verbleiben und sich dort im Gewebe anreichern (Minagawa und Wada 1984; Fry 2006).

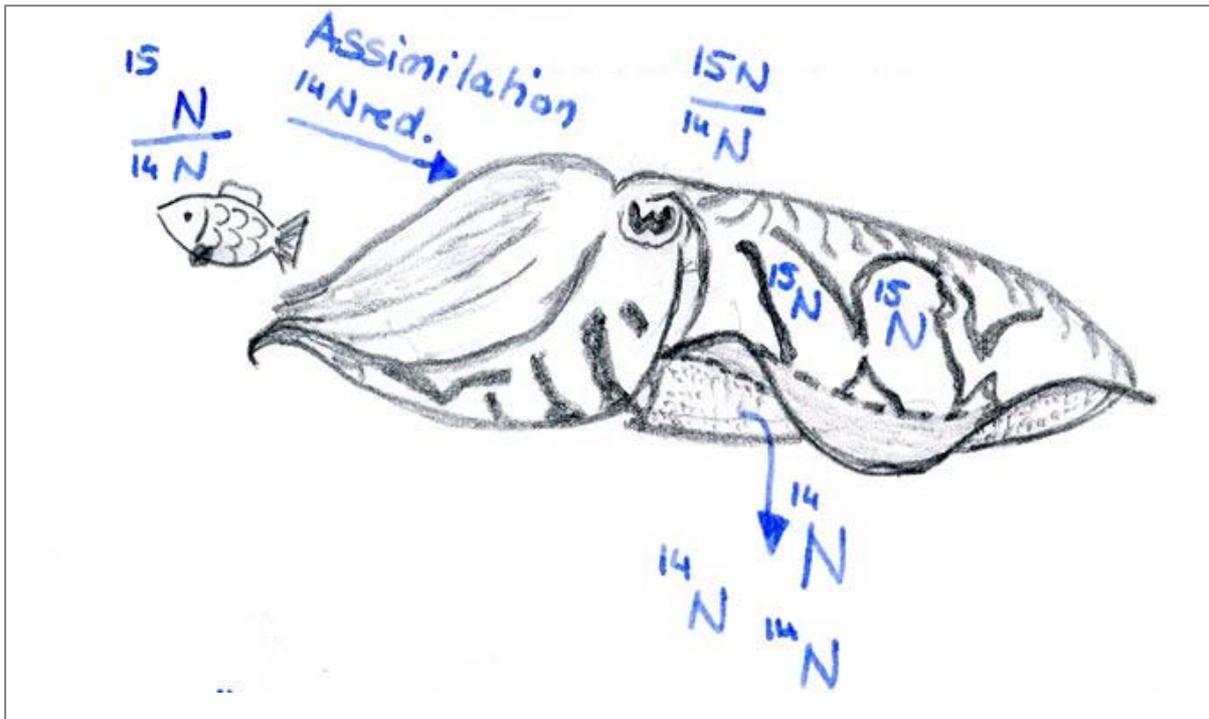


Abb. 1: Stickstofffraktionierung in *Sepia officinalis*, bei der das  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ -Verhältnis vom Futterorganismus übernommen und über Stoffwechselprozesse wie Stickstoffassimilation und -exkretion die Menge an  $^{14}\text{N}$  reduziert wird.  $^{15}\text{N}$  hingegen verbleibt vornehmlich im Gewebe und bewirkt somit eine Anreicherung der schweren Stickstoffisotope im Körper.

Das Verhältnis  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  (relativ zur Luft) wird als  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert angegeben. Der  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert dient in erster Linie als Indikator für die trophische Positionierung des Konsumenten und reichert sich stufenweise im Konsumenten relativ zu seiner Nahrung an (Peterson und Fry 1987). Dies führt zu einer durchschnittlichen Anreicherung des Konsumenten von 3-5 ‰ (Invertebraten: 2.2 ‰, Vertebraten: 3.4 ‰; Fry 2006). Im Allgemeinen werden die schweren Stickstoffisotope  $^{15}\text{N}$  stärker angereichert als die  $^{13}\text{C}$ -Isotope (Peterson und Fry 1987). Die trophische Anreicherung in  $\delta^{13}\text{C}$  liegt im Durchschnitt nur bei 1 ‰ (Fry 2006).

Der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert (Verhältnis von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  relativ zum Pee Dee Belemniten) liefert Informationen zur Kohlenstoffquelle. Der Kohlenstoff wird von C3- und C4-Pflanzen über verschiedene Wege fixiert und somit kann der Kohlenstofffluss vom Primärproduzenten hin zum Konsumenten angezeigt werden (Alfaro et al. 2006). Während die Fraktionierung von  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  in der Pflanze hauptsächlich bei Photosyntheseprozessen stattfindet, werden die Kohlenstoffisotope der Tiere vorwiegend bei der Atmung und anderen physiologischen Prozessen fraktioniert. In diesen Prozessen reagieren die leichteren  $^{12}\text{C}$ -Isotope schneller und werden dementsprechend bevorzugt, während sich die schwereren  $^{13}\text{C}$ -Isotope stetig im Gewebe anreichern.

Bereits in den späten 70er und 80er Jahren wurde die stabile Isotopentechnik in ökologischen Studien zur Analyse mariner und limnischer Nahrungsnetze angewendet (Fry und Parker 1979; Fry und Sherr 1984). Die Verwendung dieser Methode machte es möglich, die Nahrungsnetzbeziehungen von komplexen Ökosystemen wie der „Georges Bank“ im Golf von Maine (Fry 1988; Chen et al. 1996) sowie des Beringmeeres (McConnaughey und McRoy 1979) oder des Weddellmeeres (Rau et al. 1991) zu untersuchen. Im Bereich der Cephalopodenforschung führte die Analyse stabiler Isotope dazu, Vergleiche zwischen einzelnen Arten aufzeigen zu können (Cherel und Hobson 2005), sowie verschiedenartige Gewebetypen zur Untersuchung einer Cephalopodenart zu verwenden (z.B. Schnabel, Mantelgewebe oder Schulp von *S. officinalis*), um Rückschlüsse auf das Wachstum und die Ernährungsökologie von bestimmten Arten zu ermöglichen (Hobson und Cherel 2006; Rexfort und Mutterlose 2006).

Erst seit wenigen Jahren werden in wissenschaftlichen Studien inter- und intraspezifische Variationen in der Isotopensignatur mit in Betracht gezogen, welche auf den Anreicherungsgrad stark einwirken können (Vander Zanden und Rasmussen 2001; Post 2002). Das C:N Verhältnis der Futterquelle sowie Nährstofflimitierung und Hungerphasen interagieren ebenfalls mit dem Anreicherungsgrad (Adams und Sterner 2000; Vanderklift und Ponsard 2003). Um diese Einflüsse auf die stabile Isotopensignatur besser bewerten und einschätzen zu können, eignen sich kontrollierte Laborexperimente (Gannes et al. 1997) in denen einzelne Arten (Hobson und Cherel 2006), aber auch multi-trophische Systeme (Aberle und Malzahn 2007) untersucht werden können. Anhand solcher kontrollierter Studien kann man nachvollziehen, wie die Tiere ihre Nahrung reflektieren und in welchem Gewebe die Anreicherung erfolgt. Auch wie sich abiotische Faktoren wie Temperatur, Licht- und Nährstoffverfügbarkeit auf die hohe Variabilität der Nahrungsorganismen auswirken können und ob diese einen direkten Einfluss auf die höheren trophischen Ebenen haben, wird durch solche Studien ebenfalls sichtbar. Diese neu gewonnenen Daten über die verwendeten Versuchstiere können so mit Feldstudien und anderen Laborexperimenten verglichen werden.

Um die trophischen Interaktionen innerhalb komplexer Nahrungsnetze präziser bestimmen zu können, ist der Einsatz eines zusätzlichen Tracers (Indikator) von Vorteil. Die Verwendung von Pigmentanalysen (Almansa et al. 2006), das Verhältnis von RNA : DNA (Malzahn et al. 2007), aber auch Analysen der Fettsäuren wurden bereits in vielen Studien erfolgreich eingesetzt, um den Einfluss der Nahrung auf den Organismus zu untersuchen.

Fettsäuren bieten einen tieferen Einblick in das Ernährungsverhalten der Tiere. Diese kohlenstoffhaltigen Verbindungen sind universell (ubiquitär) und kommen in allen Organismen vor, wo sie eine wichtige Rolle im Metabolismus spielen. Die Fettsäuren gelangen über die Nahrung in den Organismus und dienen dort nicht nur als

Energiespeicher, sondern auch als wichtiger Bestandteil der Zellmembranstrukturen und Vorstufen von Hormonen. Speziell die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs) können ausschließlich von bestimmten Phytoplankton- und Makroalgenarten biosynthetisiert werden und sind so essentielle Nahrungsbestandteile für die höheren Trophieebenen (Jackson et al. 2007). Fettsäuren sind essentielle Nährstoffe für das Überleben und besitzen einen direkten Einfluss auf das Wachstum, die Entwicklung und die Reproduktion (Sargent et al. 1995). Zum Beispiel bei der Betrachtung mariner Fische wird deutlich, dass gerade die PUFAs essentiell sind, um ein optimales Wachstum und eine normale Entwicklung aufrechterhalten zu können (Bell et al. 1994).

Die Bestimmung der Fettsäuren lohnt sich vor allem bei Meerestieren, wo konventionelle Methoden wie Mageninhaltsanalysen oder eine direkte Beobachtung nicht immer anwendbar sind. Sie werden von den Primärproduzenten bis hin zu den hohen trophischen Ebenen weitestgehend unverändert transportiert, weisen eine spezifische Verteilung auf und sind so ideal als Biomarker geeignet (Alfaro et al. 2006).

Die Anwendung von Fettsäuren als Nahrungsindikator wird bereits seit den 60er Jahren praktiziert (Jackson et al. 2007), bei der unter anderem die Nahrungsbeziehungen einer Reihe von marinen Organismen, wie zum Beispiel Copepoden (Veloza et al. 2006), planktivore Fische (Malzahn et al. 2007) und Tintenfische (Stowasser et al. 2006), aber auch komplexe Nahrungsnetze wie der intertidale Mangrovenwald der Goldküste Australiens (Hall et al. 2006) erforscht wurden.

Bei Tintenfischen gewann die Fettsäureanalyse erst in den letzten Jahren an Bedeutung, da das Gewebe von Cephalopoden hauptsächlich aus Eiweiß (75-85 % vom Trockengewicht) besteht und sie nur einen geringen Fettanteil (< 2 % vom Trockengewicht) besitzen (Lee 1994). Somit dienen Proteine bei Tintenfischen als Hauptenergielieferanten. Dementsprechend zeigen Cephalopoden eine hohe Effizienz bei der Proteinassimilation. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass das Fettsäureprofil der Cephalopoden, ähnlich wie bei anderen marinen Organismengruppen (Sargent et al. 1995), in ihrer Entwicklung besonders bei frühen Entwicklungsstadien eine wichtige Rolle spielt.

Einige Untersuchungen beschäftigten sich speziell mit dem Einfluss lipid-angereicherter Nahrung auf das Überleben und die Wachstumsrate bei der Aufzucht von *S. officinalis*, vornehmlich um die optimalen Futterorganismen zu finden und um Sepien in der Aquakultur etablieren zu können (Navarro und Villanueva 2000; Koueta et al. 2002; Domingues et al. 2004). Die Experimente ergaben, dass vor allem eine höhere Überlebenschance und ein besseres Wachstum bei *S. officinalis* erfolgt, wenn die Zusammensetzung der Nahrung besonders reich an ungesättigten Fettsäuren ist. Somit besteht ein klarer Einfluss der Fettsäurezusammensetzung der Nahrungsorganismen auf den Fettsäurebestand der Sepien.

Nur wenige Studien haben sich bisher mit dem Einfluss der Nahrung auf die Fettsäuresignatur von *S. officinalis* (Almansa et al. 2006) oder auf dessen stabile Isotopensignatur (Hobson und Cherel 2006) unter kontrollierten Laborbedingungen beschäftigt.

Ziel der in der vorliegenden Untersuchung durchgeführten Experimente war es, zum ersten Mal eine Kombination aus beiden Analysemethoden anzuwenden, um den Einfluss der Nahrung auf die Fettsäure- und stabile Isotopensignatur der Sepien und somit Rückschlüsse über die Weitergabe von trophischen Signalen an Konsumenten zu untersuchen. Im Speziellen sollte die intraspezifische und ontogenetische Variabilität bei der Isotopenfraktionierung und die Weitergabe von Fettsäuremustern der Nahrungsquelle zu Hatchlingen und Juvenilen von *S. officinalis* untersucht werden. Um dies zu ermöglichen, wurden Futterorganismen mit unterschiedlicher biochemischer Zusammensetzung verwendet.

Bei der Verwendung dieser verschiedenen Nahrungsorganismen sollte der Nahrungseffekt auf die Fettsäuren und stabilen Isotope im Tintenfischgewebe deutlich sichtbar gemacht werden.

Die Zielsetzung dieser Arbeit war es, einerseits einen tieferen Einblick in die biochemische Zusammensetzung der Sepien zu erhalten und andererseits den Einfluss der Nahrung auf verschiedene Parameter von *S. officinalis* zu untersuchen. Hierzu zählten das Wachstum und die Mortalität von Sepien in unterschiedlichen Entwicklungsstadien zu untersuchen sowie den Transfer von Fettsäuremustern vom Futterorganismus zum Konsumenten zu verfolgen. Weitere Aspekte dieser Arbeit waren die Weitergabe des Isotopensignals von einer trophischen Ebene zur nächsten sowie die intraspezifische Variabilität bei der Isotopenfraktionierung bei frisch geschlüpften und juvenilen *S. officinalis* zu untersuchen. Veränderungen bei auftretendem Nahrungsmangel sowie Vergleiche mit Sepien aus dem Freiland wurden zudem in Betracht gezogen.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Generelles Konzept

Zwei Kultivierungsexperimente mit frisch geschlüpften und juvenilen *Sepia officinalis* wurden unter kontrollierten Laborbedingungen durchgeführt, um den Einfluss der Nahrung auf die biochemische Zusammensetzung der Tintenfische zu untersuchen. Zusätzlich wurden Wildfänge in das Projekt mit einbezogen, um einerseits den Alterseffekt zu studieren und andererseits einen Vergleich zur Natur ziehen zu können. Im Speziellen wurde die Anreicherung von stabilen Isotopen und Fettsäuren, die bei *S. officinalis* bisher vornehmlich als Tracer in Feldstudien verwendet wurden, unter künstlichen Versuchsbedingungen untersucht.

#### 2.1.1 Vorstellung der Untersuchten Arten

##### 2.1.1.1 *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758)



<b>Klasse:</b>	<u>Kopffüßer</u> ( <i>Cephalopoda</i> )
<b>Ordnung:</b>	<u>Zehnarmige Tintenfische</u> ( <i>Decabrachia</i> )
<b>Familie:</b>	<u>Sepien</u> ( <i>Sepiidae</i> )
<b>Gattung:</b>	<i>Sepia</i>
	<b><i>Sepia officinalis</i></b>

Abb. 2: Versuchsorganismus *Sepia officinalis*

*S. officinalis* ist eine nekto-benthische Art (Boletzky und Hanlon 1983), welche sich vorwiegend am Meeresboden aufhält und in Küstennähe (2-3 m Tiefe) bis hin zu einer Wassertiefe von max. 200 m vorkommt, wobei die größte Abundanz der Tiere in Wassertiefen über 100 m auftritt (Guerra 2006).

Das Verbreitungsgebiet von *S. officinalis* erstreckt sich über den Ostatlantik von Südnorwegen und Nordengland bis hin zur Nordwestküste Afrikas (Abb. 3). Man findet Vertreter dieser Art aber auch im Mittelmeer, in der Nordsee und in der Umgebung von Madeira und den Kanarischen Inseln (Reid et al. 2005; Guerra 2006).

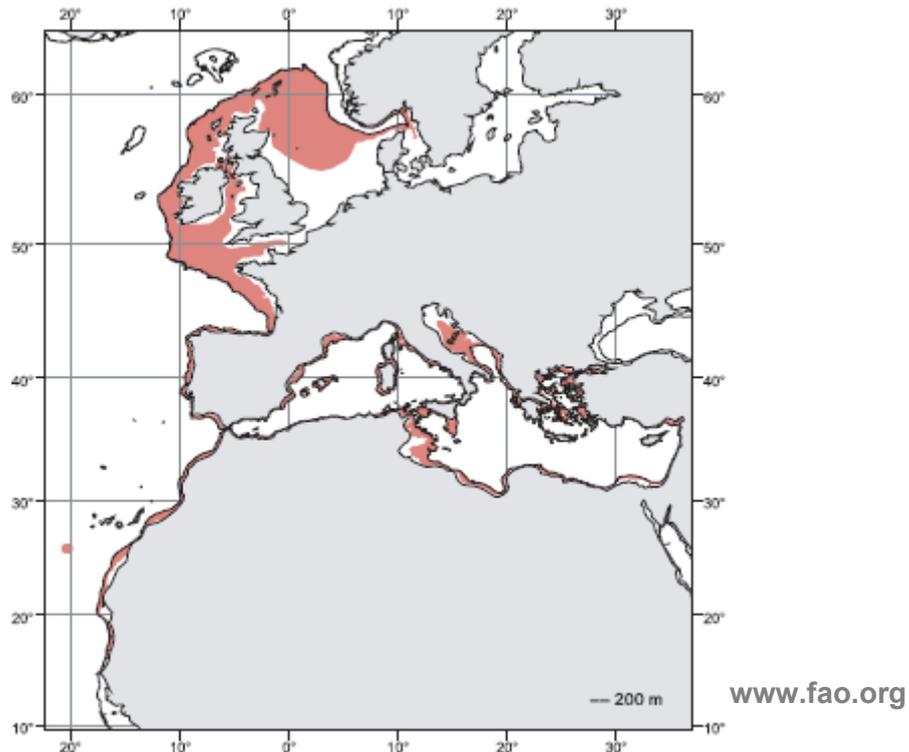


Abb. 3: Typische Verbreitungsgebiete von *S. officinalis*

Der Gemeine Tintenfisch ist ein opportunistischer Jäger und besitzt ein weit reichendes Nahrungsspektrum. Die dominanten Beuteorganismen sind neben einer Vielzahl von Crustaceen (Decapoden, Copepoden, Isopoden), Knochenfische und andere Mollusken (z.B. Gastropoda, andere Cephalopoden). Auch Würmer wie Polychaeten und Nemertini wurden bei Nahrungsanalysen gefunden (Boletzky und Hanlon 1983). Die Zusammensetzung der Nahrung ändert sich jedoch innerhalb des Lebenszyklus´ von *S. officinalis*. Unmittelbar nach dem Schlupf werden fast ausschließlich kleine Crustaceen (Mysidaceen) gefressen, während die Juvenilen eher kleine Garnelen oder Amphipoden bevorzugen (Boletzky und Hanlon 1983). Adulte Sepien hingegen präferieren Fisch und andere Cephalopoden als Nahrung (Rodhouse und Nigmatullin 1996). Auch wenn der Crustaceen-Anteil der Nahrung mit zunehmendem Wachstum der Sepien abnimmt während die Präferenz für Fisch ansteigt (Castro und Guerra 1990), bleiben Crustaceen (speziell Brachyura wie z.B. *Carcinus maenas* L.) ein bedeutender Bestandteil der Nahrung (Blanc et al. 1999).

Nicht nur das artenreiche Nahrungsspektrum, auch der kurze und spezifische Lebenszyklus mit hoher Wachstumsrate, aber auch die mittlerweile relativ einfache Haltung der Tiere unter kontrollierten Bedingungen im Labor (Boletzky und Hanlon 1983; DeRusha et al. 1989; Forsythe et al. 1994; Domingues et al. 2001a; 2001b; 2002; 2003a; Correia et al. 2005; 2006; Sykes et al. 2006b), sprechen für die Eignung von *S. officinalis* als idealer Versuchsorganismus für die experimentelle Arbeiten.

Viele wissenschaftliche Untersuchungen wie zum Beispiel Domingues et al. (2003a; 2004) oder Koueta und Boucaud-Camou (1999; 2001), beschäftigen sich im Speziellen mit Fragestellungen zu Wachstum, Mortalität und Verdauungsphysiologie innerhalb der frühen Lebensstadien von *S. officinalis*.

Um frühe Entwicklungsstadien der Sepien eindeutig definieren zu können, wurde bereits 1988 von Hanlon und Messenger eine Art „Nomenklatur“ eingeführt, die bis heute angewendet wird. Darin werden bis zu einer Woche alte Tiere als Hatchlinge bezeichnet. Das darauf folgende Juvenilstadium (bis zur 17. Woche) wird in ein Früh-Juvenilstadium (bis 7 Wochen) und ein Spät-Juvenilstadium eingeteilt.

## 2.1.2 Vorstellung der Futterorganismen

### 2.1.2.1 *Paramysis nouveli* (Labat, 1953)



<b>Klasse:</b>	<u>Höhere Krebse</u> ( <i>Malacostraca</i> )
<b>Ordnung:</b>	<u>Schwebegarnelen</u> ( <i>Mysida</i> )
<b>Familie:</b>	<i>Mysidae</i>
<b>Gattung:</b>	<i>Paramysis</i>
	<b><i>Paramysis nouveli</i></b>

Abb. 4: Futterorganismus *Paramysis nouveli*

Die Schwebegarnele *Paramysis nouveli* ist bekannt für ihre weite Verbreitung in der marinen Umwelt. Sie lebt hauptsächlich in Küstennähe und nahe dem Meeresboden in Meer- und Brackwassergebieten. Als opportunistischer omnivorer Organismus (meist 5 bis 25 mm lang) ernährt sie sich von einer großen Vielfalt von Nahrungstypen wie Detritus, Makroalgen, Phyto- aber auch Zooplankton (Schabes und Hamner 1992).

2.1.2.2 *Palaemonetes varians* (Leach, 1814)



<b>Klasse:</b>	<u>Höhere Krebse</u> ( <i>Malacostraca</i> )
<b>Ordnung:</b>	<u>Zehnfüßkrebse</u> ( <i>Decapoda</i> )
<b>Familie:</b>	<u>Felsen- und Partnergarnelen</u> ( <i>Palaemonidae</i> )
<b>Gattung:</b>	<u>Schwimmgarnelen</u> ( <i>Palaemonetes</i> )
	<b><i>Palaemonetes varians</i></b>

Abb. 5: Futterorganismus *Palaemonetes varians*

Die Schwimmgarnele oder auch Felsengarnele *P. varians* verfügt über ein weites Verbreitungsgebiet, welches von Südkandinavien über Schottland bis hin zur Atlantikküste Marokkos reicht. *P. varians* kommt hauptsächlich in Meerwasser- bzw. Brackwassergebieten vor. Sie ist außerdem an einigen Küsten des Mittelmeeres vertreten, selbst in Tümpeln mit starken Schwankungen des Sauerstoff- und Salzgehaltes sowie der Temperatur.

*P. varians* kann bis zu 50 mm lang werden. Als detritivorer Organismus ernährt sie sich hauptsächlich von Pflanzenfasern, aber auch von Detritus und Mikrofauna wie Nematoden, Polychaeten bzw. Mückenlarven (Aguzzi et al. 2005).

2.1.2.3 *Gobius sp.*



<b>Klasse:</b>	<u>Strahlenflosser</u> ( <i>Actinopterygii</i> )
<b>Ordnung:</b>	<u>Barschartige</u> ( <i>Perciformes</i> )
<b>Familie:</b>	<u>Grundeln</u> ( <i>Gobiidae</i> )
<b>Gattung:</b>	<i>Gobius</i>
	<b><i>Gobius sp.</i></b>

Abb. 6: Futterorganismus *Gobius sp.*

Die Familie der Grundeln ist mit fast 2000 Arten eine der artenreichsten Gruppen der Meeresfische. Sie kommt in allen Meeren vor – vom Polarkreis bis in die Tropen, aber auch Brack- und Süßwasserarten sind vertreten.

In Portugal leben ca. 6 Arten der Gattung *Gobius* – unter anderem die Schwarzgrundel *Gobius niger* (Linnaeus, 1758). *Gobius sp.* hat ein weitreichendes Nahrungsspektrum: über Zooplankton (unter anderem Fischeier, Fischlarven, Copepoden, Mysis) zu Zoobenthos wie Crustaceen, Polychaeten, Amphipoden (www.fishbase.org 2007).

Im Versuch wurden vornehmlich junge am Boden lebende Tiere mit einer maximalen Länge von ungefähr 17 bis 18 mm verfüttert.

### 2.1.2.4 *Atherina sp.*



<b>Klasse:</b>	<u>Strahlenflosser</u> ( <i>Actinopterygii</i> )
<b>Ordnung:</b>	<u>Ährenfischartige</u> ( <i>Atheriniformes</i> )
<b>Familie:</b>	<u>Ährenfische</u> ( <i>Atherinidae</i> )
<b>Gattung:</b>	<i>Atherina</i>
	<b><i>Atherina sp.</i></b>

Abb. 7: Futterorganismus *Atherina sp.*

Die Ährenfische (meist silbrig glänzend) leben im Süß- und Brackwasser, sind aber auch an den Meeresküsten des westlichen Indopazifik, des Atlantik und des Mittelmeeres verbreitet. In Portugal sind zwei Arten heimisch: der kleine Ährenfisch *Atherina boyeri* (Risso, 1810) sowie der Priesterfisch *Atherina presbyter* (Cuvier, 1829). Sie ernähren sich hauptsächlich von kleinen Crustaceen, Würmern, Mollusken und Fischlarven (www.fishbase.org 2007). Die im Versuch verfütterten Tiere hatten eine Länge bis max. 20 mm.

### 2.1.3 Kultivierung

Die Aufzucht und Kultivierung der Sepien erfolgte in Ramalhete, der marinen Aquakulturstation der Universität der Algarve (CCMAR Faro) unmittelbar in der Nähe des Ria Formosa Lagunensystems im Süden Portugals (Abb. 8). Dieses Lagunensystem erstreckt sich über 55 km und ist durch einen bis zu 3 km breiten Sandgürtel vom Meer abgetrennt, welcher an einigen Stellen durchbrochen ist und somit den Wasseraustausch mit dem Ozean ermöglicht (Lock und Mees 1999). Die Station besitzt einen direkten Zugang zur Lagune, so dass die Futterorganismen Mysis (*Paramysis nouveli*, Mys), Garnele (*Palaemonetes varians*, Pal) und Fisch (Mischung aus *Atherina sp.* und *Gobius sp.*) je nach Bedarf direkt vor Ort lebend gefangen werden konnten.

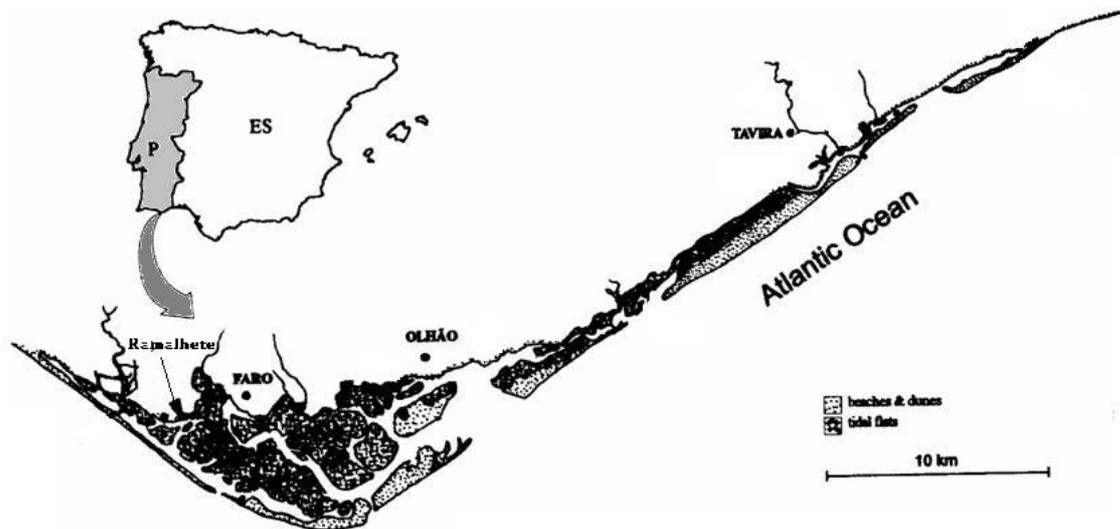


Abb. 8: Standort der marinen Aquakulturstation Ramalhete im Ria Formosa Lagunensystem (verändert nach Lock und Mees, 1999)

Die Sepien beider Experimente stammten aus einer Generation, deren Elterngeneration ebenfalls erfolgreich in Gefangenschaft aufgezogen wurde.

Die Elterntiere, 5-6 Individuen pro Tank (meist 3-4 weibliche und 2 männliche Sepien), wurden in 2000 l Fiberglas-Rundtanks in einem Durchfluss-System ( $120 \text{ l h}^{-1}$ ) gehalten. Das Wasser wurde aus der Ria Formosa Lagune gepumpt und vorgefiltert, ehe es dem System zugeführt wurde. Die Tanks wurden über Sauerstoffausströmer belüftet und befanden sich in einer ruhigen Umgebung, um die Tiere während Brutzeit sowie Eiablage (in Traubenform, Abb. 9) nicht unnötig zu beeinträchtigen.

Zusätzlich wurden in den Tanks Plastiknetze mit 1 cm<sup>2</sup> großen Maschen angebracht, um den weiblichen Sepien eine Möglichkeit zur Befestigung der Eipakete zu bieten (ca. 550 Eier pro Weibchen möglich; Boletzky 1987). Diese Netze wurden täglich kontrolliert, die vorhandenen Eier vorsichtig entfernt und nach Form und Farbe sortiert, wobei nur die schwarzen ovalen Eier als entwicklungsfähig angesehen und anschließend in so genannte „Brutkörbe“ (Abb. 10) überführt wurden. Diese rechteckigen Plastikkörbe (Länge: 50 cm, Breite: 40 cm, Maschenweite: 1 mm) wurden in einem 500 l Tank mit kontinuierlichem Frischwasserdurchfluss (120 l h<sup>-1</sup>) platziert, um den stetigen Austausch des Wassers zu gewährleisten. Die Belüftung der Körbe erfolgte vom Boden und auch von den Seiten über jeweils 2 Sauerstoffausströmer, um eine Art elliptische Strömung zu erzeugen. Dadurch wurden die Eier einerseits optimal mit genügend Sauerstoff versorgt, andererseits aber auch in der Wassersäule in Bewegung gehalten, so dass auf diese Weise eine Nekrose durch Sauerstoffmangel bzw. Pilz- oder Bakterienbefall weitestgehend verhindert und somit eine Maximierung der Schlupfrate gewährleistet werden konnte. Durch tägliche Kontrollen wurden leere Hüllen und an der Wasseroberfläche schwimmende, aber auch beschädigte Eier entfernt. Je nach Inkubationstemperatur (18-25°C) erfolgte das Schlüpfen der Sepien etwa 25 (bei 25°C) bis 30 (bei 18°C) Tage nach der Eiablage. Bei dem Salzgehalt musste darauf geachtet werden, dass dieser dem der Eiablagetanks ähnelte (Stressvermeidung) und nicht unter 23.9 PSU fiel, da bei geringerem Salzgehalt kein Schlupf mehr stattfindet (Guerra 2006). Aufgrund der großen Bodenfläche des Korbes hatten die frisch geschlüpften Sepien (Hatchlinge) genügend Platz, um sich dort aufzuhalten, ehe sie in die Kultivierungstanks umgesiedelt wurden. Die Aufzucht und Kultivierung der Sepien erfolgte nach Sykes et al. (2006b).

Für Experiment 1 wurden 2-4 Tage alte Hatchlinge verwendet. In Experiment 2 wurden juvenile Sepien im Alter von ca. 7 Wochen verwendet.



Abb. 9: Eier von *Sepia officinalis*, verschiedene Entwicklungsstadien



Abb. 10: „Brutkorb“ zur Hälterung der Eier und Aufzucht der Hatchlinge

Die Experimente fanden nacheinander statt, da Tiere aus dem gleichen Schlupf verwendet wurden.

Zeitgleich zum zweiten Experiment wurden in der Umgebung des Ria Formosa 10 Wildtiere (mittleres Gewicht:  $228 \text{ g} \pm 118.7 \text{ g}$ ) von einheimischen Fischern gefangen.

### 2.1.3.1 Versuchsaufbau

#### 2.1.3.1.1 Experiment 1 : Hatchlinge

Für das erste Experiment wurde ein halboffenes System einer Kreislaufanlage aufgebaut, welches aus 6 Einzelbecken, einem Sammel tank, einem biologischen Rieselfilter (Biofilter) und einer Wasserpumpe bestand (Abb. 11, Abb. 12). Das bereits gefilterte Seewasser der Ria Formosa Lagune wurde mit Hilfe der Pumpe über PVC-Rohre gleichmäßig in die Tanks gepumpt. Der Durchfluss des Wassers betrug  $10 \text{ l h}^{-1}$ . Die Salinität des Wassers lag bei  $36.6 \pm 1.2 \text{ PSU}$ . Die mittlere Temperatur betrug  $21.0 \pm 1.0 \text{ }^\circ\text{C}$ . Die Tanks wurden von einer 36 W Leuchtstoffröhre (8 bis 20 Uhr) beleuchtet, welche eine Lichtintensität von  $0.558 \pm 0.105 \text{ W/m}^2$  direkt über der Wasseroberfläche aufwies. Der Tag-/Nachtzyklus (12h:12h) wurde über eine Zeitschaltuhr kontrolliert. Die ständige Frischwasserzufuhr und eine moderate Belüftung des Wassers sicherten die natürliche Gesamtsättigung mit Sauerstoff im Seewasser.

Jedes der Einzelbecken (Länge: 38 cm, Breite: 28 cm und Wasserhöhe: ca. 12 cm) besaß ein Gesamtwasservolumen von ca. 12 l und eine Gesamtfläche von  $0.1064 \text{ m}^2$ . Die Wasserhöhe der Tanks wurde durch den Ablauf reguliert, der aus einem PVC-Rohr bestand, das mit Löchern durchsetzt und von einer Gaze ( $500\mu\text{m}$ ) bedeckt war. Das abfließende Wasser der Tanks gelangte über Rohrleitungen in den Sammel tank und wurde hier zum Teil aus dem System entfernt und zurück in die Lagune geleitet. Der größere Anteil des Wassers hingegen wurde über ein, mit Löchern versehenes PVC Rohr in den angrenzenden Biofilter geleitet, wo eine natürliche Wasseraufbereitung stattfinden konnte. Über die Pumpe wurde das gereinigte Wasser dem System wieder zugeführt.

Halbierte PVC-Rohre in den Becken dienten den Tieren als Versteckmöglichkeit.

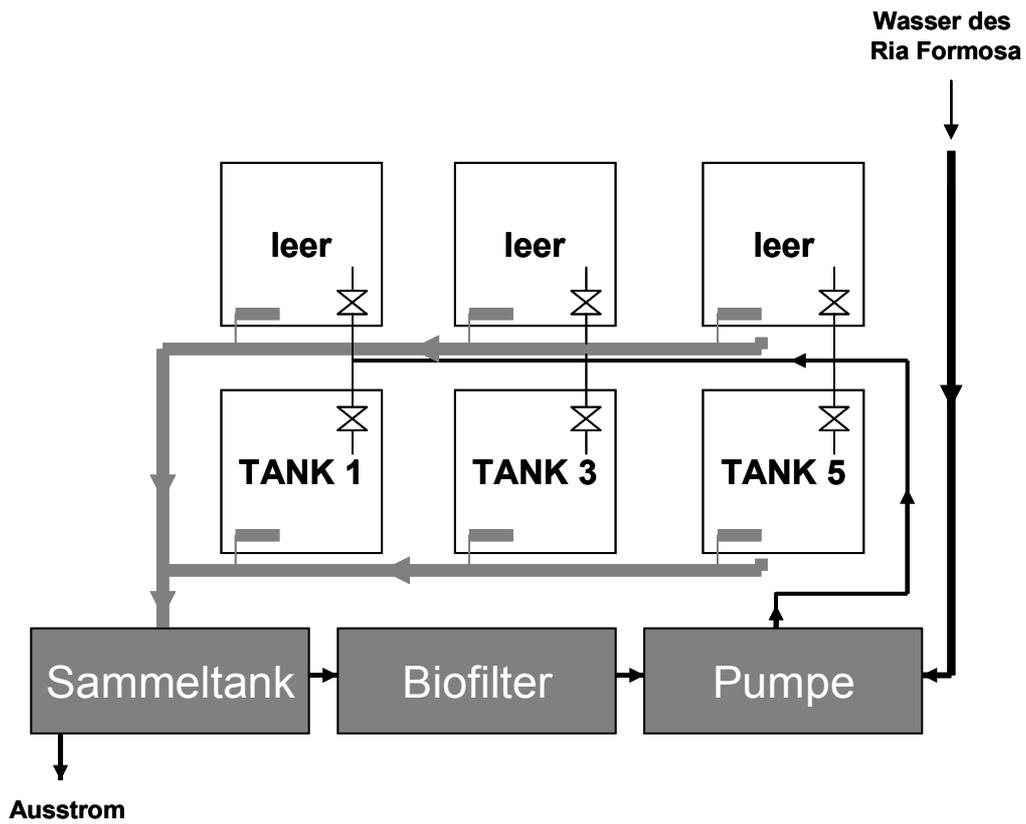


Abb. 11: Schematische Darstellung der halboffenen Kreislaufanlage zur Hälterung der Sepien unter optimierten Bedingungen



Abb. 12: Aufbau des halboffenen Durchfluss-Systems zur Hälterung der Sepien

### 2.1.3.1.2 Experiment 2 : Juvenile

Für diesen Versuch wurde ein Fiberglas-Tanksystem mit kontinuierlichem Wasseraustausch verwendet. Die Frischwasserzufuhr erfolgte wie in Experiment 1 über Pumpen und ein Filtersystem aus der Ria Formosa Lagune. Der Durchfluss des Wassers betrug  $10 \text{ l h}^{-1}$ . Die Temperatur des Ria Formosa Wassers betrug  $17.7 \pm 1.1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Der mittlere Salzgehalt lag bei  $33.5 \pm 1.0 \text{ PSU}$ . Es gab keine künstliche Lichtquelle und somit wurde der Tag-/Nachtzyklus von der natürlichen Lichtperiode in Faro bestimmt (14h:10h).

Die Einzelbecken, mit jeweils einer Länge und Breite von 45 cm (Abb. 13, Abb. 14), boten den Sepien eine Grundfläche von  $0.2025 \text{ m}^2$  pro Tank. Der Ablauf bestand aus einem senkrechten zentral im Tankboden befestigtem PVC-Rohr, welches am oberen Ende mit Löchern durchsetzt und einem Netz mit einem Maschendurchmesser von  $500 \text{ }\mu\text{m}$  bedeckt war und so den Wasserstand und das Gesamtwasservolumen (ca.30 l) beeinflusste.

Halbierte PVC-Rohre in den Becken dienten auch in diesem Experiment als Behausung und Versteckmöglichkeit für die Versuchstiere.

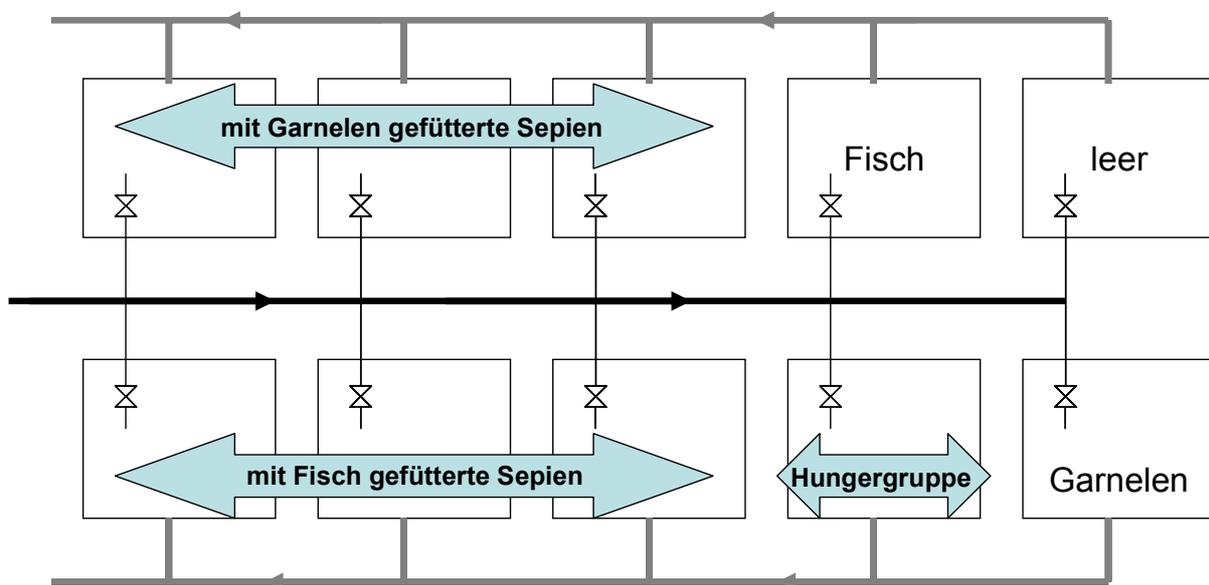


Abb. 13: Schematische Darstellung des Durchflussesystems zur Haltung der Sepien unter optimierten Bedingungen



Abb. 14: Aufbau des Durchfluss-Systems zur Hälterung der Sepien

### 2.1.3.2 Versuchsdurchführung

#### 2.1.3.2.1 Experiment 1 : Hatchlinge

Vor Versuchsbeginn wurden die frisch geschlüpften Sepien (Hatchlinge) in einem Becken (Abb. 15 a) mit annähernd gleichen Wasserbedingungen gesammelt, ehe sie nach dem Zufallsprinzip auf die Experimente verteilt wurden. Die Hatchlinge wurden über ein Sieb gegeben und somit indirekt von uberschussigem Wasser befreit (da direktes Abtupfen die Hautstruktur schädigt). Anschließend wurde die dorsale Mantellänge zur Größenbestimmung vermessen und das Gewicht bestimmt. Danach wurden die Versuchstiere zufällig auf die Tanks verteilt (16 Tiere pro Tank). Zusätzlich wurde eine Stichprobe von 10 zufällig ausgewählten Sepien ebenfalls vermessen, gewogen und anschließend für spätere Analyseverfahren bei -80°C gelagert. Diese Stichprobe diente zur Anfangswertbestimmung (Startwert Sepien). Der Gefrierprozess erfolgte, um sicher zu gehen, dass die Tiere ohne Beschädigungen eingelagert werden konnten und so das Gewebe intakt für die späteren biochemischen Analysen zur Verfügung stand (Moltschaniwskyj und Jackson 2000).

Die Versuchsdauer von Experiment 1 dauerte insgesamt 26 Tage. Tote Tiere wurden aus den Tanks entfernt. Die Sepien wurden täglich mit lebenden Mysis (= Mys) *ad libitum* gefüttert.

Am Ende des Experiments wurden Größe und Gewicht der verbleibenden Sepien wie zu Beginn des Versuchs bestimmt und als Endgruppe (mit insgesamt 42 Sepien) für weitere Analysen bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

### 2.1.3.2.2 *Experiment 2 : Juvenile*

Vor Versuchsbeginn wurden die mittlerweile ca. 5 Wochen alten Sepien von Mysis auf Garnelen als Futterorganismus umgestellt und für zwei weitere Wochen ausschließlich mit Garnelen gefüttert.

Die Sepien wurden während dieser Umgewöhnungsphase in einem separaten Tank gehalten (Abb. 15 b), ehe sie, wie in Experiment 1 bereits beschrieben, den Tanks zufällig zugeteilt wurden (12 Tiere pro Tank). Die Einzelbecken wurden in 2 Gruppen unterteilt, wobei jede Gruppe aus jeweils 3 Replikaten bestand. Die Hungergruppe hingegen umfasste nur einen Tank.

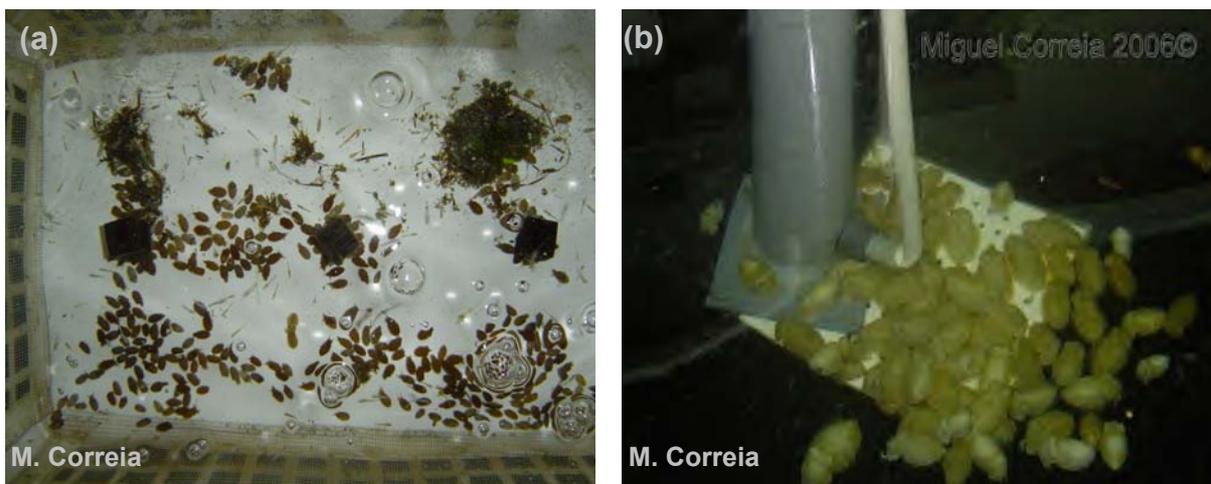


Abb. 15: (a+b): Tanks mit Sepien (a) vor Start der Experimente und (b) während der Umgewöhnungsphase von Mysis auf Garnelen als Primär-Futterorganismus

Zur Bestimmung der Anfangswerte wurde stichprobenartig eine Gruppe von 5 Tieren vermessen, wie in Experiment 1 behandelt und bei  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert (Startwert Sepien).

Die Versuchsdauer betrug 20 Tage.

Je nach Gruppenzugehörigkeit wurden die juvenilen Sepien der ersten Gruppe mit lebenden Garnelen (= Pal), Gruppe 2 mit lebendem Fisch (= Fisch) *ad libitum* gefüttert.

Tote Tiere wurden umgehend aus den Tanks entfernt.

Nach Versuche wurden die noch vorhandenen Sepien wie in Experiment 1 behandelt und gelagert.

Die Futterorganismen wurden ebenfalls stichprobenartig bei -80°C aufbewahrt und dienten bei späteren Analysen als Referenzwerte.

Die gefangenen Wildseprien wurden ebenfalls vermessen und gewogen und die entnommenen Mantelgewebeprobe für spätere Analyseverfahren bei -80°C tiefgefroren.

## 2.2 Analysemethoden

### 2.2.1 Abiotische Parameter

Die abiotischen Parameter wie Temperatur und Salzgehalt wurden täglich mit einem digitalen Handmessgerät (WTW Multi 350) ermittelt.

### 2.2.2 Wachstum / Gewichtszunahme von *S. officinalis*

Für die Gewichtsbestimmungen der Sepien wurde in beiden Experimenten eine Analysewaage (KERN EG 300-3m, Fa. Kern & Sohn GmbH) mit einer Messgenauigkeit von  $\pm 1$  mg verwendet.

Die frisch geschlüpften Sepien des 1. Experiments wurden zunächst mittels einer digitalen Schiebelehre vermessen und nachträglich mit Hilfe einer Foto-Vermessungs-Software (cell ^ D 2.6, Olympus Soft Imaging Solutions GmbH) genauer vermessen.

Zur Bestimmung der dorsalen Mantellängen der Sepien in Experiment 2 diente ein digitaler Mess-Schieber.

Die Wildtiere wurden aufgrund ihrer Größe mit der Analysewaage Explorer Pro von Ohaus mit einer Messgenauigkeit von  $\pm 1$  g gewogen und die Größe mit einer Schiebelehre bestimmt.

Die relative Wachstumsrate (engl. instantaneous growth rate, IGR) der Sepien wurde über die Gleichung:

$$\text{IGR} = \frac{\ln W_{t1} - \ln W_{t0}}{t}$$

mit  $\ln$  als natürlichem Logarithmus,  $W_{t0}$  als Startgewicht bzw.  $W_{t1}$  als Endgewicht über die Versuchszeit in Tagen ( $t$ ) ermittelt.

Die relative Wachstumsrate wurde nach Ricker (1979) in  $[\text{gd}^{-1}]$  ausgedrückt.

Die Ermittlung der Besatzdichte pro Tank von Hatchlingen und Juvenilen erfolgte über die Gleichung:

$$D = \frac{\text{Anzahl der Tiere pro Tank}}{\text{Tankfläche (Höhe*Breite)}}$$

wobei D für die Besatzdichte des Tanks steht und in [Tiere m<sup>-2</sup>] angegeben wird.

### 2.2.3 Mortalität von *S. officinalis*

Um die relative Mortalität der Sepien beider Versuche miteinander vergleichen zu können, wurde der prozentuale Anteil der Summe der toten Tiere in Relation zum anfänglichen Gesamtbestand der einzelnen Tanks ermittelt.

Aus einem der *S. officinalis*-Becken (Fisch) aus Experiment 2 verschwanden die Tiere ohne erkennbare Ursache am Tag der Auswaage. Da es weder Anzeichen gab, die auf ein Sterben der Tiere hinwiesen, noch tote Tiere zu finden waren, wurden zur Ermittlung der relativen Mortalität die Daten vom Vortag verwendet.

### 2.2.4 Biochemische Analysen

#### 2.2.4.1 Aufbereitung der Proben für die Fettsäureanalytik

Für alle notwendigen Probeneinwaagen wurde eine Mikrofeinwaage (SARTORIUS SC 2) verwendet.

Das in -80°C gelagerte Probenmaterial wurde für die weiteren biochemischen Analysen auf Trockeneis nach Deutschland verschickt, dort nach Entnahme der erforderlichen Probenmenge bei -80°C aufbewahrt und anschließend einem Gefriertrocknungsprozess bis zur Gewichtskonstanz unterzogen. Diese so genannte Kältetrocknung bewirkt eine schonende Trocknung des gefrorenen Gewebematerials. Die tiefgefrorenen, wasserhaltigen Mantelproben der Sepien und die der Futterorganismen kamen in eine Vakuumkammer einer Gefriertrocknungsanlage (Technologie: GT2 Leybold-Heraeus, Christ ALPHA 1-4 LSC), wo sie einem Unterdruck von 0.370 bar ausgesetzt wurden. Durch diesen Unterdruck geht das gefrorene Wasser der Proben während des gesamten Trocknungsvorganges direkt in Dampf über, ohne den flüssigen Aggregatzustand einzugehen. Die Proben werden also bei bereits geringen Temperaturen schonend, aber effektiv getrocknet.

### 2.2.4.2 Bestimmung von Fettsäuren

Die Fettsäuren des gemörsterten Probenmaterials der Futterorganismen sowie die mittels eines Ultra- Turrax (T8, Fa. IKA Labortechnik) homogenisierten Mantelgewebeproben der Sepien wurden als Fettsäuremethylester (engl. Fatty acid methyl ester, FAMES) gemessen. Die Extraktion erfolgte nach Folch et al. (1957) und Bligh und Dyer (1959), die gaschromatische Analyse nach Malzahn et al. (2007).

Die Lipide der Proben wurden über ein 2:1 Gemisch aus Dichlormethan / Methanol in einem 30 minütigen Ultraschallbad (BRANSONIC 220) extrahiert.

Die wasserlöslichen Anteile der Proben wurden anschließend mit Hilfe eines 0.88 % KCl Puffers entfernt. Hierbei wurden die Proben mit dem Puffer durch intensives Schütteln (Vortexer) gewaschen, 10 Minuten bei 1800 G und einer Temperatur von 4°C zentrifugiert (SORVALL RC 285, Fa. Dupont) und die obere der 2 entstandenen Phasen (= Wasserphase) entfernt. Der verbleibende organische Rest in der unteren Phase wurde unter Stickstoffgas verdampft. Nach Zugabe eines Methanolschwefelsäuregemisches (97:3) konnte die chemische Reaktion der Veresterung stattfinden, welche durch ein Heizbad mit einer Temperatur von 70°C (SBH 1300 BLOCKHEATER von Stuart) begünstigt wurde. Nach 75 Minuten und der anschließenden Abkühlungsphase wurden die FAMES unter Verwendung von n-Hexan aus der methanolischen Schwefelsäure gewaschen. Hierfür wurde die Probe nach Zugabe des n-Hexans geschüttelt und zentrifugiert. Die FAME-haltige Hexanphase wurde in ein neues Glasgefäß überführt und das n-Hexan unter Verwendung von Stickstoffgas verdampft. Der Vorgang der Waschung mit n-Hexan wurde ein weiteres Mal wiederholt, um die FAME-Ausbeute der Probe zu erhöhen. Nach Verdampfung des n-Hexans wurden die FAMES in 50 µl n-Hexan aufgenommen und das Gefäß wurde luftdicht verschlossen. Alle verwendeten Chemikalien waren geeignet für den Gaschromatographen (GC – Qualität) oder besaßen das Qualitätssiegel „suprasolv“. Um Verunreinigungen entgegenzuwirken, wurden alle benutzten Gefäße vorher mit n-Hexan und Stickstoffgasverdampfung gereinigt. Die Analyse der FAMES erfolgte im Gaschromatographen (GC) Varian CP 8400, ausgestattet mit einer DB-25 Säule (J&W Scientific, 30 m Länge, 0.25 mm ID, 0.25 µm Film). Die Temperatur während des Einspritzvorganges der Probe wurde auf 250°C eingestellt. Die Temperatur des Säulenofens wurde auf 60°C gesetzt und für eine Minute nach der Injektion gehalten. Danach wurde er auf 150°C (Erwärmung um 15°C pro Minute), anschließend auf 170°C (Erwärmung um 3°C pro Minute) und zum Schluss noch einmal auf 220°C (Erwärmung um 1°C pro Minute) bei einer Dauer von 21 Minuten erhitzt.

Das Trägergas Helium war mit einem konstanten Druck von 82 737 Pa, der Flammenionisations-Detektor war auf eine Temperatur von 300°C eingestellt. Eine Menge von 1 µl



### 2.2.4.3 Analyse der stabilen Isotope

Die Mantelgewebeproben der Sepien und die mittels eines Achatmörser pulverisierten Proben der Futterorganismen wurden nach dem Gefriertrocknungsprozess in Zinnkapseln (HEKAtech GmbH, 5 x 9 mm Größe) eingewogen und bis zur Messung im Exsiccator gelagert. Das Gewicht der Einwaage richtete sich nach dem Kohlen- bzw. Stickstoffgehalt des Tieres und dem Detektionsbereich des Messgerätes und lag in beiden Experimenten bei 35 – 75 µg Trockengewicht der Probe pro Zinnkapsel. Um Verunreinigungen und mögliche Datenverfälschungen zu vermeiden, wurde das verwendete Präparierbesteck (Skalpell, Pinzetten etc.) mit Aceton gereinigt. Die Analyse stabiler Isotope ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) erfolgte durch die Verwendung eines modifizierten Elementaranalysators in Kopplung an ein Isotopen-Massenspektrometer, kurz HSEA-IRMS (High sensitive elemental analyzer isotope ratio mass spectrometer).

Aufgrund der Optimierung der bisherigen Standardmethodenmessung (Hansen und Sommer 2007) konnte bereits eine sehr geringe Probenmenge zuverlässig analysiert werden und eine simultane Isotopenanalyse von Stickstoff und Kohlenstoffdioxid gewährleistet werden.

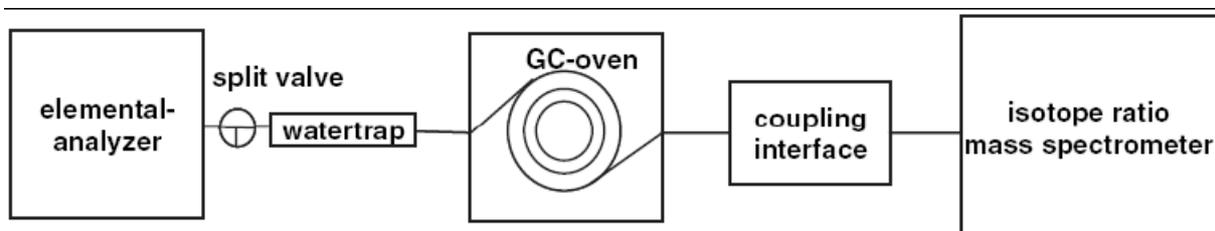


Abb. 17: Analytischer Aufbau der HSEA-IRMS Methode (nach Hansen und Sommer, 2007)

Der Verbrennungsprozess der Probe findet im Elementaranalysator statt (Abb. 17). Bei Zugabe von Sauerstoff wird das Probenmaterial bei 1020°C mit Hilfe von Chrom(III)-oxid und versilbertem Kobaltoxid verbrannt. Die daraus resultierenden Gase (hauptsächlich  $\text{CO}_2$  und  $\text{NO}_x$ ) werden durch die mit Kupfer gefüllte Reduktionssäule (Verbrennung bei 650°C) geleitet, wo die Reduktion aller Stickoxide zu  $\text{N}_2$  stattfindet. In dem sich anschließenden Gaschromatographen (GC) erfolgt die endgültige Auftrennung. Die im GC befindliche Säule (120 cm Länge) wird zu Beginn bei einer Temperatur von 40°C gehalten (5 min) und anschließend mit einem rapiden Temperaturanstieg von  $49^\circ\text{C min}^{-1}$  auf die Endtemperatur von 120°C geheizt (1 min). Die aufgetrennten Gase werden über eine sog. ConFlo III™ Schnittstelle in das Isotopen-Massenspektrometer (IRMS) transferiert (Hansen und Sommer 2007). Hier erfolgt die Analyse der Probe. Die Gase gelangen im ersten Schritt durch eine

weiße Flamme. Durch die Hitze werden dort Elektronen und die nun ionisierten und durch den Verlust des Elektrons positiv geladenen Gasmoleküle in ein Magnetfeld geleitet, wo die Trennung der Moleküle je nach Atommasse und Isotopie stattfindet. Die Moleküle werden im Weiteren von Kollektoren erfasst und gezählt. Da Gasmoleküle mit Extranutronen mehr Kraft benötigen, um aus ihrer Flugbahn verdrängt zu werden als leichtere Isotope, besitzen sie demzufolge verschiedene Flugbahnen (Fry 2006). Diese Unterschiede im Masse-Ladungs-Verhältnis werden als Rohwerte vermessen und die daraus resultierenden Daten mit Hilfe der Isodat™ Software (Version 2.2, ThermoFinnigan) erfasst und die isotopische Zusammensetzung in ein Verhältnis setzt. Das stabile Isotopenverhältnis wird mit der Bezeichnung „ $\delta$ -Wert (‰)“ ausgedrückt.

Der  $\delta$ -Wert beschreibt die Differenz der Messungen ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  und  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) relativ zu einer Standard-Isotopen-Zusammensetzung:

$$\delta^{\text{H}X} = [R_{\text{Probe}} / R_{\text{Standard}} - 1] * 1000 ]$$

X = chemisches Element (C oder N)

$^{\text{H}}$  = Gewicht des schweren Isotops von Element X

R = Verhältnis schweres Isotop / leichtes Isotop von X ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  oder  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ )

$\delta^{\text{H}X} > 0$      $\rightarrow$  Probe angereichert mit schwerem Isotop

$\delta^{\text{H}X} = 0$      $\rightarrow$  kein Unterschied zum Standard

$\delta^{\text{H}X} < 0$      $\rightarrow$  Probe angereichert mit leichtem Isotop

Negative  $\delta$ -Werte weisen auf einen relativ geringen Anteil des schweren Isotops hin im Vergleich zum verwendeten Standard.

Proben mit einem höheren  $\delta$ -Wert sind angereichert mit schweren Isotopen, d.h. sie sind „schwerer“.

Der  $\delta$ -Wert einer Probe ist ein Indikator für den prozentualen Anteil des schweren Isotops, es besteht eine lineare Beziehung zwischen  $\delta$ -Wert und dem Isotopengehalt der Probe (Fry, 2006).

Als Standard wurde der interne Labor-Standard (ILS) Acetanilid mit einem  $\delta^{15}\text{N}$  von  $-2.39 \pm 0.34$  (Standardabweichung; STABW) und einem  $\delta^{13}\text{C}$  von  $-30.47 \text{‰} \pm 0.28$  (STABW) verwendet.

Vor Beginn der täglichen Probenmessungen wird jeweils eine ILS-Reihe mit unterschiedlichen Mengen zur Kontrolle der Systemlinearität verbrannt. Um die Qualität der Daten zu gewährleisten wird außerdem nach jeder 6. Probe eine ILS-Verbrennung durchgeführt (Jardine und Cunjak 2005; Hansen und Sommer 2007).

Die Kalibrierung des Systems erfolgt durch die Verbrennung von Standards der „International Atomic Agency“ (N1-, N2-, N3-) und des „National Institute of Standards and Technology“ (NBS-22 und Graphit).

Die trophische Fraktionierung stabiler Isotope ereignet sich während verschiedener biochemischer Reaktionen (u. a. Atmung, Verdauung, Proteinbiosynthese) und beschreibt den Unterschied der  $\delta$ -Werte zwischen Futterquelle (A) und Konsument (B). Sie wird im Allgemeinen mit  $\Delta$  bezeichnet:

$$\Delta = \delta_B - \delta_A$$

Ein positiver  $\Delta$ -Wert weist auf eine relativ hohe Konzentration des schweren Isotops im Konsumenten (B) hin. Die Berechnung der Isotopenzusammensetzung der Futterquelle setzt sich aus dem jeweiligen Mittelwert der verwendeten Futtergruppe zusammen. Die Sepien wurden individuell in die Berechnung einbezogen.

Die Analysen wurden am Leibniz-Institut für Meereswissenschaften Kiel durchgeführt.

### 2.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Software STATISTICA Version 6 von StatSoft, Inc. (2003) sowie SPSS 8.0 für Windows (Student version; SPSS Inc. ,1998).

Da im ersten Experiment nur ein Futterorganismus zur Verfügung gestellt wurde, konnten dementsprechend keine Vergleiche zu anderen Futteralternativen gezogen und nur Start- und Endwerte der mit Mysis gefütterten Sepien verglichen werden. Somit entfiel hier die statistische Auswertung mit Hilfe einer ANOVA bzw. eines t-Tests.

Im zweiten Experiment wurden zunächst die Tanks untereinander getestet, um einen möglichen Tankeffekt sichtbar zu machen. Beim Vergleich der gefütterten Sepien wurde das t-Testverfahren angewendet, in dem die Mittelwerte der beiden Gruppen (Fisch / Garnele) miteinander verglichen wurden. Die Prüfung der Varianzhomogenität erfolgte über den Levenes-Test.

Bei der Auswertung der Fettsäuresignatur wurde eine ANOVA gerechnet und aufgrund der variierenden Stichprobenanzahl der Post Hoc Test HSD Test für ungleiche N, Typ III (sowohl bei den Futterorganismen, als auch bei den Sepiengruppen) angewendet.

Am Ende des zweiten Experiments verfügte die mit Garnelen gefütterte Sepiengruppe über drei Tanks, die mit Fisch gefütterte Sepiengruppe hingegen nur über zwei Tanks. Da es bei *S. officinalis* (Fisch) teilweise einen signifikanten Unterschied zwischen den Tanks gab, konnte dann kein repräsentativer Vergleich zu der mit Garnelen gefütterten Sepiengruppe gezogen werden. Somit konnten zum Teil die Varianzanalysen zur statistischen Auswertung der verschiedenen Wachstumsmuster der Sepien (aufgrund ungleichmäßiger Grundgesamtheiten und geringer Stichprobenanzahlen) nicht durchgeführt werden, da die Voraussetzungen für die Signifikanz-Testverfahren nicht eindeutig vorlagen.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Abiotische Parameter

Über den gesamten Versuchszeitraum nahm die Temperatur des verwendeten Kreislaufwassers insgesamt ab und bewegte sich im Mittel um  $20.9 \pm 2.5^\circ\text{C}$  (Abb. 18). Während bei Experiment 1 die Temperatur im Mittel bei  $21^\circ\text{C}$  lag, lag die Temperatur in Experiment 2 im Durchschnitt bei  $17.7^\circ\text{C}$ .

Der Salzgehalt des Ria Formosa Wassers im Kreislauf bewegte sich über den gesamten Versuchszeitraum um  $35.6 \pm 1.5$  PSU. Beim Vergleich beider Experimente war auch hier eine Abnahme sichtbar. Der Salzgehalt in Experiment 1 lag bei  $36.6 \pm 1.2$  PSU, in Experiment 2 hingegen lag er im Mittel bei  $33.5 \pm 1.0$  PSU. Auffällig war der kurze Anstieg des Salzgehaltes in der Mitte von Experiment 1 (06.10.06). Zu dieser Zeit gab es auch ein Absinken in der Temperatur von  $22^\circ\text{C}$  (03.10.06) auf  $19.7^\circ\text{C}$ .

Zu Beginn des 2. Experiments gab es einen Sprung im Salzgehalt von 36.2 PSU (05.11.06) auf 31.3 (07.11.06).

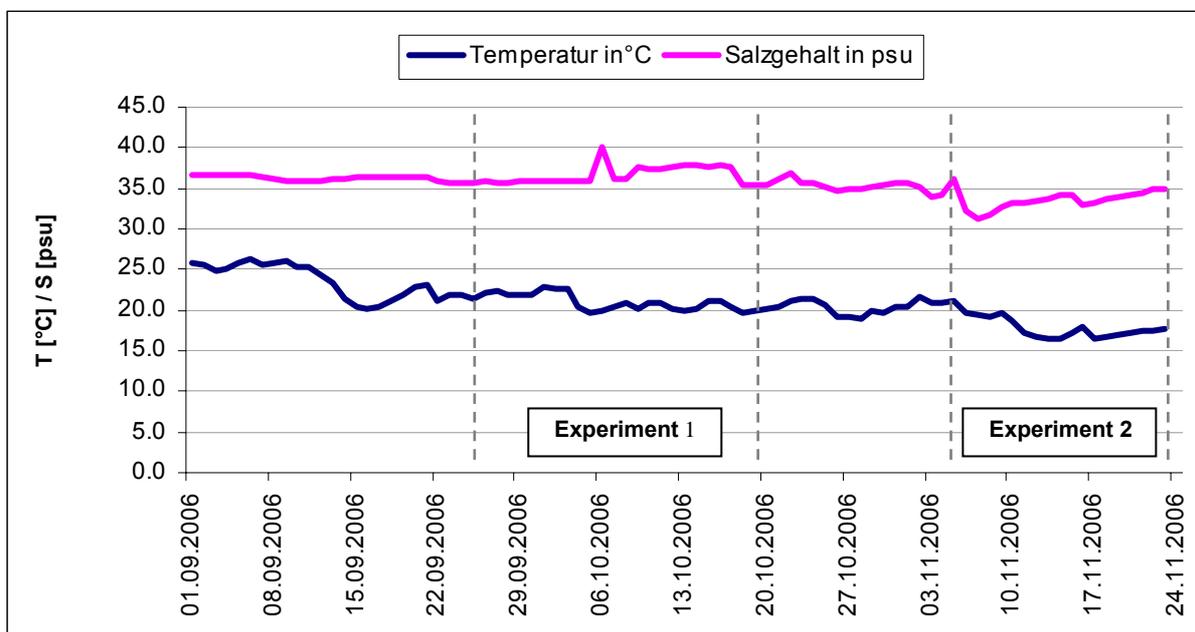


Abb. 18: Temperaturverlauf (T) in  $[\text{°C}]$  sowie Verlauf des Salzgehaltes (S) in  $[\text{PSU}]$  (Skalierung der y-Achse gilt für T und S) mit Vorlaufmessungen

## 3.2 Wachstum von *Sepia officinalis*

### 3.2.1 Experiment 1 : Hatchlinge

In diesem Experiment befanden sich pro Tank jeweils 16 Tiere auf einer Tankfläche von 0.164 m<sup>2</sup>. Somit war in jedem Tank eine Besatzdichte von 150.4 Tieren m<sup>-2</sup> vorhanden.

Das Wachstum der Hatchlinge wurde durch den Vergleich der Einwaagen der eingesetzten Sepien (*S. officinalis* (Start I)) und der Einwaage der noch vorhandenen Sepien am Ende des Experiments (*S. officinalis* (Mys)) ermittelt (Abb. 19).

Das mittlere Nassgewicht der frisch geschlüpften Sepien lag zu Beginn des Experiments bei  $0.07 \pm 0.009$  g. Am Ende des Experiments lag das mittlere Nassgewicht der Hatchlinge bei  $0.47 \pm 0.07$  g. Die ermittelte relative Wachstumsrate (IGR) betrug  $0.07 \text{ gd}^{-1}$ .

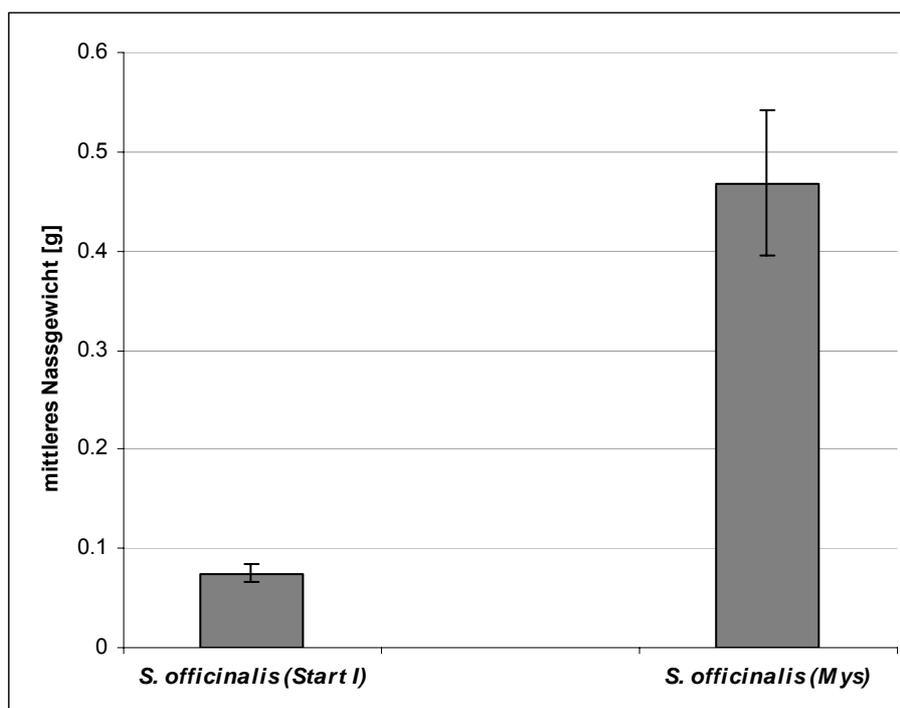


Abb. 19: Darstellung der mittleren Nassgewichte der Sepien ( $\pm$  STABW); Ein- und Auswaage der Tiere von Experiment 1 im Vergleich (*S. officinalis* (Start I): n=48, *S. officinalis* (Mys): n=42)

### 3.2.2 Experiment 2 : Juvenile

In diesem Experiment herrschte in jedem Tank eine Besatzdichte von 60.3 Tieren  $m^{-2}$  (pro Tank waren 12 Tiere auf einer Fläche von 0.2025  $m^2$ ).

Die Ermittlung des juvenilen Wachstums erfolgte durch den Vergleich aller Einwaagen der Starttiere (Start) mit den Einwaagen der verbliebenen Sepien der jeweiligen Gruppe: Fischmix (Fisch), Garnele (Pal) und der Hungergruppe (Hunger).

Beide gefütterten Gruppen zeigten positives Wachstum (Abb. 20). Die mit Fisch gefütterten juvenilen Sepien waren mit  $1.65 \pm 0.33$  g im Vergleich zur Startgruppe (*S. officinalis* (Start I):  $1.22 \pm 0.14$  g) um 0.43 g schwerer und wiesen eine relative Wachstumsrate (IGR) von  $0.015$   $gd^{-1}$  auf. Einen deutlich höheren Zuwachs verzeichneten die mit Garnelen gefütterten juvenilen Sepien (IGR= $0.041$   $gd^{-1}$ ). Ihr Endgewicht lag bei  $2.77 \pm 0.48$  g. Die zwei verbliebenen Sepien der Hungergruppe wiesen mit  $1.09 \pm 0.07$  g ein geringeres mittleres Nassgewicht im Vergleich zur Startgruppe auf (IGR=  $-0.0057$   $gd^{-1}$ ).

Bei einem statistischen Vergleich der gefütterten Sepiengruppen konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den mit Fisch gefütterten und den mit Garnelen gefütterten Sepien festgestellt werden (t-Test,  $p=0,002$ ; SPSS).

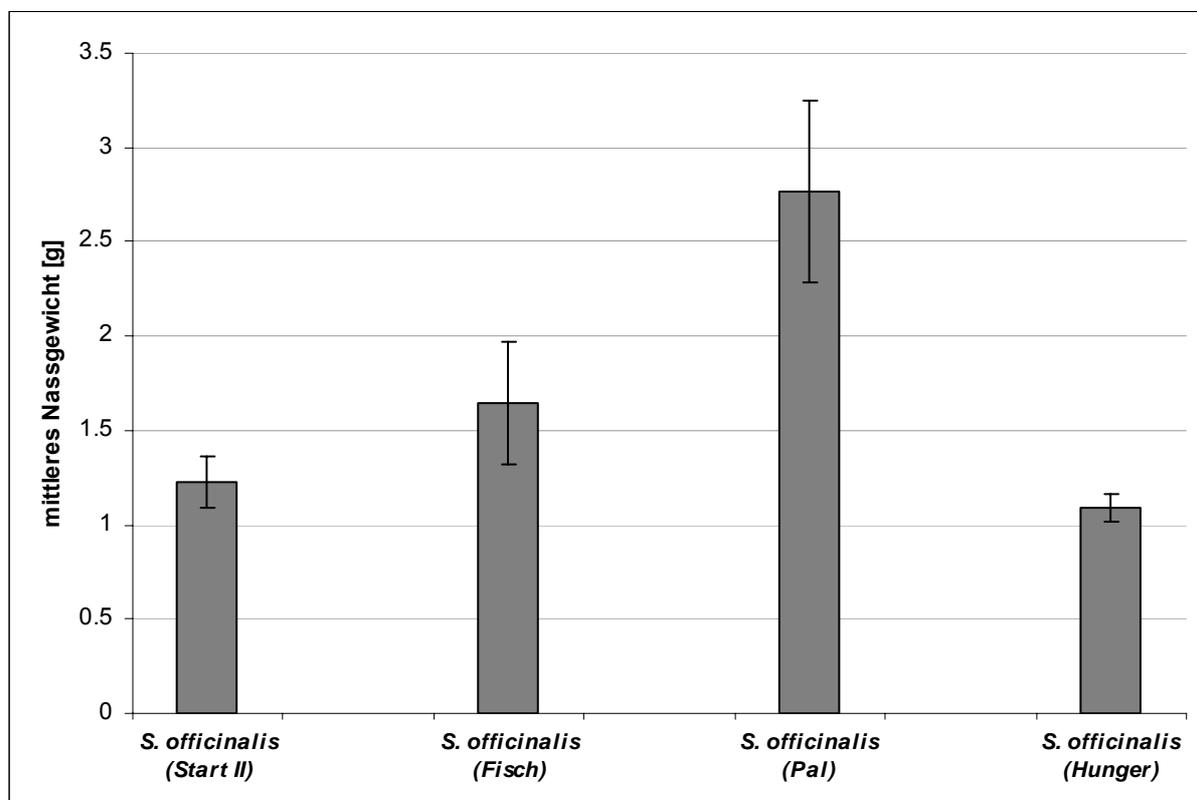


Abb. 20: Darstellung der mittleren Nassgewichte der Sepien ( $\pm$  STABW), Ein- und Auswaage der Tiere von Experiment 2 im Vergleich (*S. officinalis* (Start II):  $n=84$ , *S. officinalis* (Fisch):  $n=20$ , *S. officinalis* (Pal):  $n=35$ , *S. officinalis* (Hunger):  $n=2$ )

### 3.3 Mortalität von *Sepia officinalis*

Die *Sepia*-Hatchlinge aus Experiment 1 wiesen eine relative Mortalität von  $12.5 \pm 6.25$  % auf (Tabelle 1, Abb. 21 a).

In Experiment 2 gab es eine starke Abweichung der relativen Mortalitäten. Die mit Fisch gefütterten Juvenilen (*S. officinalis* (Fisch)) wiesen eine relative Mortalität von 27.78 % mit einer Standardabweichung (STABW) von  $\pm 20.97$  % auf (Abb. 21 b). Die Sterblichkeit der mit Garnelen gefütterten Sepien (*S. officinalis* (Pal)) lag bei  $2.76 \pm 4.81$  % (Tabelle 1).

Trotz des scheinbar großen Unterschiedes zwischen den gefütterten Sepiengruppen (Fisch / Garnele) konnte statistisch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (t-Test,  $p > 0.05$ ; SPSS).

Tabelle 1: Relative Mortalität (in %) der einzelnen Tanks und die mittlere Mortalität sowie Standardabweichung (in %) der Sepiengruppen beider Experimente

(Werte in %)	Experiment 1		Experiment 2	
	<i>S. officinalis</i> (Mys)	<i>S. officinalis</i> (Fisch)	<i>S. officinalis</i> (Pal)	<i>S. officinalis</i> (Hunger)
<b>Tankmortalität</b>	12.5; 6.25; 18.75	25.0; 8.33; 50.0	0.0; 0.0; 8.33	83.3
<b>Mittelwert</b>	12.5	27.78	2.76	-
<b>STABW</b>	$\pm 6.25$	$\pm 20.97$	$\pm 4.81$	-

Die Hungergruppe zeigte mit 83 % eine hohe Mortalität (Abb. 21 b), wobei insgesamt 7 Tiere in der letzten Woche des Versuches starben. Am Ende des Experiments bestand sie nur noch aus zwei juvenilen Sepien. Durch die auftretenden Mortalitäten konnten am Ende des Versuchs nur die Daten von den letzten zwei überlebenden Tieren verwertet werden. Da diese Gruppe mit nur insgesamt einem Tank vertreten war, entfällt die Berechnung des Mittelwertes und seiner Standardabweichung.

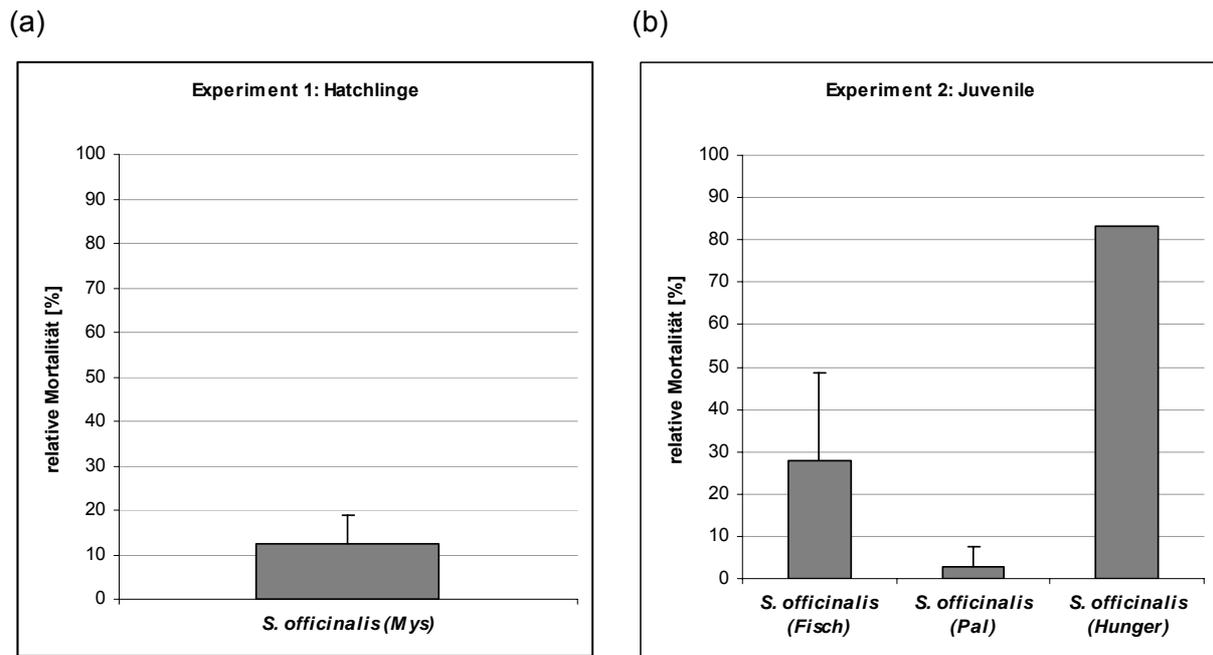


Abb. 21 (a+b): Darstellung der prozentualen Mortalität (+ STABW) der Sepien beider Experimente im Vergleich

### 3.4 Analyse der Fettsäuren

Um einen allgemeinen Überblick über die Verteilung der Fettsäuren (FS) in den jeweiligen Organismen zu erhalten, wurden neben der Gesamtfettsäurekonzentration (Gesamt FS = Summe aller ungesättigten und gesättigten FS) auch spezielle mehrfach ungesättigte Fettsäuren (engl. poly unsaturated fatty acids, PUFAs) wie Omega-3-Fettsäuren (n3) und Omega-6-Fettsäuren (n6) in Betracht gezogen. Zu dem wurde auch das Verhältnis gesättigter Fettsäuren zu ungesättigten Fettsäuren (gesättigt/ungesättigt) sowie Omega-3-Fettsäuren zu Omega-6-Fettsäuren (n3/n6) genauer betrachtet.

#### 3.4.1 Fettsäuremuster der Futterorganismen

Es ist erkennbar (Abb. 22 + Abb. 23), dass Fisch im Vergleich zu den anderen beiden Futterorganismen mit  $61.86 \pm 17.73 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  die höchste Konzentration an Fettsäuren besaß. Danach folgten Mysis (Mys) mit  $43.55 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  und Garnelen (Pal) mit  $33.94 \pm 12.36 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ .

Das Verhältnis der gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren war bei allen 3 Futterorganismen ähnlich verteilt (0.45 (Mys),  $0.54 \pm 0.14$  (Pal),  $0.59 \pm 0.05$  (Fisch)). Aufgrund des hohen

Anteils an ungesättigten Fettsäuren ( $30.03 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (Mys),  $22.67 \pm 9.56 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (Pal),  $39.04 \pm 11.41 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (Fisch) waren diese Werte sehr niedrig. Die Omega-3-Fettsäuren (n3) waren in allen 3 Futterorganismen stärker vertreten als die Omega-6-Fettsäuren (n6). Den größten Unterschied gab es bei Mysis mit einem 6-fach höheren Anteil an Omega-3-Fettsäuren im Vergleich zu Omega-6-Fettsäuren, während die Garnelen einen 4-fach und die Fische nur einen 2-fach höheren Anteil aufwiesen.

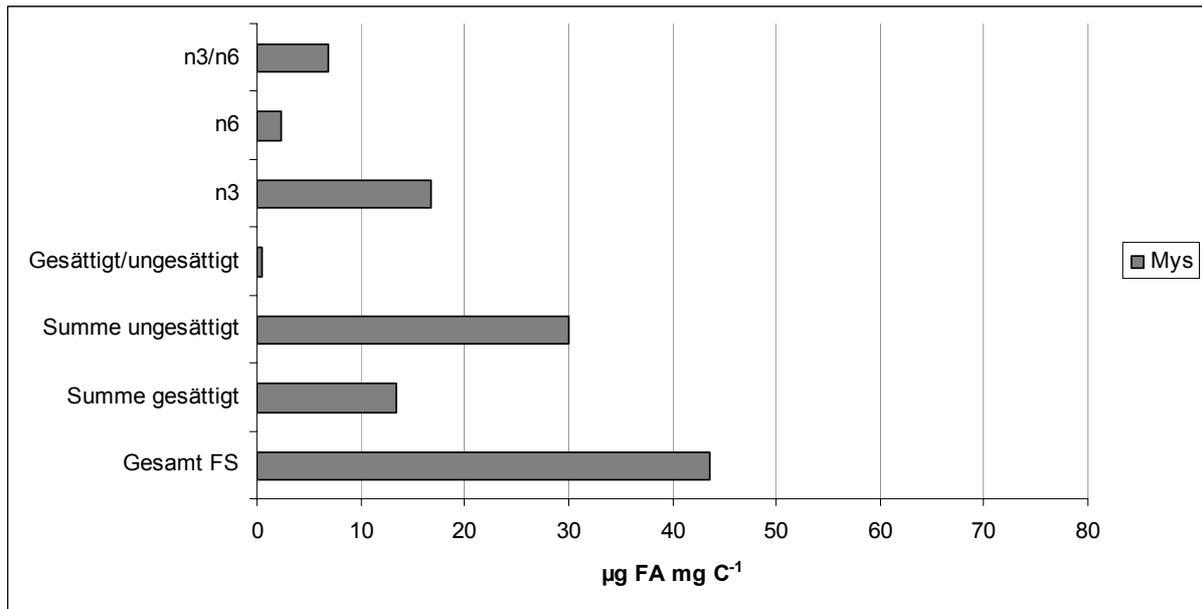


Abb. 22: Darstellung der Fettsäurezusammensetzung von Mysis (*Paramysis novelli*) in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , und deren Verhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ; (n=1)

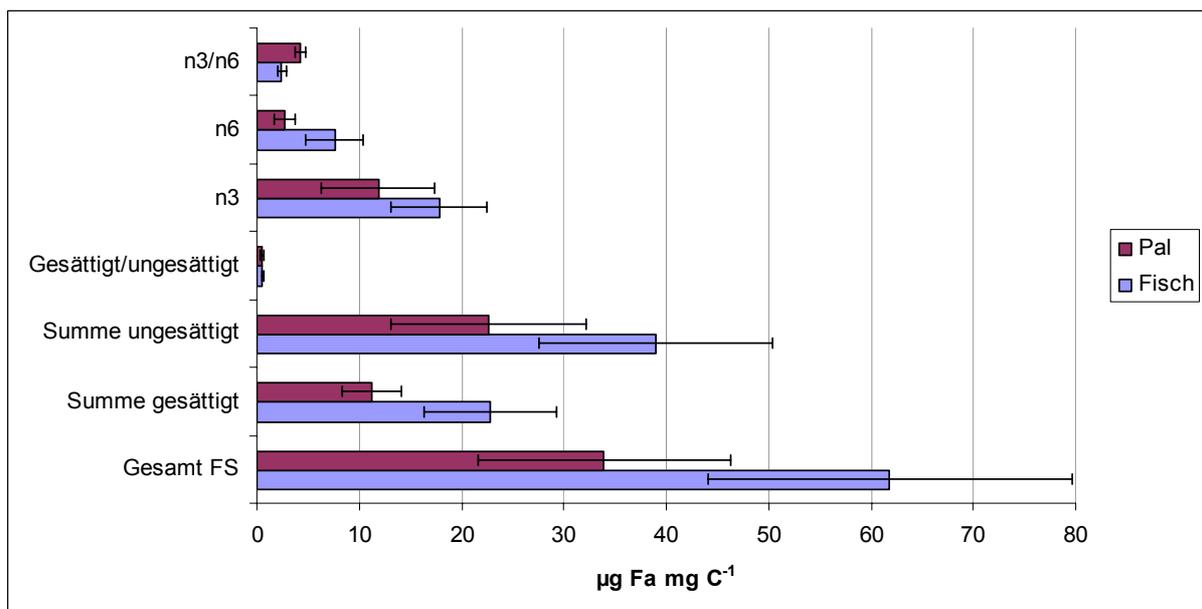


Abb. 23: Vergleich der Fettsäurezusammensetzung der verfütterten Garnelen (Pal) mit dem Fischfutter (Fisch)  $\pm$  STABW (in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ) und der Fettsäureverhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ; (Pal: n=3; Fisch: n=5)

Bei der statistischen Auswertung wurde zwischen Fisch und Garnelen (Pal) ein signifikanter Unterschied bei dem Verhältnis gesättigt zu ungesättigt ( $p=0.02$ ) sowie  $n-3 / n-6$  ( $p=0.04$ ) ermittelt (HSD Test für ungleiche N, Typ III; STATISTICA).

Um die Zusammensetzung der Futterorganismen besser miteinander vergleichen zu können, wurde neben der Fettsäurekonzentration zusätzlich die relative Verteilung der Fettsäuren graphisch dargestellt (Abb. 24). Hier war zu erkennen, dass Fisch mit 37 % den größten prozentualen Anteil an gesättigten Fettsäuren besaß. Danach folgten die Garnelen mit 33 % und Mysis mit 31 %. Die ungesättigten Fettsäuren bestanden bei allen 3 Organismen zum größten Teil aus Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren, wobei - wie oben bereits erwähnt - die Omega-3-Fettsäuren auch hier am stärksten vertreten waren (39% (Mys), 35% (Pal), 29% (Fisch)). Der Anteil der Omega-6-Fettsäuren war bei den Mysis 5.57 % am geringsten (8% (Pal), 12% (Fisch)). Auffällig ist die annähernd gleiche Verteilung der Fettsäurezusammensetzung bei Mysis und Garnelen.

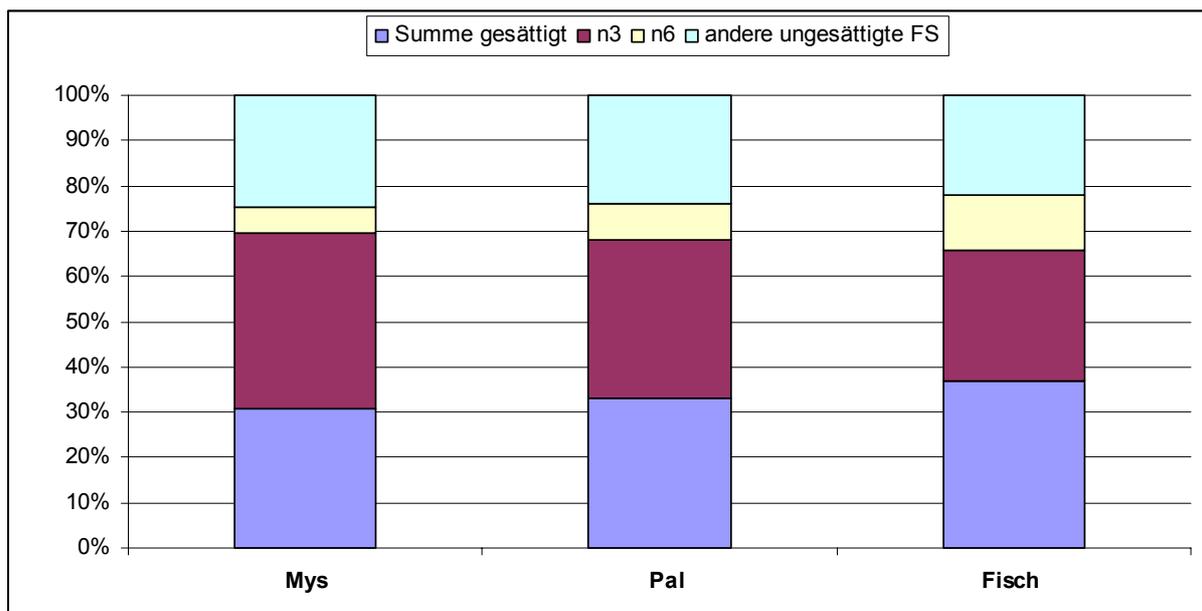


Abb. 24: Prozentuale Verteilung der Fettsäuregruppen (FS) bei den verwendeten Futterorganismen Mysis, Garnele (= Pal) und Fisch beider Experimente

### 3.4.2 Fettsäuremuster Experiment 1 : Hatchlinge

Die Fettsäureanalyse der mit Mysis gefütterten Sepien (*S. officinalis* (Mys)) ergab eine Gesamtfettsäurekonzentration von  $19.51 \pm 4.95 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , welche sich aus  $13.83 \pm 1.78 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  gesättigter und  $5.69 \pm 4.31 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  ungesättigter Fettsäuren zusammensetzte (Abb. 25). Die Omega-3-Fettsäuren waren mit einer Konzentration von  $2.87 \pm 3.41 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  fast 6-fach höher vertreten als die Omega-6-Fettsäuren ( $0.72 \pm 0.98 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ).

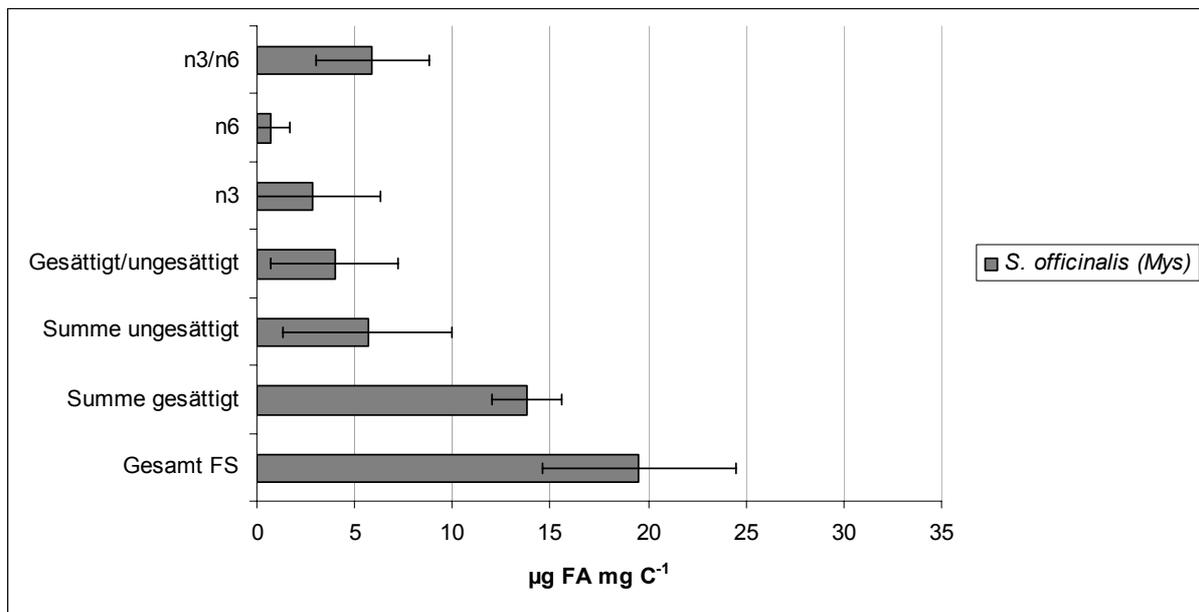


Abb. 25: Darstellung der Fettsäurezusammensetzung der mit Mysis gefütterten Sepien ( $\pm$  STABW) in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1}$  und der Verhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (n=9)

Um eine Aussage über Veränderungen im Fettsäuremuster der Sepien treffen zu können, wurde neben der Verteilung der Fettsäuren des Futterorganismus die Fettsäurezusammensetzung der frisch geschlüpften Sepien (*S. officinalis* (Start I)) mit der Zusammensetzung der mit Mysis gefütterten Sepien verglichen (Abb. 26).

Es ist erkennbar, dass Mysis mit  $43.55 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  eine höhere Gesamtfettsäurekonzentration als die mit Mysis gefütterten Sepien ( $19.51 \pm 4.95 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ) aufwies. Im Vergleich zu den frisch geschlüpften Sepien mit  $17.74 \pm 7.07 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , besaßen die mit Mysis gefütterten Sepien jedoch eine annähernd ähnliche Fettsäurezusammensetzung.

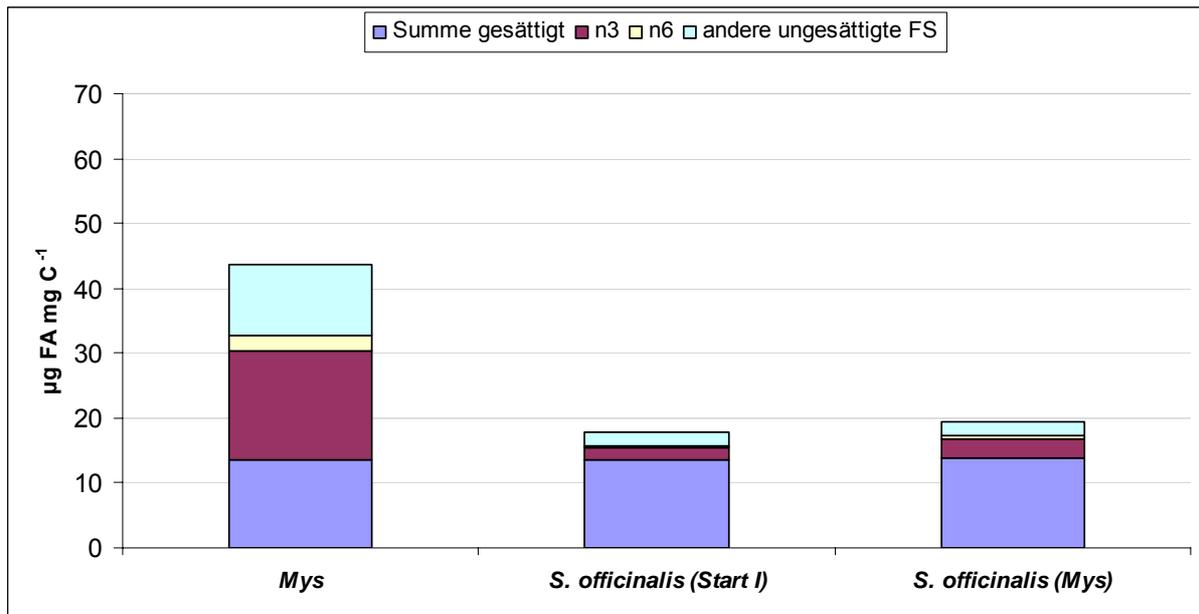


Abb. 26: Vergleich der Fettsäurezusammensetzung (FS) des verwendeten Futterorganismus Mysis, der Start- sowie Endgruppe von Sepia aus Experiment 1 (Mys: n= 1, *S. officinalis* (Start I): n=9, *S. officinalis* (Mys): n=10)

Beim Vergleich der gesättigten Fettsäurekonzentrationen der beiden Sepiengruppen mit dem Futterorganismus Mysis schwankten diese minimal um den Wert 13  $\mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (siehe Tabelle 2). Betrachtet man allerdings die relative Verteilung der Fettsäuren innerhalb der Tiere (Abb. 27), so ist erkennbar, dass in den Sepien die gesättigten Fettsäuren zwischen 70 und 80 % der Gesamtfettsäuren ausmachten, während beim Futterorganismus Mysis nur ein gesättigter Fettsäureanteil von  $\sim 30\%$  vorlag. Die ungesättigten Fettsäuren waren in den drei Gruppen zwar unterschiedlich stark vertreten, bestanden aber immer zum größten Anteil aus Omega-3-Fettsäuren.

Vergleicht man beide Sepiengruppen miteinander, so war am Ende des Experiments eine Abnahme des gesättigten Fettsäureanteils um ca. 6 % sichtbar. Demzufolge gab es in den ungesättigten Fettsäuren eine relative Zunahme, die sich mit 5 % auf Omega-3-Fettsäuren und mit 1 Prozent auf Omega-6-Fettsäuren verteilten, während die anderen ungesättigten Fettsäuren keine prozentuale Veränderung aufzeigten.

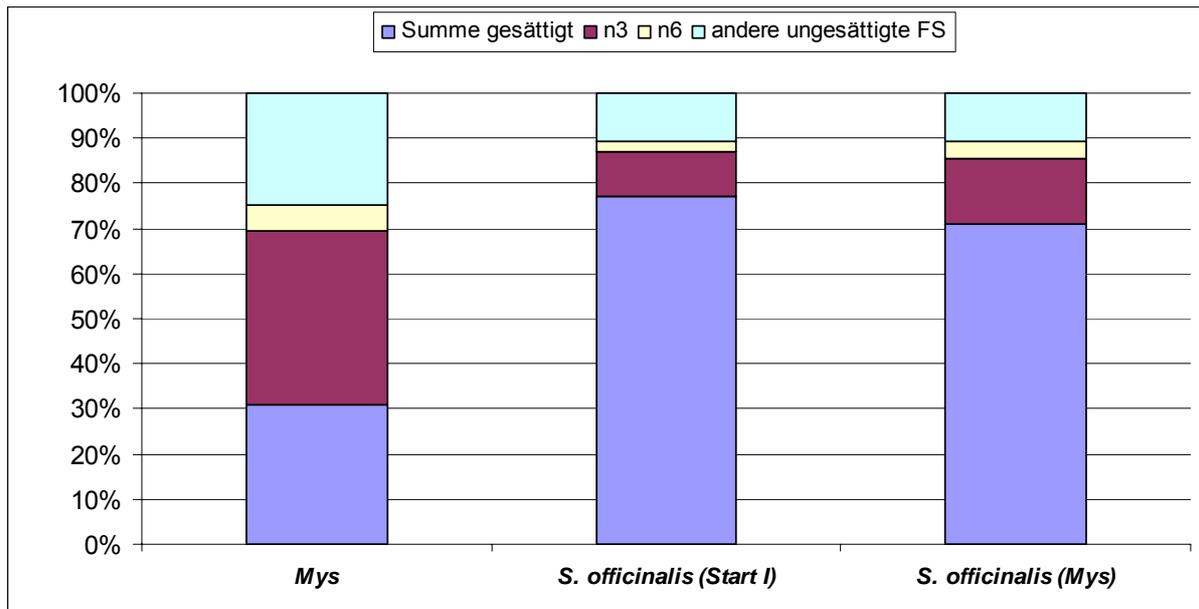


Abb. 27: Prozentuale Verteilung der Fettsäuregruppen (FS) bei dem verwendeten Futterorganismus Mysis, bei der Start- sowie Endgruppe von Sepia aus Experiment 1

Anschließend wurde die Differenz der Fettsäuren zwischen den frisch geschlüpften Sepien und den mit Mysis gefütterten Sepien berechnet und die Anreicherung bzw. Abreicherung der Fettsäuren graphisch dargestellt (Abb. 28 (a+b)). Die Gesamtfettsäurekonzentration der mit Mysis gefütterten Sepien nahm um  $1.77 \pm 2.12 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  zu.

Diese Anreicherung fand neben der gesättigten Fettsäure C 16:0 (Palmitinsäure) hauptsächlich in den ungesättigten Omega-3-Fettsäuren Eicosapentaensäure C 20:5 n3 (Eicosapentaenoic acid, EPA), Docosapentaensäure C 22:5 n3 (Docosapentaenoic acid, DPA) und Docosahexaensäure C 22:6 n3 (Docosahexaenoic acid, DHA) statt. Auch in der Omega-6-Fettsäure C 20:4 n6, Arachidonsäure (Arachidonic acid, ARA), trat eine Anreicherung auf. Nennenswerte Abreicherungen gab es in den gesättigten Fettsäuren C 17:0 und C 18:0 (s. auch Tabelle 2).

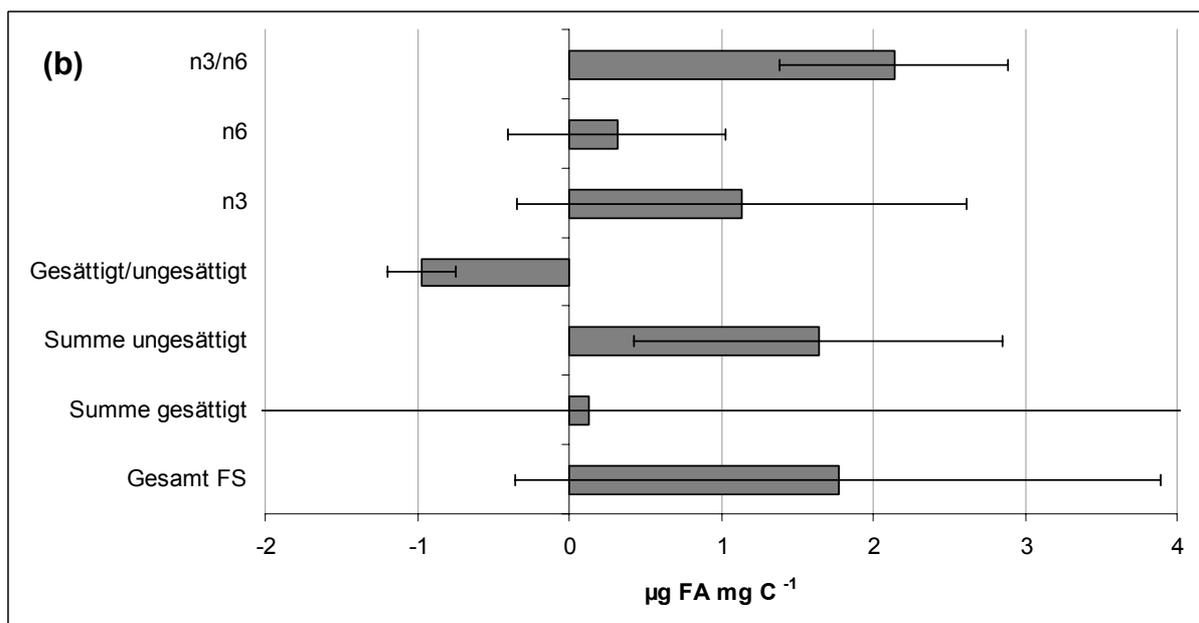
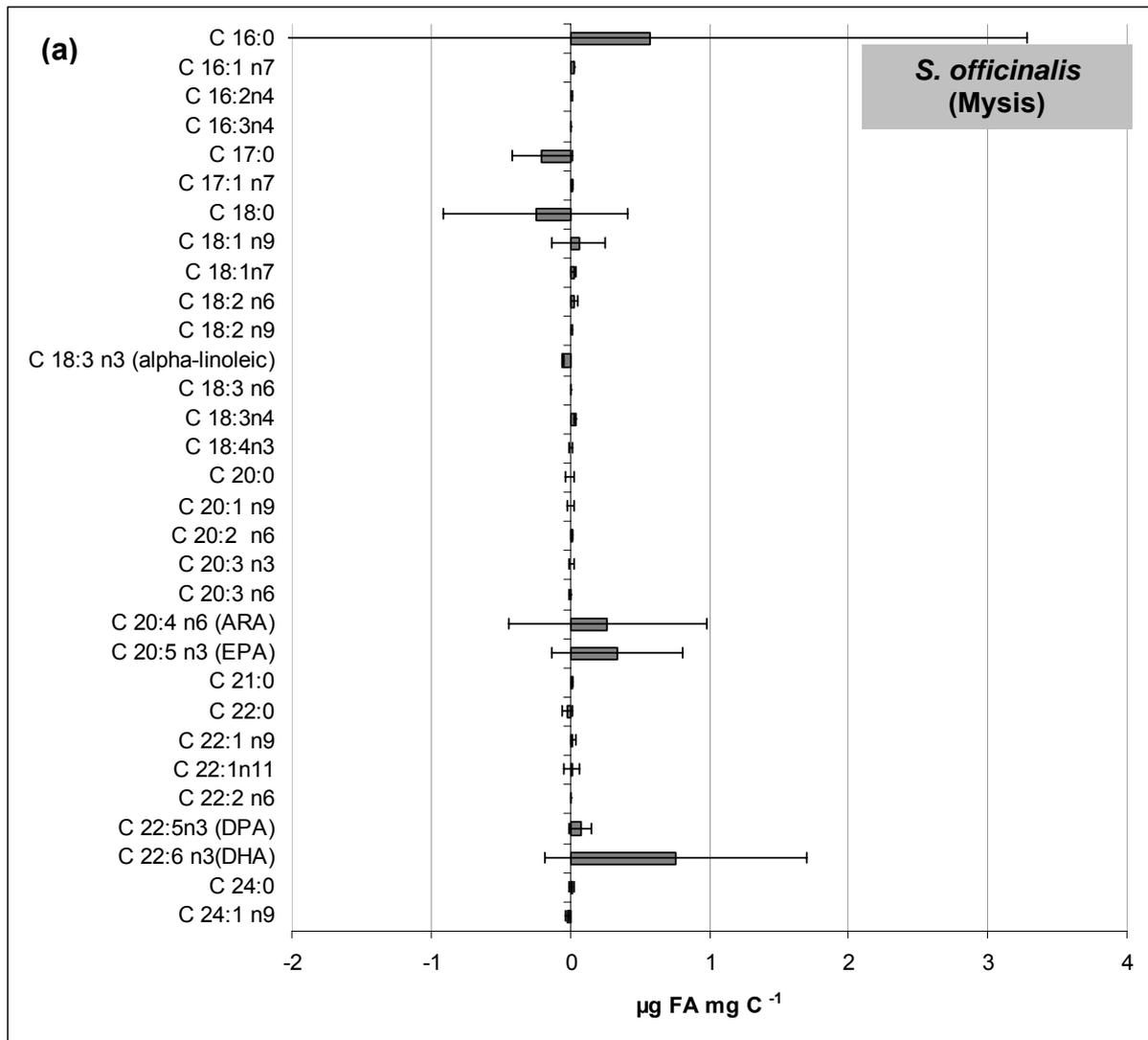


Abb. 28 (a+b): Fettsäureanreicherung ( $\geq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) und -abreicherung ( $\leq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) der Sepien, die mit Mysis gefüttert wurden, in Bezug auf die Starttiere von Experiment1 (Fettsäureverhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ )

Tabelle 2: Fettsäurezusammensetzung des Futterorganismus Mysis (n=1) sowie der Start- und Endgruppe (n<sub>start</sub>=9; n<sub>ende</sub>=10) der Sepien aus Experiment 1 als Mittelwert ( $\pm$  STABW) in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1}$  und als prozentualer Anteil am Gesamtfettsäuregehalt (Fettsäureverhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ). Bei einem Wert von 0 waren die Fettsäuren nicht vorhanden oder kleiner als 0.005.

Experiment I : Hatchlinge						
	<i>P. novelli</i>		<i>S. officinalis</i> (Start I)		<i>S. officinalis</i> (Mys)	
	$\mu\text{g FA mg C}^{-1}$ MW (STABW)	rel. Anteil (%)	$\mu\text{g FA mg C}^{-1}$ MW (STABW)	rel. Anteil (%)	$\mu\text{g FA mg C}^{-1}$ MW (STABW)	rel. Anteil (%)
<b>C 16:0</b>	9.76 (0)	34.08	8.64 (3.99)	48.70	9.22 (1.29)	47.25
<b>C 16:1 n7</b>	2.03 (0)	0.47	0.04 (0.03)	0.24	0.07 (0.03)	0.35
<b>C 16:2n4</b>	0.3 (0)	0.24	0.05 (0.02)	0.30	0.06 (0.03)	0.32
<b>C 16:3n4</b>	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00
<b>C 17:0</b>	0.54 (0)	3.03	0.86 (0.39)	4.85	0.66 (0.17)	3.36
<b>C 17:1 n7</b>	0.51 (0)	0.23	0.02 (0.02)	0.12	0.04 (0.02)	0.19
<b>C 18:0</b>	2.9 (0)	16.22	3.86 (1.34)	21.77	3.62 (0.68)	18.53
<b>C 18:1n7</b>	2.28 (0)	1.35	0.17 (0.11)	0.99	0.2 (0.09)	1.01
<b>C 18:1 n9</b>	5 (0)	5.68	1.05 (0.64)	5.93	1.11 (0.45)	5.71
<b>C 18:2 n9</b>	0.12 (0)	0.50	0.11 (0.04)	0.60	0.11 (0.05)	0.58
<b>C 18:2 n6</b>	0.6 (0)	1.42	0.12 (0.09)	0.68	0.15 (0.11)	0.77
<b>C 18:3 n6</b>	0.34 (0)	0.11	0.03 (0.01)	0.15	0.03 (0.01)	0.15
<b>C 18:3n4</b>	0.15 (0)	0.26	0.02 (0.04)	0.12	0.06 (0.03)	0.29
<b>C 18:3 n3</b>	0.29 (0)	0.60	0.12 (0.06)	0.66	0.06 (0.05)	0.32
<b>C 18:4n3</b>	0.59 (0)	0.25	0.03 (0.04)	0.17	0.03 (0.02)	0.16
<b>C 20:0</b>	0.13 (0)	0.66	0.14 (0.06)	0.80	0.14 (0.02)	0.72
<b>C 20:1 n9</b>	0.38 (0)	2.38	0.36 (0.28)	2.02	0.36 (0.26)	1.85
<b>C 20:2 n6</b>	0.17 (0)	0.36	0.02 (0.03)	0.13	0.03 (0.04)	0.18
<b>C 20:3 n6</b>	0.15 (0)	0.02	0 (0)	0.01	0 (0)	0.00
<b>C 20:4 n6 (ARA)</b>	1.17 (0)	3.05	0.23 (0.22)	1.29	0.5 (0.94)	2.55
<b>C 21:0</b>	0.05 (0)	0.15	0.02 (0.02)	0.12	0.03 (0.02)	0.18
<b>C 20:3 n3</b>	0 (0)	0.33	0.01 (0.01)	0.08	0.02 (0.02)	0.12
<b>C 20:5 n3 (EPA)</b>	10.1 (0)	10.18	0.6 (0.69)	3.38	0.94 (1.16)	4.81
<b>C 22:0</b>	0.04 (0)	0.18	0.07 (0.05)	0.39	0.05 (0.01)	0.25
<b>C 22:1n11</b>	0 (0)	0.01	0.01 (0.01)	0.07	0.03 (0.07)	0.14
<b>C 22:1 n9</b>	0.04 (0)	0.10	0.02 (0.01)	0.10	0.04 (0.03)	0.18
<b>C 22:2 n6</b>	0 (0)	0.10	0 (0)	0.01	0 (0.01)	0.02
<b>C 22:5n3 (DPA)</b>	0.16 (0)	1.86	0.13 (0.15)	0.73	0.2 (0.23)	1.05
<b>C 22:6 n3(DHA)</b>	5.69 (0)	15.50	0.85 (1.05)	4.77	1.61 (1.99)	8.24
<b>C 24:0</b>	0.03 (0)	0.53	0.1 (0.04)	0.56	0.11 (0.05)	0.57
<b>C 24:1 n9</b>	0.02 (0)	0.17	0.05 (0.03)	0.27	0.03 (0.03)	0.14
<b>DHA/EPA</b>	0.56 (0)		1.54 (0.80)		1.68 (0.23)	
<b>Gesamt FS</b>	43.55 (0)		17.74 (7.07)		19.51 (4.95)	
<b>Summe ges.</b>	13.46 (0)	30.90	13.7 (5.75)	77.20	13.83 (1.78)	70.86
<b>Summe unges.</b>	30.09 (0)	69.10	4.04 (3.1)	22.80	5.69 (4.31)	29.14
<b>Ges./unges.</b>	0.45 (0)	1.03	4.97 (3.03)	27.99	4 (3.26)	20.48
<b>n3</b>	16.84 (0)	38.66	1.74 (1.93)	9.78	2.87 (3.41)	14.70
<b>n6</b>	2.43 (0)	5.57	0.4 (0.27)	2.26	0.72 (0.98)	3.67
<b>n3/n6</b>	6.94 (0)	15.94	3.78 (2.15)	21.28	5.91 (2.91)	30.30

### 3.4.3 Fettsäuremuster Experiment 2 : Juvenile

Beim Vergleich der verschiedenen gefütterten Sepien aus Experiment 2 (Abb. 29) war erkennbar, dass die mit Fisch gefütterten Sepien eine höhere Gesamtfettsäurekonzentration aufwiesen ( $21.43 \pm 10.69 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ) als die mit Garnelen gefütterten Sepien ( $19.75 \pm 6.18 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ). Die Gesamtfettsäurekonzentration der Hungergruppe war mit  $16.34 \pm 2.99 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  am niedrigsten. Die gefütterten Sepiengruppen ähnelten sich in ihrer gesättigten Fettsäurekonzentration (*S. officinalis* (Fisch):  $11.75 \pm 2.78 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , *S. officinalis* (Pal):  $11.51 \pm 2.03 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ), in der Konzentration der ungesättigten Fettsäuren wichen sie geringfügig voneinander ab (*S. officinalis* (Fisch):  $9.68 \pm 9.08 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , *S. officinalis* (Pal):  $8.24 \pm 5.54 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ), wobei man bei den hohen Standardabweichungen schwer eine Aussage treffen kann.

Der größte Teil der ungesättigten Fettsäuren spiegelte sich in allen 3 Sepiengruppen in der Omega-3-Fettsäurekonzentration wider (*S. officinalis* (Fisch):  $6.15 \pm 6.54 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , *S. officinalis* (Pal):  $5.04 \pm 4.57 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , *S. officinalis* (Hunger):  $3.43 \pm 2.08 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ).

Das Verhältnis Omega-3- zu Omega-6-Fettsäuren ist in der Hungergruppe mit einem Wert von  $11.36 \pm 6.65$  am höchsten.

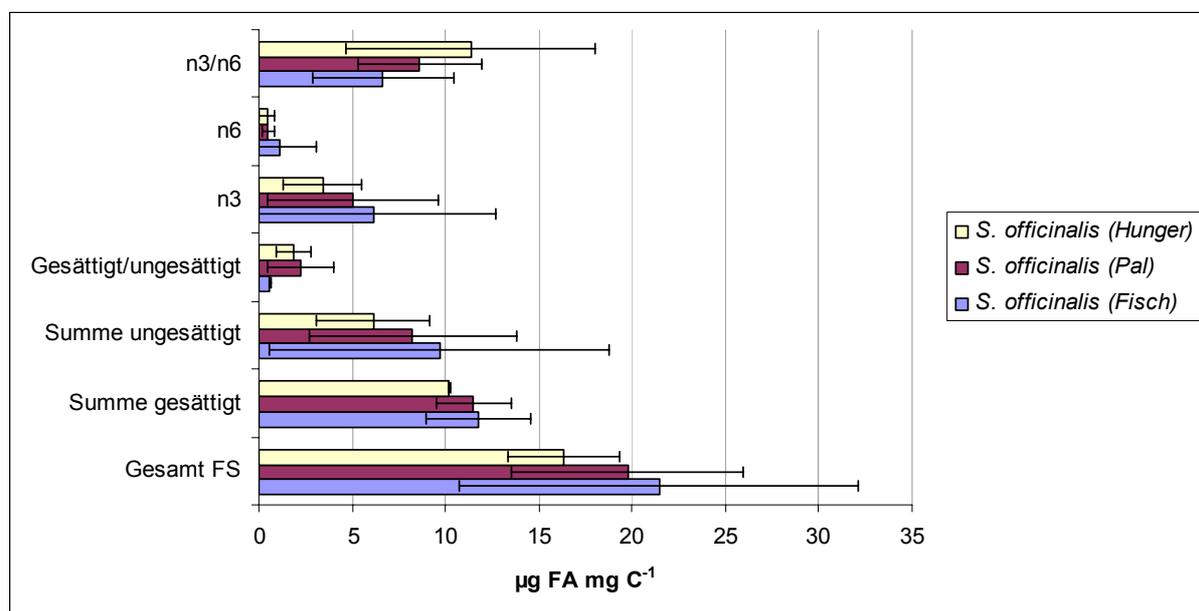


Abb. 29: Vergleich der Fettsäurezusammensetzung der juvenilen Sepien aus Experiment 2 ( $\pm$  STABW) in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , (*S. officinalis* (Hunger):  $n=2$ , *S. officinalis* (Pal):  $n=35$ , *S. officinalis* (Fisch):  $n=20$ )

Beim Vergleich der Fettsäurekonzentrationen der Futterorganismen mit den getesteten Sepiengruppen (inklusive Start- und Wildseprien, siehe Abb. 30), wiesen auch hier die Futterorganismen höhere Gesamtfettsäurekonzentrationen auf (Fisch:  $61.86 \pm 17.73 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , Garnele:  $33.94 \pm 12.36 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ). Unterschiede wurden

auch bei der Betrachtung der Gesamtfettsäurekonzentrationen innerhalb der Sepiengruppen gefunden. Die Juvenilen, die zu Beginn des Experiments beprobt wurden (*S. officinalis* (Start II)), lagen mit einer Gesamtfettsäurekonzentration von  $28.3 \pm 10.68 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  höher als die der älteren Sepien. Die gefütterten Sepien wiesen eine ähnliche Gesamtfettsäurekonzentration wie die Wildsepier auf. Die mit Garnelen gefütterten Sepien lagen mit einer Konzentration von  $19.75 \pm 6.18 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  zwischen *S. officinalis* (Fisch) mit  $21.43 \pm 10.68 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  und den Wildsepier ( $18.19 \pm 4.74 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ). Den geringsten Wert besaßen die Tiere der Hungergruppe mit  $16.34 \pm 2.99 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (Tabelle 3).

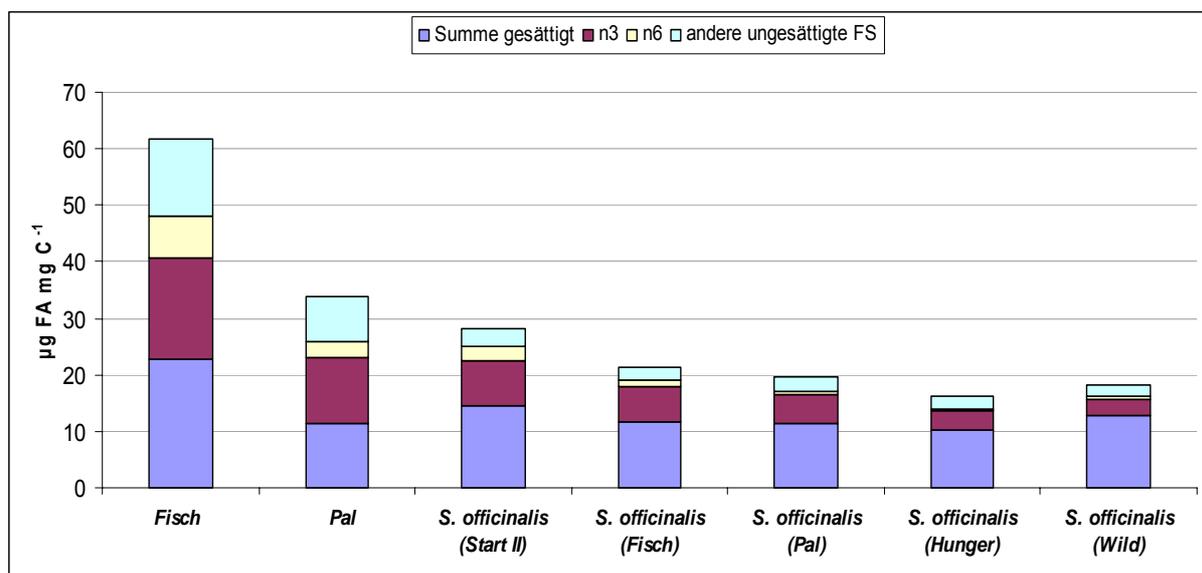


Abb. 30: Vergleich der Fettsäurezusammensetzung (FS) der verwendeten Futterorganismen Fisch und Garnelen (Pal), der jeweiligen Start-, End- und Hungergruppen von *Sepia* aus Experiment 2 sowie den Wildfängen (Fisch: n=5, Pal: n=3, *S. officinalis* (Start II): n=5, *S. officinalis* (Fisch): n=20, *S. officinalis* (Pal): n=35, *S. officinalis* (Hunger): n=2, *S. officinalis* (Wild): n=10)

Bei genauerer Betrachtung der Fettsäuren bezüglich ihrer prozentualen Verteilung (Abb. 31) waren einige Unterschiede zwischen den Tiergruppen erkennbar. Die Futterorganismen hatten einen höheren Anteil ungesättigter Fettsäuren als die Sepien. Innerhalb der Sepiengruppen nahm der Anteil der gesättigten Fettsäuren zu. Während bei den Juvenilen zu Beginn des Experiments die gesättigten Fettsäuren 52 % der Gesamtfettsäuren ausmachten, stieg dieser Anteil bei den mit Fisch gefütterten auf 55 %, bei den mit Garnelen gefütterten auf 58 % bis hin zu 62 % bei der Hungergruppe. Die Wildtiere im Vergleich zeigten einen noch höheren Anteil von 70 %.

Die Verteilung der Omega-3-Fettsäuren war bei den Start- und den mit Fisch bzw. Garnelen gefütterten Sepien relativ konstant (*S. officinalis* (Start II): 27 %, (*S. officinalis* (Fisch): 29 %, (*S. officinalis* (Hunger): 26 %) während die Wildsepier und die Hungergruppe niedrigere

Anteile aufzeigten (*S. officinalis* (Wild): 16 %, (*S. officinalis* (Hunger): 21 %). Die Omega-6-Fettsäure-Anteile verteilten sich bei den mit Fisch gefütterten Sepien auf 5 %, bei den mit Garnelen gefütterten Sepien sowie den Wild- und Hungertieren auf jeweils 3 % ihrer Gesamtfettsäurekonzentrationen, während die Juvenilen zu Beginn des Experiments noch 9 % aufwiesen.

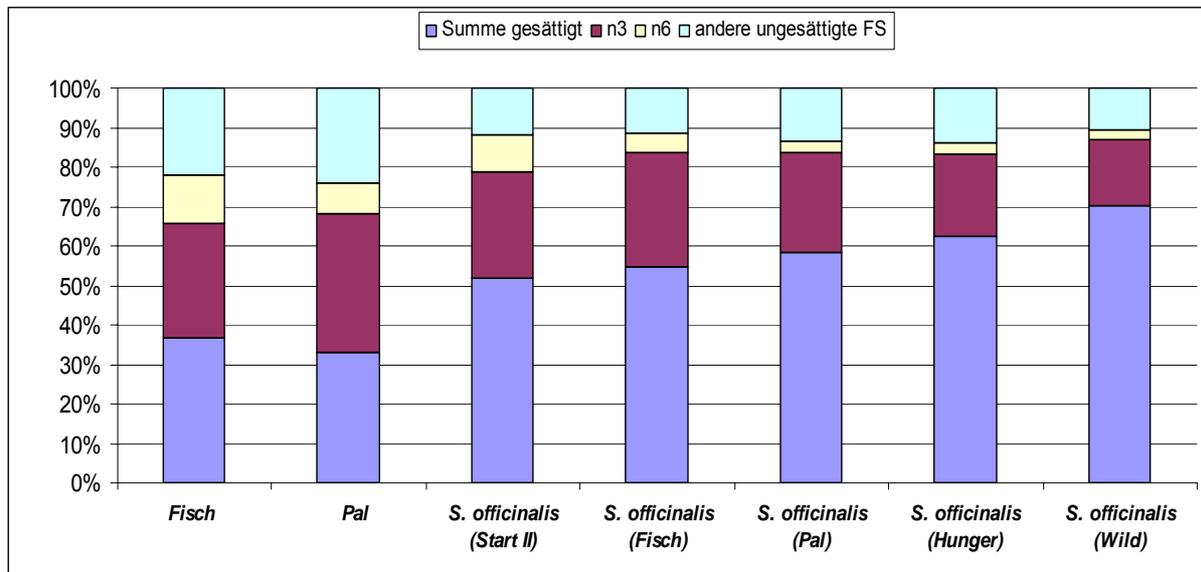


Abb. 31: Prozentuale Verteilung der Fettsäuregruppen (FS) bei den verwendeten Futterorganismen Fisch und Garnelen (Pal), der jeweiligen Start-, End- und Hungergruppen von Sepia aus Experiment 2 sowie den Wildfängen

Beim Vergleich der mit Fisch mit der mit Garnelen gefütterten Sepiengruppe konnte statistisch kein signifikanter Unterschied ermittelt werden (HSD Test für ungleiche N, Typ III,  $p > 0.05$ ; STATISTICA).

Abschließend wurde auch im zweiten Experiment die Differenz aus der Startgruppe und den Endgruppen berechnet, um die An- bzw. Abreicherung der Fettsäuren ermitteln zu können. Die Hungergruppe verzeichnete eine Abreicherung in der Gesamtfettsäurekonzentration von  $-11.96 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$  (Abb. 32 b). Diese starke Abreicherung fand vor allem in den ungesättigten Fettsäuren statt, im Speziellen in den Omega-3-Fettsäuren C 20:5 n3 (EPA), C 22:6 n3 (DPA), aber auch in der Omega-6-Fettsäure C 20:4 n6 (ARA) und in der gesättigten Fettsäure C 16:0 (Abb. 32 a). Bei Betrachtung der gefütterten Sepien wiesen sowohl die mit Fisch, als auch die mit Garnelen gefütterten Tiere ebenfalls eine Abreicherung in ihrer Gesamtfettsäurekonzentration auf (*S. officinalis* (Fisch):  $-6.87 \pm 4.61 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ , *S. officinalis* (Pal):  $-8.55 \pm 9.11 \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ ), welche sich auch vornehmlich in den ungesättigten Fettsäuren C 20:5 n3 (EPA), C 22:6 n3 (DPA), C 20:4 n6 (ARA) und in der gesättigten Fettsäure C 16:0 widerspiegelt (Abb. 33 (a+b) und Abb. 34 (a+b)).

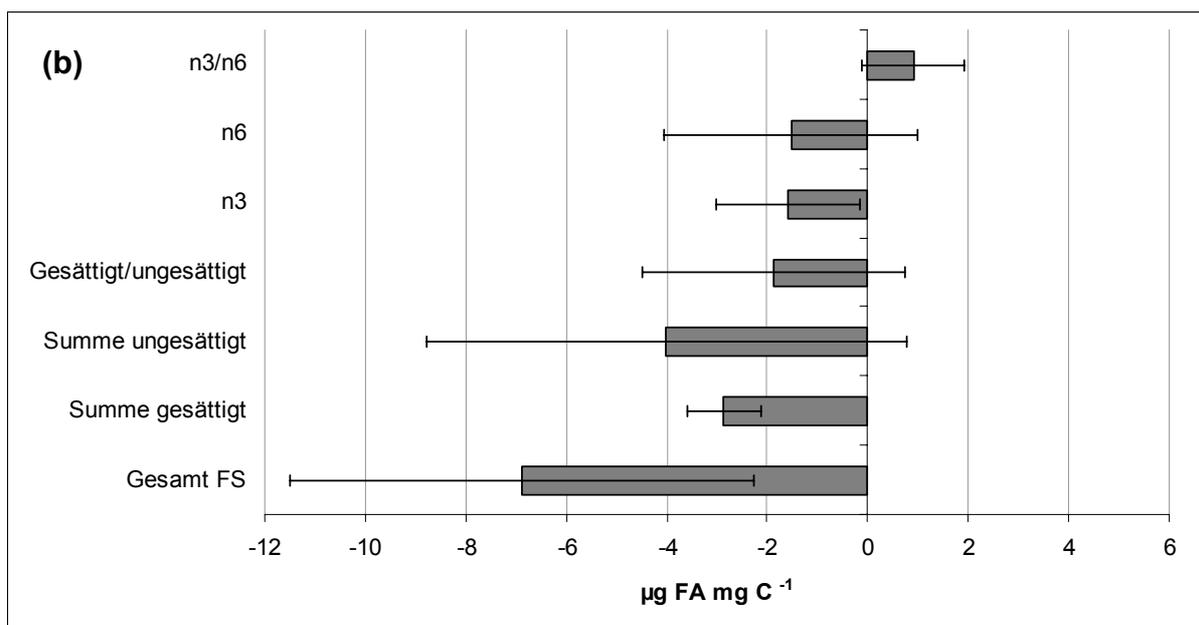
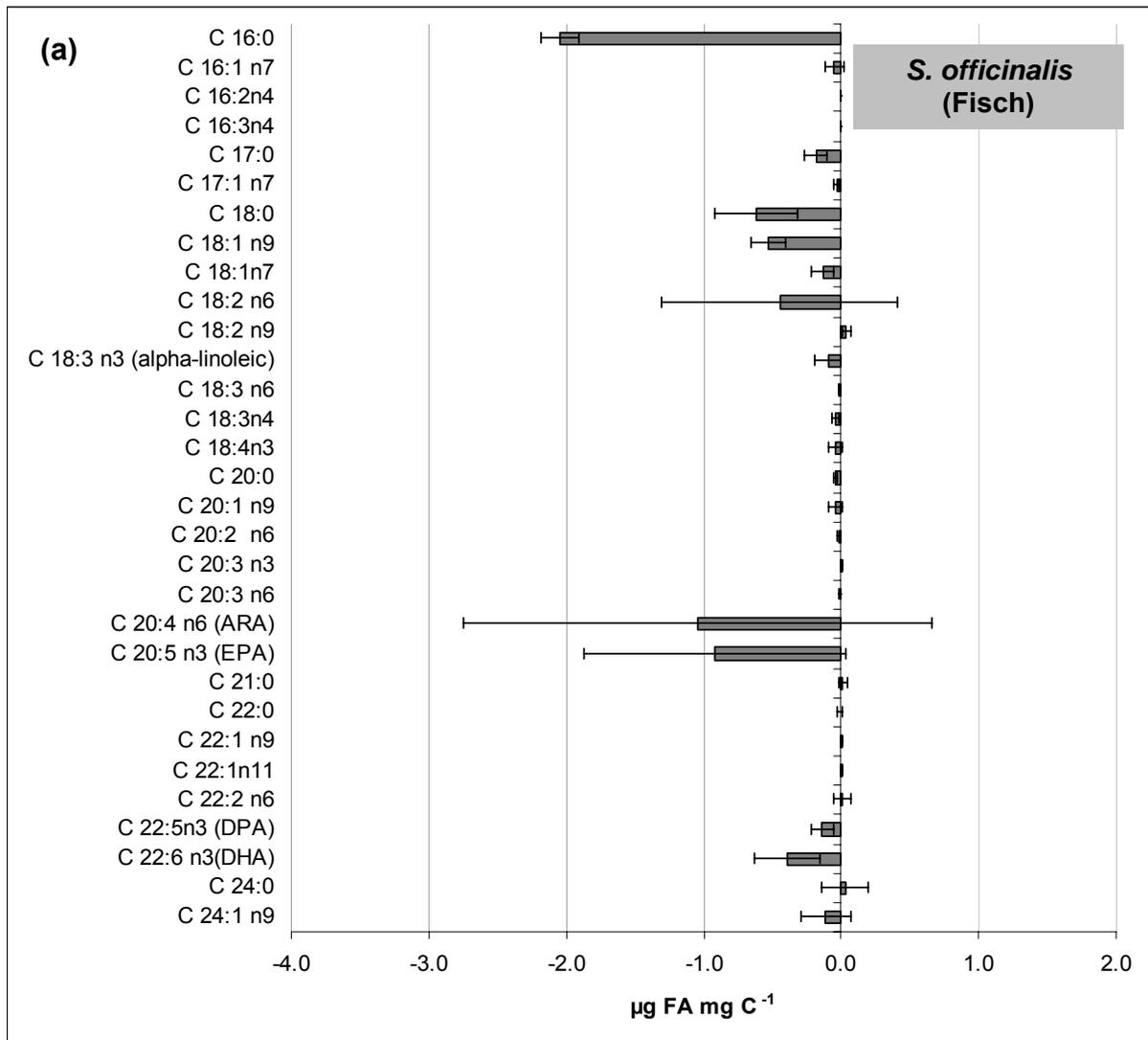


Abb. 32 (a+b): Fettsäureanreicherung ( $\geq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) und -abreicherung ( $\leq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) der Sepien, die mit Fisch gefüttert wurden, in Bezug auf die Starttiere von Experiment 2 (Fettsäureverhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ )

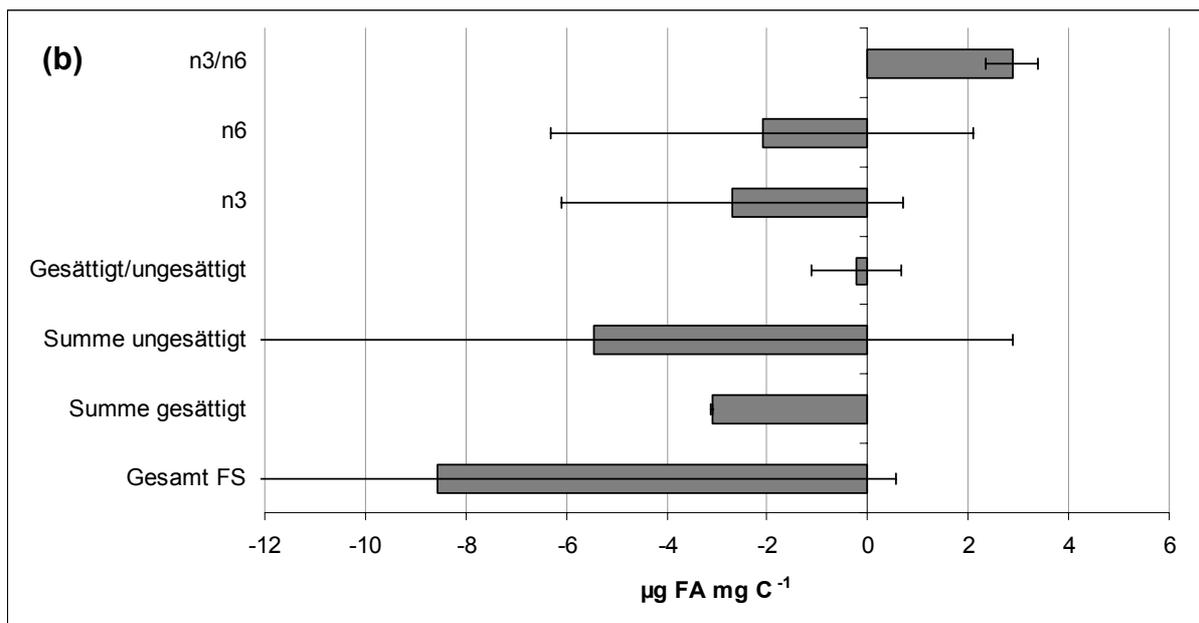
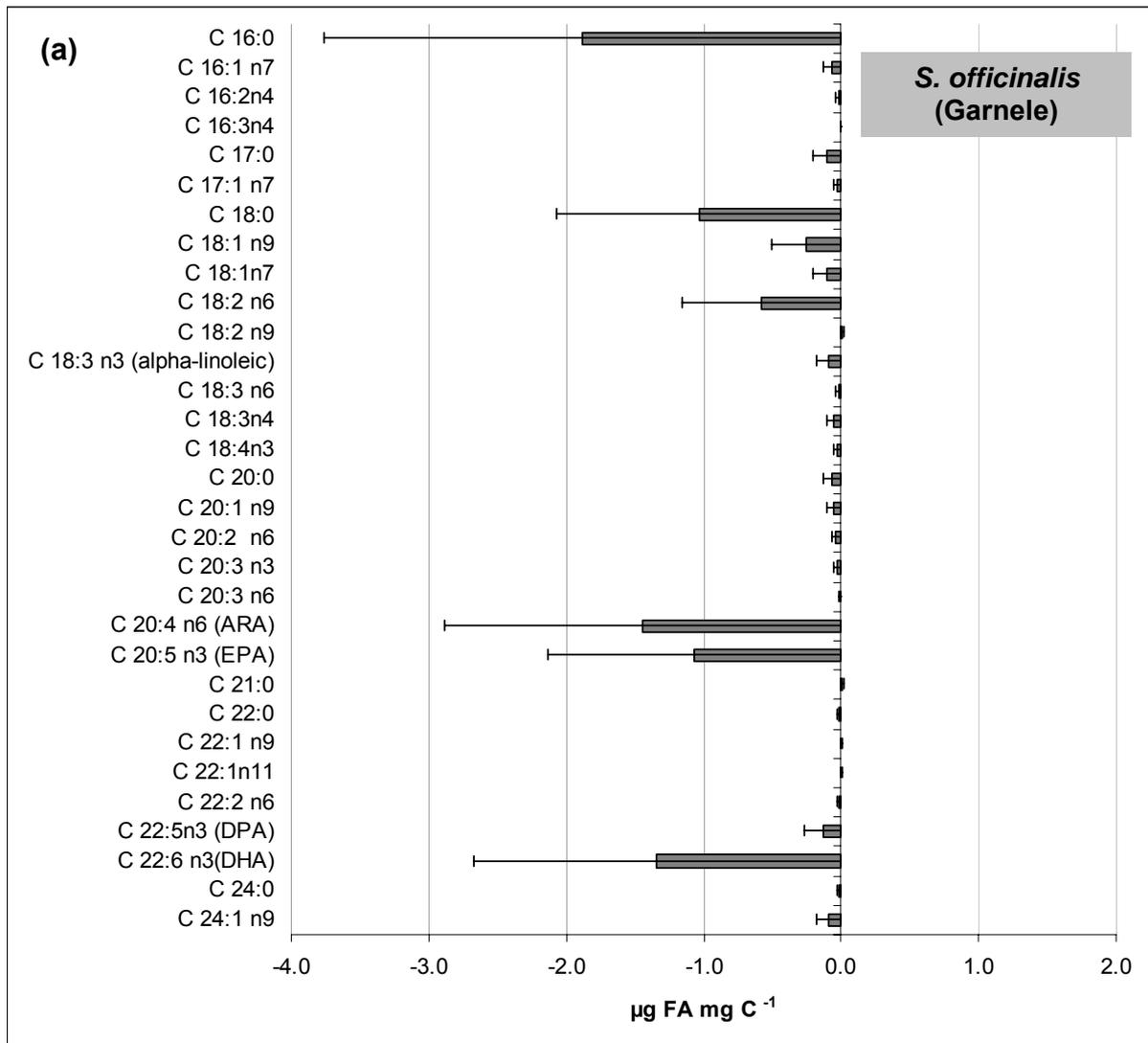


Abb. 33 (a+b): Fettsäureanreicherung ( $\geq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) und -abreicherung ( $\leq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) der Sepien, die mit Garnelen gefüttert wurden, in Bezug auf die Starttiere von Experiment 2 (Fettsäureverhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ )

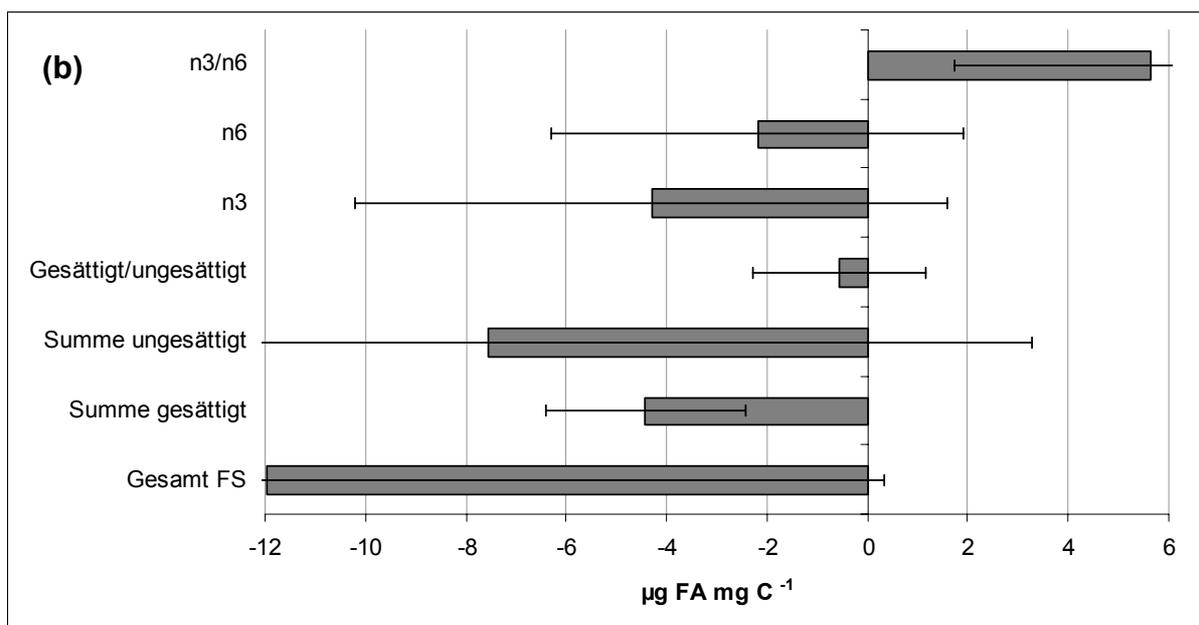
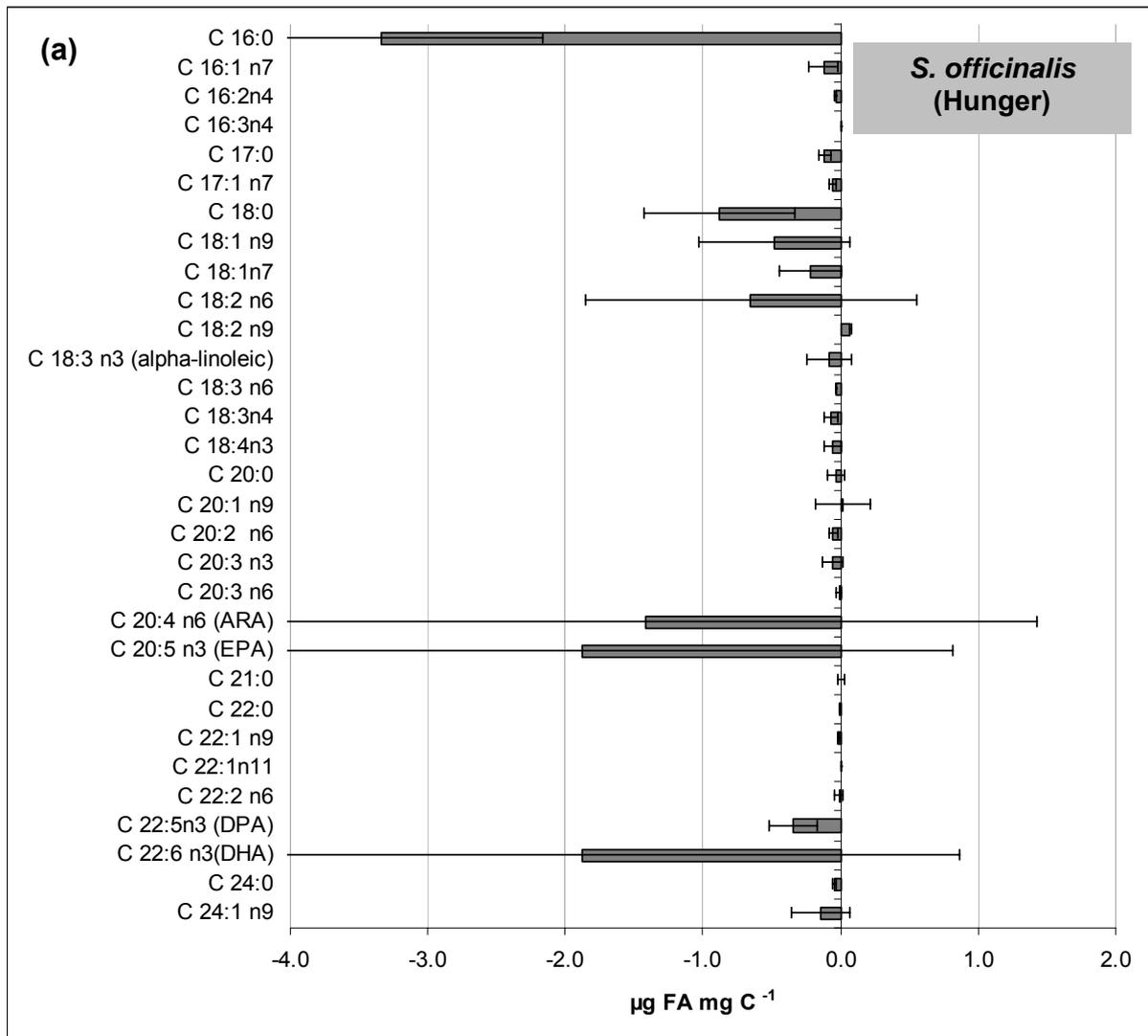


Abb. 34 (a+b): Fettsäureanreicherung ( $\geq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) und -abreicherung ( $\leq 0 \mu\text{g FA mg C}^{-1} \pm \text{STABW}$ ) der Hungergruppen - Sepien, in Bezug auf die Starttiere von Experiment 2 (Fettsäureverhältnisse in  $\mu\text{g FA mg C}^{-1} / \mu\text{g FA mg C}^{-1}$ )

Tabelle 3: Fettsäurezusammensetzung des Futterorganismus Mysis (n=1) sowie der Start- und Endgruppe (n<sub>start</sub>=9; n<sub>ende</sub>=10) der Sepien aus Experiment 1 als Mittelwerte (± STABW) in µg FA mg C<sup>-1</sup> und als prozentualer Anteil am Gesamtfettsäuregehalt (Fettsäureverhältnisse in µg FA mg C<sup>-1</sup>/ µg FA mg C<sup>-1</sup>). Bei einem Wert von 0 waren die Fettsäuren nicht vorhanden oder kleiner als 0.005.

Experiment II : Juvenile														
	Fischmix		P. varians		S. officinalis (Start II)		S. officinalis (Fisch)		S. officinalis (Pal)		S. officinalis (Hunger)		S. officinalis (Wild)	
	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)	µg FA mg C <sup>-1</sup> MW (STABW)	rel. Anteil (%)
C 16:0	13.95 (4.24)	22.56	6.57 (1.89)	19.35	9.35 (1.59)	33.04	7.3 (1.59)	34.08	7.47 (1.28)	37.81	6.01 (0.27)	36.78	8.31 (1.56)	45.69
C 16:1 n7	3.7 (1.68)	5.99	1.27 (0.95)	3.75	0.15 (0.08)	0.53	0.1 (0.08)	0.47	0.09 (0.05)	0.43	0.03 (0.04)	0.17	0.06 (0.02)	0.34
C 16:2n4	0.16 (0.09)	0.25	0.19 (0.17)	0.56	0.08 (0.02)	0.21	0.05 (0.02)	0.24	0.04 (0.02)	0.20	0.02 (0.03)	0.14	0.06 (0.02)	0.33
C 16:3n4	1.08 (0.45)	1.74	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00
C 17:0	0.68 (0.26)	1.10	0.77 (0.15)	2.27	0.83 (0.16)	2.95	0.65 (0.16)	3.03	0.73 (0.12)	3.70	0.72 (0.03)	4.39	0.46 (0.11)	2.55
C 17:1 n7	0.33 (0.26)	0.53	0.8 (0.36)	2.36	0.08 (0.04)	0.29	0.05 (0.04)	0.23	0.05 (0.03)	0.26	0.02 (0.03)	0.15	0.03 (0.02)	0.16
C 18:0	6.7 (1.34)	10.83	3.49 (0.68)	10.29	4.09 (0.95)	14.47	3.48 (0.95)	16.22	3.06 (0.68)	15.48	3.22 (0.11)	19.67	3.75 (0.86)	20.63
C 18:1n7	6.96 (2.2)	11.25	2.62 (1.2)	7.72	0.43 (0.18)	1.50	0.29 (0.18)	1.35	0.32 (0.15)	1.63	0.21 (0.04)	1.25	0.19 (0.06)	1.05
C 18:1 n9	0 (0)	0.00	3 (0.54)	8.83	1.75 (0.61)	6.18	1.22 (0.61)	5.88	1.5 (0.53)	7.58	1.27 (0.18)	7.77	1.04 (0.38)	5.72
C 18:2 n9	0.21 (0.08)	0.33	0.08 (0.02)	0.23	0.07 (0.06)	0.25	0.11 (0.08)	0.50	0.08 (0.07)	0.42	0.14 (0.04)	0.87	0.07 (0.06)	0.38
C 18:2 n6	1.95 (0.68)	3.15	0.71 (0.26)	2.10	0.75 (0.49)	2.65	0.3 (0.49)	1.42	0.17 (0.11)	0.88	0.1 (0.14)	0.61	0.09 (0.03)	0.49
C 18:3 n6	0.33 (0.15)	0.53	0.25 (0.16)	0.73	0.04 (0.02)	0.14	0.02 (0.02)	0.11	0.02 (0.01)	0.10	0.01 (0.02)	0.07	0.02 (0)	0.10
C 18:3n4	0.6 (0.13)	0.97	0.04 (0.02)	0.12	0.09 (0.06)	0.32	0.05 (0.06)	0.26	0.04 (0.03)	0.18	0.02 (0.03)	0.15	0.06 (0.01)	0.35
C 18:3 n3	0.96 (0.41)	1.54	0.48 (0.23)	1.41	0.23 (0.07)	0.80	0.13 (0.07)	0.60	0.14 (0.03)	0.69	0.15 (0)	0.89	0.09 (0.03)	0.50
C 18:4n3	0.34 (0.21)	0.54	0.53 (0.3)	1.57	0.09 (0.05)	0.33	0.05 (0.05)	0.25	0.06 (0.04)	0.33	0.03 (0.05)	0.20	0.01 (0.01)	0.03
C 20:0	1.18 (1.46)	1.90	0.13 (0.02)	0.39	0.19 (0.05)	0.66	0.14 (0.05)	0.66	0.12 (0.03)	0.62	0.16 (0.01)	0.95	0.13 (0.06)	0.73
C 20:1 n9	0.54 (0.23)	0.87	0.09 (0.05)	0.27	0.55 (0.37)	1.94	0.51 (0.37)	2.38	0.5 (0.23)	2.51	0.56 (0.12)	3.46	0.35 (0.14)	1.91
C 20:2 n6	0.24 (0.14)	0.38	0.18 (0.09)	0.53	0.1 (0.07)	0.34	0.08 (0.07)	0.36	0.06 (0.05)	0.30	0.04 (0.06)	0.25	0.05 (0.03)	0.26
C 20:3 n6	0.29 (0.14)	0.47	0.11 (0.07)	0.32	0.01 (0.01)	0.05	0 (0.01)	0.02	0 (0.01)	0.01	0 (0)	0.00	0.01 (0.01)	0.04
C 20:4 n6 (ARA)	4.78 (1.82)	7.73	1.44 (0.5)	4.25	1.7 (1.37)	6.00	0.65 (1.37)	3.05	0.25 (0.21)	1.28	0.28 (0.22)	1.70	0.34 (0.31)	1.88
C 21:0	0.01 (0.01)	0.01	0.11 (0.07)	0.31	0.02 (0.05)	0.08	0.03 (0.05)	0.15	0.03 (0.04)	0.16	0.03 (0.04)	0.17	0.03 (0.02)	0.14
C 20:3 n3	0.22 (0.07)	0.36	0 (0)	0.00	0.06 (0.09)	0.23	0.07 (0.09)	0.33	0.03 (0.05)	0.17	0.01 (0.01)	0.03	0.01 (0.02)	0.08
C 20:5 n3 (EPA)	8.5 (2.94)	13.75	7.46 (3.61)	21.99	3.1 (2.48)	10.96	2.18 (2.48)	10.18	2.03 (2)	10.29	1.22 (0.73)	7.48	0.76 (0.57)	4.16
C 22:0	0.12 (0.03)	0.19	0.07 (0.01)	0.20	0.04 (0.03)	0.16	0.04 (0.03)	0.18	0.03 (0.02)	0.17	0.03 (0.01)	0.21	0.04 (0.01)	0.19
C 22:1n11	0.03 (0.02)	0.04	0 (0)	0.00	0 (0.01)	0.00	0 (0.01)	0.01	0 (0.01)	0.01	0 (0)	0.00	0 (0.01)	0.01
C 22:1 n9	0.03 (0.03)	0.05	0.04 (0.03)	0.11	0.01 (0.02)	0.05	0.02 (0.02)	0.10	0.02 (0.02)	0.08	0 (0)	0.00	0.01 (0.01)	0.07
C 22:2 n6	0.04 (0.02)	0.06	0 (0)	0.00	0.01 (0.09)	0.05	0.02 (0.08)	0.10	0 (0)	0.01	0 (0)	0.00	0 (0)	0.00
C 22:5n3 (DPA)	2 (0.7)	3.23	0.33 (0.15)	0.98	0.53 (0.36)	1.89	0.4 (0.36)	1.86	0.4 (0.33)	2.03	0.19 (0.27)	1.18	0.18 (0.1)	0.97
C 22:6 n3(DHA)	5.78 (0.91)	9.35	3.03 (1.27)	8.94	3.71 (3.52)	13.11	3.32 (3.52)	15.50	2.37 (2.15)	12.01	1.83 (1.02)	11.20	1.93 (1.36)	10.61
C 24:0	0.17 (0.02)	0.27	0.13 (0.01)	0.40	0.09 (0.21)	0.30	0.11 (0.21)	0.53	0.07 (0.07)	0.35	0.04 (0.05)	0.23	0.08 (0.03)	0.45
C 24:1 n9	0 (0)	0.00	0 (0.01)	0.01	0.15 (0.04)	0.53	0.04 (0.04)	0.17	0.06 (0.16)	0.29	0 (0.01)	0.03	0.03 (0.02)	0.17
DHA/EPA	0.78 (0.49)		0.42(0.05)		1.42 (0.36)		1.75 (0.34)		1.28 (0.37)		1.52 (0.8)		2.60 (0.17)	
Gesamt FS	61.86 (17.73)		33.94 (12.36)		28.3 (10.68)		21.43 (10.68)		19.75 (6.16)		16.34 (2.99)		18.19 (4.74)	
Summe ges.	22.91 (6.42)	36.88	11.27 (2.88)	33.21	14.62 (2.78)	51.65	11.75 (2.78)	54.85	11.51 (2.03)	58.29	10.2 (0.04)	62.41	12.81 (2.51)	70.38
Summe unges.	39.04 (11.41)	63.12	22.67 (9.56)	66.79	13.68 (9.08)	48.35	9.68 (9.08)	45.15	8.24 (5.54)	41.71	6.14 (3.03)	37.59	5.39 (2.74)	29.62
Ges./Junges.	0.59 (0.05)	0.95	0.54 (0.14)	1.58	2.48 (0.05)	8.88	0.59 (0.05)	2.75	2.21 (1.77)	11.21	1.89 (0.94)	11.58	3.14 (2.02)	17.28
n3	17.8 (4.65)	28.78	11.84 (5.5)	34.90	7.73 (6.54)	27.31	6.15 (6.54)	28.72	5.04 (4.57)	25.52	3.43 (2.08)	20.98	2.98 (2.07)	16.36
n6	7.62 (2.79)	12.32	2.69 (1.02)	7.93	2.61 (2)	9.23	1.08 (2)	5.05	0.51 (0.34)	2.59	0.43 (0.43)	2.62	0.5 (0.37)	2.77
n3/n6	2.44 (0.43)	3.95	4.26 (0.56)	12.57	5.73 (3.78)	20.24	6.64 (3.78)	30.97	8.6 (3.3)	43.53	11.36 (6.65)	69.53	5.97 (2.09)	32.80

### 3.5 Analyse der stabilen Isotope

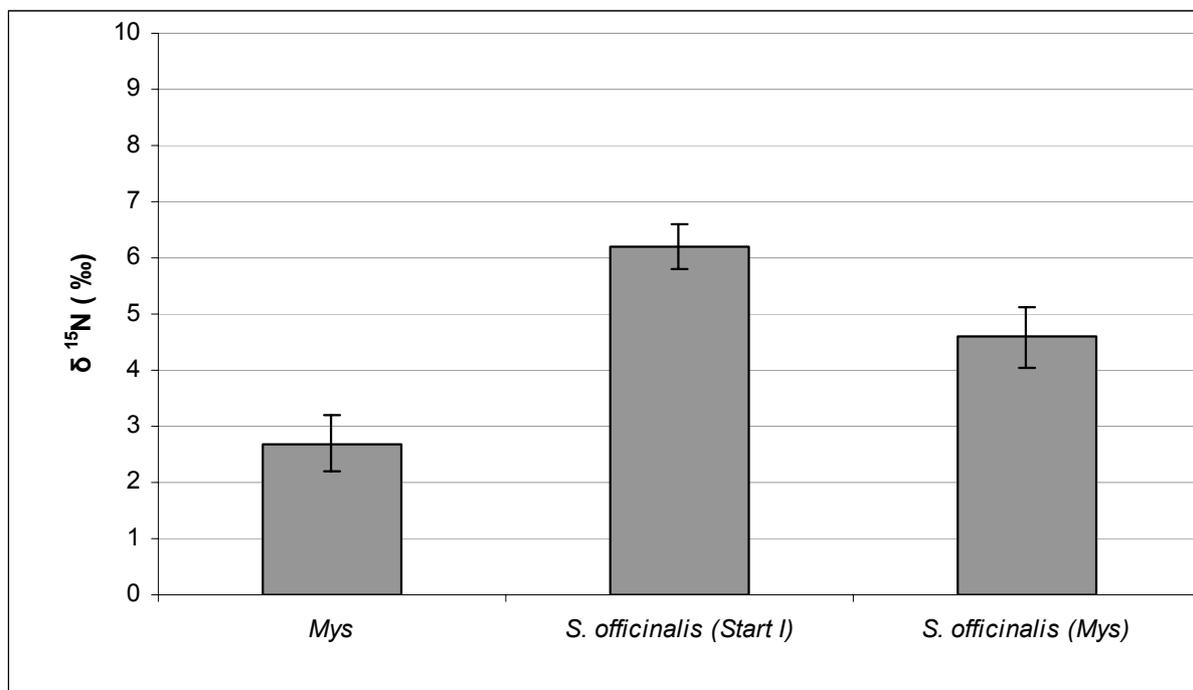
#### 3.5.1 $\delta^{15}\text{N}$ und $\delta^{13}\text{C}$ Signaturen

##### 3.5.1.1 Experiment 1: Hatchlinge

Der  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert des Futterorganismus Mysis (Mys) lag bei  $2.7 \pm 0.52 \text{ ‰}$  (Abb. 35 a). Die Sepien lagen mit ihren Werten deutlich höher. Die frisch geschlüpften Sepien (*S. officinalis* (Start I)) hatten zu Beginn des Versuchs einen  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von  $6.2 \pm 0.41 \text{ ‰}$  während die mit Mysis gefütterten Sepien am Ende des Versuches einen  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von  $4.6 \pm 0.54 \text{ ‰}$  aufwiesen.

Das Verhältnis  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  zeigte eine geringere Abweichung zwischen den Sepien und dem Futterorganismus (Abb. 35 b). Die Mysis hatten einen  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von  $-13 \pm 0.37 \text{ ‰}$ . Die  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte beider Sepiengruppen unterschieden sich nur um  $0.1 \text{ ‰}$  (*S. officinalis* (Start I):  $-11.5 \pm 0.39 \text{ ‰}$ , (*S. officinalis* (Mys):  $-11.6 \pm 0.75 \text{ ‰}$ ).

(a)



(b)

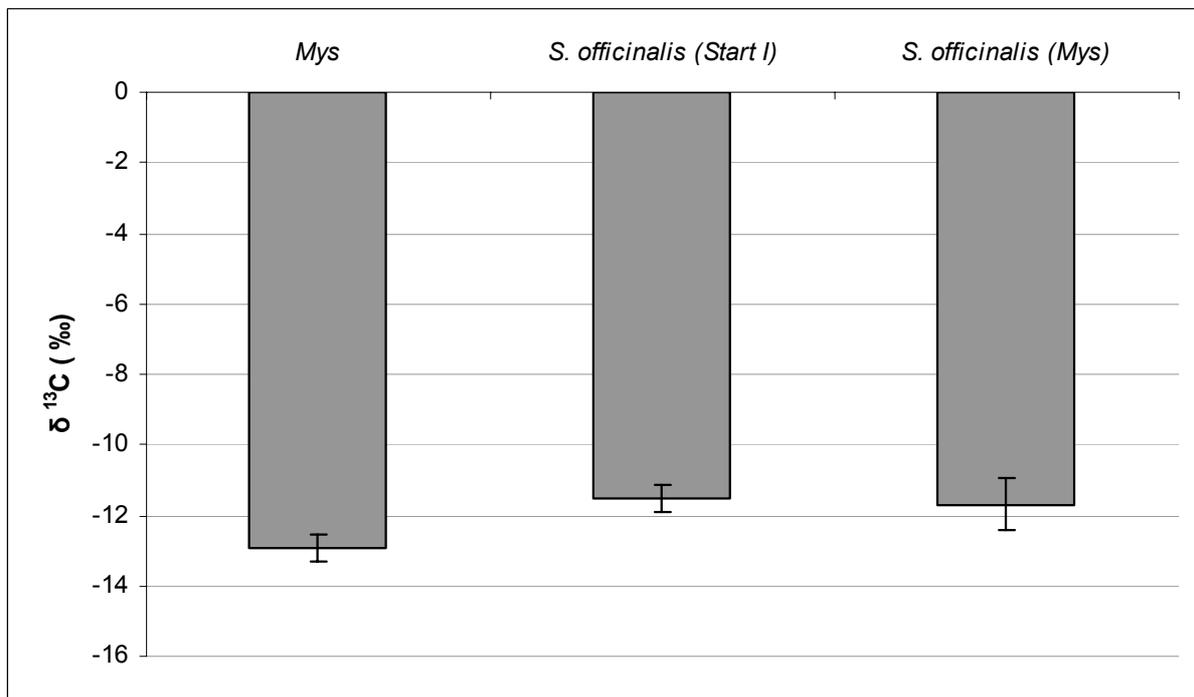


Abb. 35: Variabilität der stabilen Isotopensignaturen (a)  $\delta^{15}\text{N}$  und (b)  $\delta^{13}\text{C}$ ; Mittelwert  $\pm$  STABW des Futterorganismus Mysis im Vergleich zu Start- und Endgruppe der Sepien aus Experiment 1

Bei der Betrachtung der  $\delta^{15}\text{N}$ -Werte der verwendeten Futterorganismen konnte ein deutlicher Unterschied festgestellt werden (Abb. 36 a). Während der Fischmix einen hohen  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von  $9.2 \pm 0.38$  ‰ aufwies, hatten die Garnelen einen geringen  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von  $3.3 \pm 0.21$  ‰.

Bei der  $\delta^{13}\text{C}$ -Signatur gab es ebenfalls einen Unterschied zwischen den Futterorganismen, der jedoch im Gegensatz zur  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur kleiner ausfiel. Der  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Fische betrug  $-14.3 \pm 1.27$  ‰, die Garnelen hatten ein  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ -Verhältnis von  $-11.2 \pm 0.79$  ‰ (Abb. 36 b).

Die Wildtiergruppe zeigte in ihrer isotopischen Zusammensetzung mit einem  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von  $10.3 \pm 1.11$  ‰ und einem  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von  $-18.3 \pm 1.37$  ‰ deutliche Unterschiede zu den anderen Gruppen (Abb. 36 a+b).

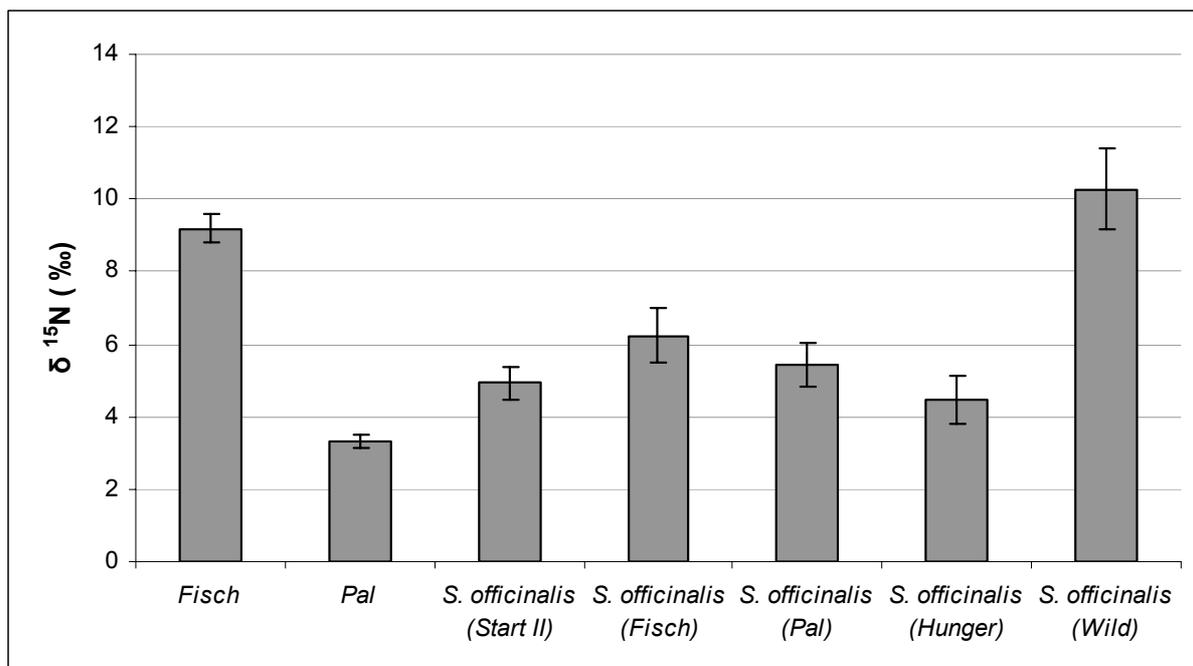
### 3.5.1.2 Experiment 2: Juvenile

Die juvenilen Sepien schwankten in ihrem  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert zwischen  $4.5 \pm 0.66$  ‰ (*S. officinalis* (Hunger)) und  $6.2 \pm 0.75$ ‰ (*S. officinalis* (Fisch), Abb. 36 a). Zwischen diesen Werten lagen die Sepien der Startgruppe mit  $4.9 \pm 0.46$  ‰ nahe bei den mit Garnelen gefütterten Sepien ( $5.4 \pm 0.58$  ‰). Bei der Betrachtung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der juvenilen Sepiengruppen zeigte sich ein konstantes Bild. Sie bewegten sich um  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zwischen -12 ‰ und -11 ‰ (ähnlich der Garnelen, s. Abb. 36 b).

Die statistische Auswertung der  $\delta^{15}\text{N}$ -Werte ergab keine Unterschiede zwischen den Tanks den jeweiligen Futtergruppen (t-Test,  $p > 0.05$ ; SPSS). Beim Vergleich der Mittelwerte der Tanks der gefütterten Sepiengruppen (Fisch / Garnele) wurde zwar ein signifikanter Unterschied sichtbar (t-Test,  $p = 0.01$ ; SPSS), welcher allerdings durch eine Varianzinhomogenität entkräftigt wurde.

Bei der statistischen Auswertung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte gab es einen signifikanten Unterschied zwischen den Tanks der mit Fisch gefütterten Sepien (t-Test der Tanks,  $p = 0.03$ ; SPSS) und so konnte kein Vergleich mit der Garnelen gefütterten Sepiengruppe (t-Test der Tanks,  $p > 0.05$ ; SPSS) gezogen werden.

(a)



(b)

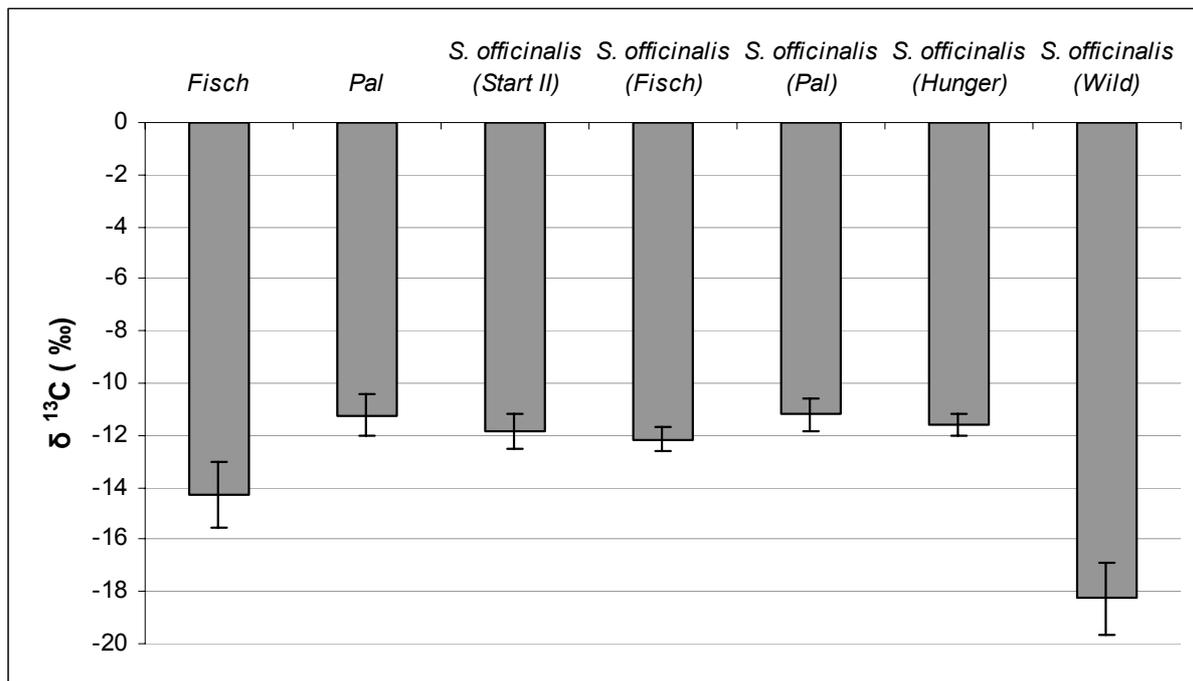


Abb. 36: Variabilität der stabilen Isotopensignaturen [(a)  $\delta^{15}\text{N}$  und (b)  $\delta^{13}\text{C}$ ; Mittelwert  $\pm$  STABW] der Futterorganismen Fisch (n=12) und Garnele (n=12) im Vergleich zu Start- und Endgruppe der Sepien aus Experiment 2 (Start mit n=4, *S. officinalis* (Fisch) mit n=20, *S. officinalis* (Pal) mit n=35) sowie Hunger- und Wildtiergruppe (n=12, n=10)

### 3.5.1.3 Trophische Fraktionierung

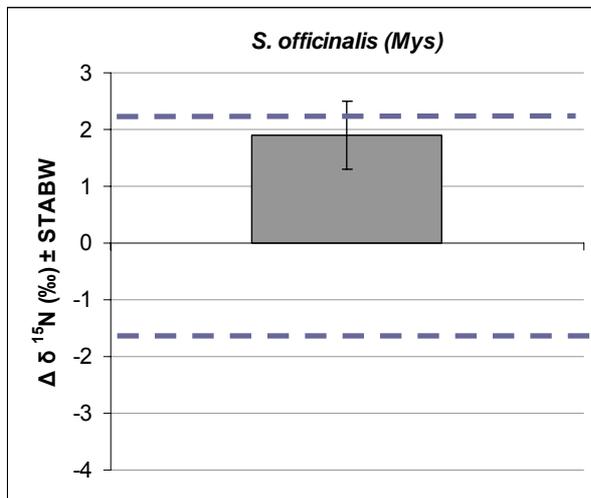
Die Anreicherung der stabilen Isotope pro trophische Ebene konnte in beiden Experimenten beobachtet werden. Der  $\Delta\delta^{15}\text{N}$ -Wert für die Anreicherung schwerer Stickstoffisotope im Konsument von 2.2 ‰ (nach Fry, 2006) wurde bei den mit Mysis gefütterten Sepien aus Experiment 1 mit  $\Delta\delta^{15}\text{N} = 1.9 \pm 0.6$  ‰ annähernd erreicht (Abb. 37 a).

In Experiment 2 traten große Schwankungen auf. Während der  $\Delta\delta^{15}\text{N}$ -Wert der Sepien, die mit Garnelen gefüttert wurden, mit  $2.1 \pm 0.58$  ‰ dem theoretischen Anreicherungsgrad von 2.2 ‰ entsprach, wurde bei den mit Fisch gefütterten Sepien eine Abreicherung der schweren Stickstoffisotope ( $\Delta\delta^{15}\text{N} = -3.0 \pm 0.75$  ‰) beobachtet (Abb. 37 b).

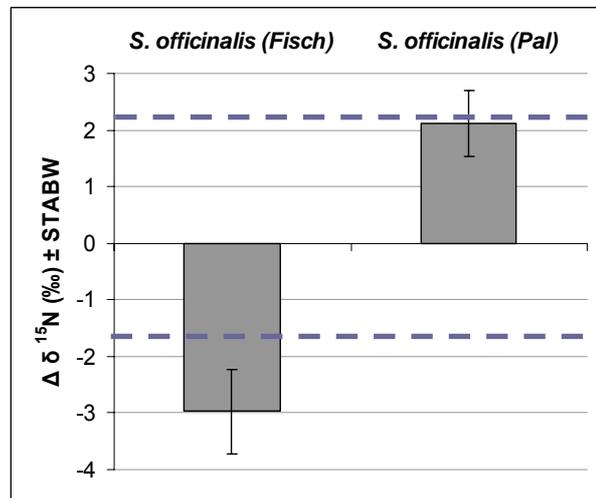
Die trophische Fraktionierung für  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  mit einer zu erwartenden theoretischen Anreicherung im Konsumenten von 1 ‰ (nach Fry, 2006) wurde in keinem der beiden Experimente erfüllt. Die mit Mysis gefütterten Sepien ( $\Delta\delta^{13}\text{C} = 0.6 \pm 0.49$  ‰) und auch die mit Garnelen gefütterten juvenilen Sepien ( $\Delta\delta^{13}\text{C} = 0.1 \pm 0.36$  ‰) blieben unter dem theoretischen Anreicherungsgrad von 1 ‰ (Abb. 37 c, d).

Eine Ausnahme bildeten die mit Fisch gefütterten Sepien, welche mit einem  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Wert von  $2.1 \pm 0.58 \text{ ‰}$  doppelt so hoch wie erwartet lagen.

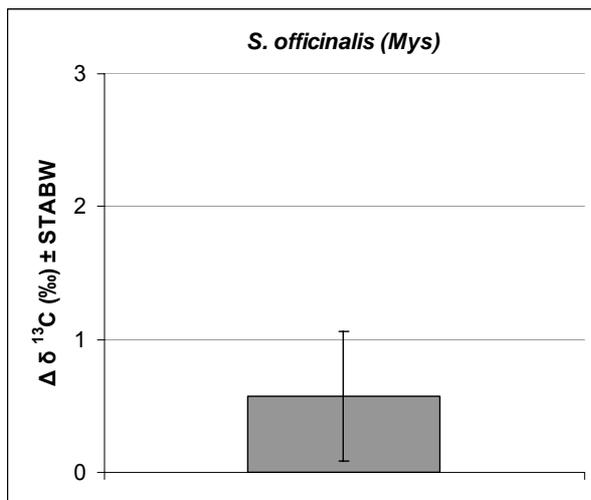
(a) Experiment 1 : Hatchlinge



(b) Experiment 2 : Juvenile



(c) Experiment 1 : Hatchlinge



(d) Experiment 2 : Juvenile

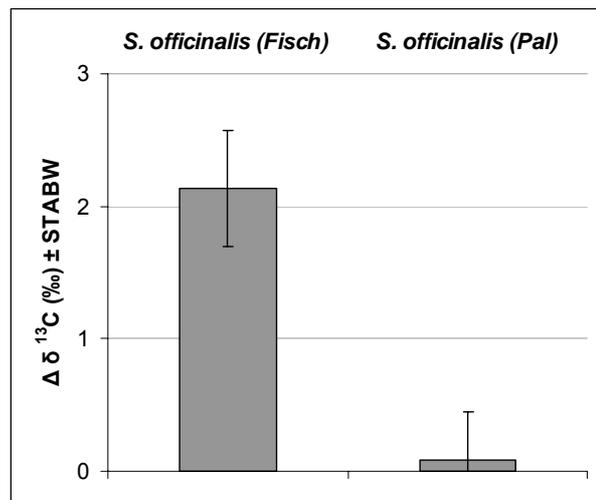


Abb. 37: Trophische Fraktionierung von (a+b)  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  und (c+d)  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  der mit unterschiedlicher Nahrung gefütterten Sepien aus Experiment 1+2 im Vergleich. Die gestrichelten Linien verweisen auf den erwarteten Grad der Anreicherung von (a+b)  $2.2 \text{ ‰}$  in  $\delta^{15}\text{N}$  und (b+d)  $1.0 \text{ ‰}$  in  $\delta^{13}\text{C}$

### 3.5.1.4 C:N Verhältnis

Das C:N Verhältnis bezieht sich auf die bioverfügbaren Anteile von Kohlenstoff und Stickstoff im Organismus. Das Verhältnis von molekularem Kohlenstoff zu Stickstoff bewegte sich in beiden Experimenten um den Wert 4 (Abb. 38 + Abb. 39).

Beim Vergleich der Futterorganismen wiesen Fisch und Garnele ein C:N Verhältnis von  $4.4 \pm 0.1$  auf, die Mysis lagen bei  $4.3 \pm 0.09$ .

In Experiment 1 änderte sich das C:N Verhältnis zwischen den frisch geschlüpften Sepien und den mit Mysis gefütterten Sepien von  $4.6 \pm 0.25$  auf  $4.2 \pm 0.21$ .

Im zweiten Experiment änderten sich ebenfalls die C:N Verhältnisse. Die Startgruppe wies einen Wert von  $4.2 \pm 0.24$  auf, während die Hungergruppe einen Wert von  $4.1 \pm 0.03$  und die mit Garnelen gefütterten Sepiengruppe einen Wert von  $4.0 \pm 0.16$  vorwies. Mit einem Wert von  $3.9 \pm 0.15$  besaßen die mit Fisch gefütterten sowie die Wildseprien ( $3.9 \pm 0.4$ ) die kleinsten C:N Verhältnisse in diesem Experiment.

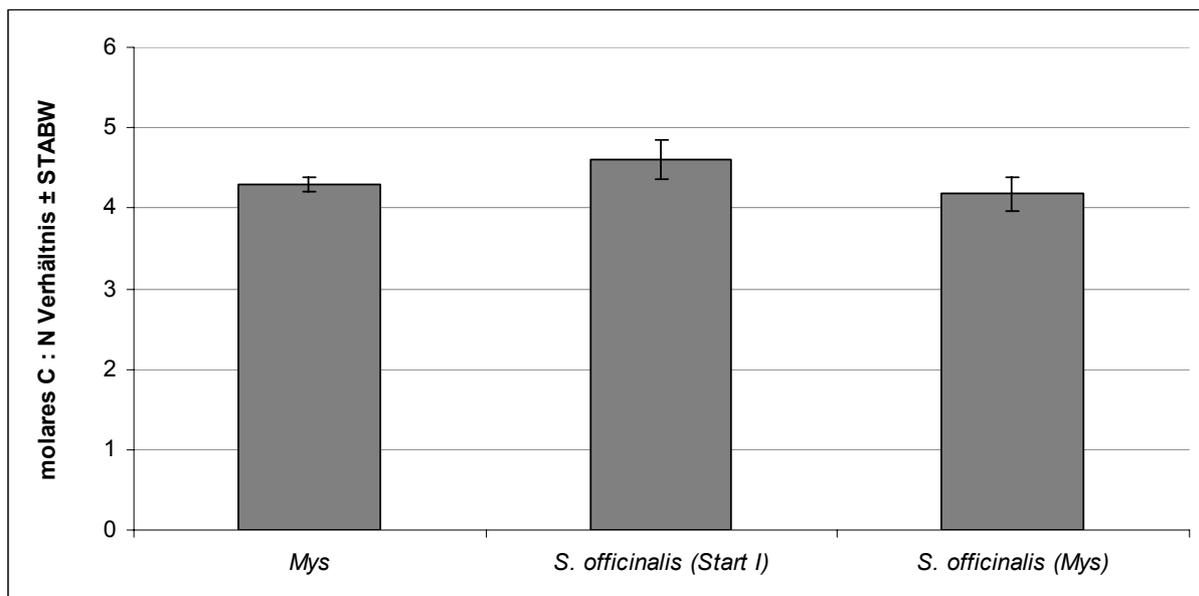


Abb. 38: Molares C:N Verhältnis des Futterorganismus Mysis im Vergleich zu Start- und Endgruppe der Sepien von Experiment 1

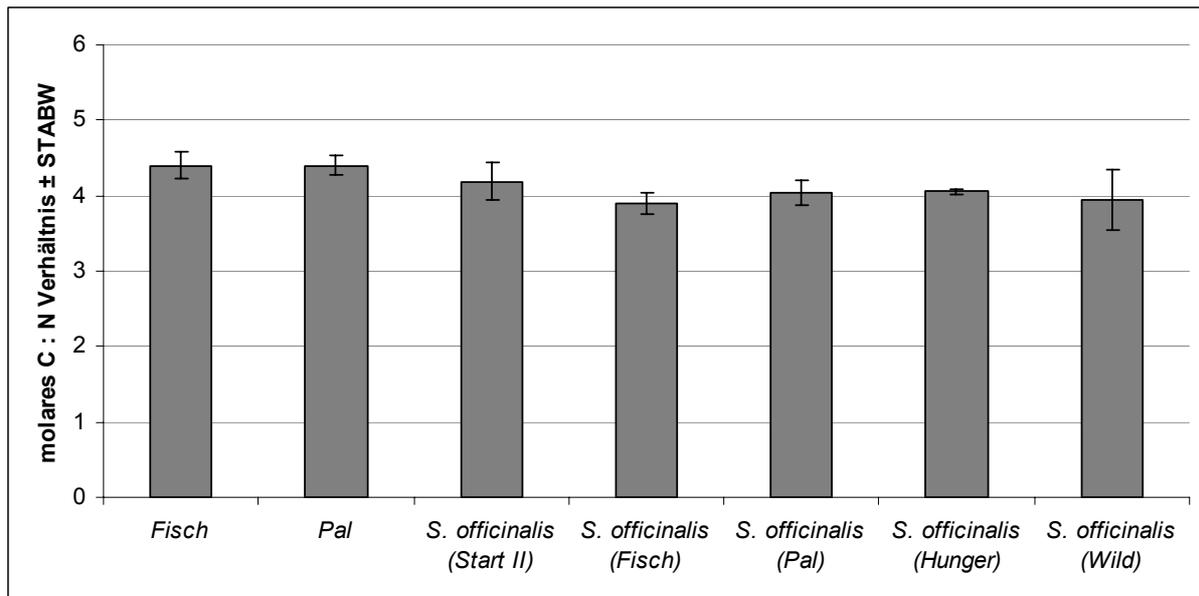


Abb. 39: Molares C:N Verhältnis der Futterorganismen Fisch und Garnele im Vergleich zu Start- und Endgruppe der Sepien sowie Hunger- und Wildtiergruppe von Experiment 2

Die statistische Auswertung der Daten konnte nicht durchgeführt werden, da auch hier im C:N Verhältnis der mit Fisch gefütterten Sepien unter den Tanks ein schwacher, aber signifikanter Unterschied (t-Test,  $p=0.04$ ; SPSS) bestand. Somit können die mit Fisch gefütterten Sepien nicht mit der Garnelen gefütterten Gruppe (t-Test der Tanks:  $p>0.05$ ; SPSS) verglichen werden.

## 4 Diskussion

### 4.1 Kultivierung und Wachstum

Aufgrund des verwendeten halboffenen Systems bzw. des Durchfluss-Systems, konnten durch den kontinuierlichen Austausch mit frischem Wasser aus dem Ria Formosa, die natürlichen Bedingungen so gut wie möglich simuliert werden. Domingues et al. (2001a) beschrieben, dass zur Aufzucht frisch geschlüpfter Sepien im Labor ein Salzgehalt von  $37 \pm 3$  PSU geeignet ist, was in beiden Experimenten erfüllt werden konnte. Die Schwankungen in Temperatur und Salzgehalt während der Experimente sind auf äußere Einflüsse, wie zum Beispiel starkem Regen oder Trockenheit mit hoher Verdunstung, zurückzuführen. In Experiment 2 war der Salzgehalt mit 33.5 PSU niedriger als im ersten Experiment (35.6 PSU), was mit der sinkenden Außentemperatur zusammenhing und somit die Tanktemperatur beeinflusste. *S. officinalis* gilt im Allgemeinen als relativ tolerant gegenüber Schwankungen im Salzgehalt (25-38 PSU; Sykes et al. 2006b) und lebt im Freiland zum Teil auch in Gewässern mit niedrigeren Salzgehalten wie z.B. im Südwesten der Niederlande, wo das Schlüpfen der Sepien bei 26.5 PSU beobachtet werden konnte (Guerra 2006). In Laborexperimenten konnten Freilandseprien sogar an einen Salzgehalt von  $18 \pm 2$  PSU angepasst und gehältert werden (Guerra 2006). Somit kann angenommen werden, dass bezüglich des Salzgehaltes keinerlei Nachteile für die Tiere entstanden.

Eine große Rolle spielt außerdem die Wassertemperatur im Lebenszyklus von *S. officinalis* (Forsythe et al. 1994). Sepien können in einem weiten Temperaturspektrum von 10°C bis 30°C gehalten werden (Domingues et al. 2006; Guerra 2006). Domingues et al. (2001a) verzeichneten sogar eine erfolgreiche Aufzucht von Sepien bei Temperaturen bis zu 32°C.

Die Temperatur spielt nicht nur bei der Aufzucht eine große Rolle, sondern auch bei der Entwicklungszeit der Eier (Nixon und Mangold 1998) und bei der Bestimmung der Lebenserwartung (Forsythe et al. 1994). Speziell beim Wachstum sind Unterschiede in Abhängigkeit von der Temperatur zu finden (Domingues et al. 2006). Gerade bei jungen Sepien regt eine Erhöhung der Temperatur das Wachstum der poikilothermen Organismen an (Koueta und Boucaud-Camou 1999) und führt so zu einem erhöhten Stoffwechsel und damit zu einem erhöhten Bedarf an Futter (Forsythe et al. 1994; Grigoriou und Richardson 2004; Sykes et al. 2006b). Dies wird deutlich beim Vergleich der beiden Experimente, wo in Experiment 1 ein deutlich höheres Wachstum ( $IGR=0.07 \text{ d}^{-1}$ ) bei durchschnittlich höheren Temperaturen ( $21 \pm 1^\circ\text{C}$ ) als in Experiment 2 erfolgte (max.  $IGR=0.04 \text{ d}^{-1}$  bei  $T=17.7 \pm 1.1^\circ\text{C}$ ). Man muss hier jedoch auch den Altersunterschied der Sepien zwischen den Experimenten in Betracht ziehen, da die Wachstumsraten mit dem Alter der Sepien abnimmt

(Forsythe und van Heukelem 1987; Forsythe et al. 1994; Domingues et al. 2001; Koueta und Boucaud-Camou 2001). Bei sinkenden Temperaturen wie in Experiment 2 kann bei *S. officinalis* aufgrund der Poikilothermie der Metabolismus und so das Wachstum verlangsamt und gleichzeitig die Nahrungsaufnahme beeinträchtigt werden (siehe Domingues et al. 2001a; Grigoriou und Richardson 2004). Die Sepien nehmen dadurch keine Nahrung zu sich, bleiben vorwiegend inaktiv und sterben innerhalb weniger Tage, wie in einer Studie von Bettencourt (2000) bei Sepien beobachtet wurde, die bei Temperaturen unter 10°C gehältert wurden. Diese Annahme könnte bei den mit Fisch gefütterten und hungernden Sepien ein Grund für die erhöhte Mortalität sein, auch wenn die Grenztemperatur weit über 10°C lag. Im Widerspruch dazu stehen aber die mit Garnelen gefütterten Sepien, welche bei den gleichen Temperaturen gehältert wurden und eine relativ geringe Mortalität aufwiesen.

Der Aufbau der Tankanlagen beider Experimente wurde bereits in mehreren Studien erfolgreich getestet (Domingues et al. 2001b; Sykes et al. 2003; Domingues et al. 2003a; Correia et al. 2005) und erwies sich auch hier als gut geeignet. Dies wird durch die überwiegend positiven Wachstumsraten und relativ hohen Überlebensraten der Sepien bestätigt.

Bei den vorwiegend am Boden lebenden Tieren spielt die ihnen zur Verfügung stehende Bodenfläche beim Wachstum eine wichtige Rolle. Der Literatur nach tolerieren junge Sepien hohe Kultivierungsdichten (Forsythe et al. 1994; Correia et al. 2005), wobei das Optimum für Sepien bis 2 g bei einer Besatzdichte von 125 Tieren m<sup>-2</sup> (Domingues et al. 2003a) und für Sepien zwischen 5 und 25 g bei 120 Tieren m<sup>-2</sup> liegen sollte (Sykes et al. 2003). Die Kultivierungsanlage in Experiment 1 besaß mit 150 Tieren m<sup>-2</sup> pro Tank eine weitaus höhere Besatzdichte als in Experiment 2 (60.3 Tiere m<sup>-2</sup>). Die hohe Besatzdichte der Sepien im ersten Experiment könnte den Stress der Tiere erhöht und sich demzufolge negativ auf das Fressverhalten ausgewirkt haben. Dem widersprechen der hohe Gewichtszuwachs von 0.4 g und die relativ geringe Mortalität von 12.5 % im ersten Experiment. Auch in der Studie von Domingues et al. (2003a) gab es bei *S. officinalis* innerhalb der ersten 30 Tage keine sichtbaren Besatzdichteeffekte auf das Wachstum. Warnke (1994) beobachtete, dass in Gruppen gehälterte Sepien bei ausreichendem Futterangebot sogar aktiver in der Nahrungssuche waren als isolierte Tiere. Die Isolation der Tiere stellt eine Alternative zur Hälterung von Gruppen dar, um die Einflüsse von Besatzdichte und Konkurrenz um Nahrung sowie intraspezifische Interaktionen bei Nahrungsexperimenten auszuschließen und so die Wachstumsrate exakt bestimmen zu können (Koueta und Boucaud-Camou 1999).

In Experiment 2 war die Dichte der Sepien mit 60.3 Tieren m<sup>-2</sup> weit unter dem in der Literatur empfohlenen Wert von 120 Tieren m<sup>-2</sup> (Sykes et al. 2003). Eine Hierarchie in der

Futterbeschaffung taucht bei *S. officinalis* im Allgemeinen erst im Alter von vier Monaten auf (Guerra 2006) und wird deshalb bei diesen Experimenten nicht in Betracht gezogen. Trotzdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige Sepien unter möglichem Konkurrenzdruck weniger Nahrung zu sich genommen haben und, als Folge davon, schwächere Tiere aufgrund von Futtermangel gestorben sind. Außerdem ist bekannt, dass schon frisch geschlüpfte Sepien, die unter identischen Bedingungen aufgezogen werden, innerhalb einer bestimmten Zeit große Schwankungen in ihrer Größe und somit Unterschiede in der Futternachfrage aufweisen (Sykes et al. 2006a).

### **4.2 Futter und Wachstum**

In vielen wissenschaftlichen Studien wurde die Qualität und Verfügbarkeit verschiedener Futterorganismen untersucht (Castro und Guerra 1990; Castro und Lee 1994; Domingues et al. 2004; Domingues et al. 2005). Boletzky (1987) erkannte hierbei einen engen Zusammenhang zwischen Futter und Wachstum bei *S. officinalis*. Seitdem wurden kontinuierlich Feld- und Laborstudien durchgeführt, die den Aspekt von Nahrungsqualität und -quantität genauer untersuchten. Gerade in der Aquakultur spielt das Wachstum eine entscheidende Rolle und die Wahl der Nahrung ist hier ein bestimmender Faktor (Koueta und Boucaud-Camou 2003). DeRusha et al. (1989) untersuchten zum Beispiel die Eignung gefrorener Nahrungsorganismen und Surimi (Fisch-Myofibrillar-Konzentrat) zur Aufzucht verschiedener Cephalopodenarten wie *Octopus sp.*, *Loligo sp.* oder *Sepia sp.*, mit dem Ergebnis, dass gefrorenes Futter durchaus eine gute Futteralternative darstellt und vor allem bei adulten Tieren keine großen Wachstumsunterschiede zur Lebendnahrung aufweist. Die juvenilen Stadien reagieren jedoch anders auf die Futteralternativen. Diese Stadien benötigen eine Eingewöhnungszeit, um sich an das gefrorene Futter anzupassen und weisen durchgehend geringere Wachstumsraten auf im Vergleich zu Lebendfutter. Speziell bei *S. officinalis* gab es ebenfalls Studien zum Einfluss verschiedener Futteralternativen auf das Wachstum: Lebend- und Frostfutter (Domingues et al. 2003b), unterschiedliche Futterorganismen (Domingues et al. 2004), angereichertes Futter (Pelletfutter) mit verschiedenen biochemischen Zusammensetzungen (Domingues et al. 2005), wobei die geringsten Wachstumsraten bei Pelletfutter vorlagen, von Frostfutter bis zum Lebendfutter stetig anstiegen und bei Crustaceen die höchsten Raten aufwiesen. Neben der Qualität des Futters wurde auch der Einfluss der Quantität des Futters auf die Wachstumsraten untersucht, wobei ein geringes Nahrungsangebot die Entwicklung verzögert und eine geringere Wachstumsrate nach sich zieht (Grigoriou und Richardson 2004). Liegt die Menge der Nahrung unter  $2.5 \% \cdot d^{-1}$  des Sepia-Körpergewichtes, folgen negative Wachstumsrate, Gewichtsverlust und die Sepien sterben (Koueta und Boucaud-Camou 2001).

### 4.2.1 Hatchlinge

Unmittelbar nach dem Schlüpfen ist *S. officinalis* bereits aktiv und lebt in den ersten 24-48 Stunden fast ausschließlich von den noch vorhandenen Dotterreserven. In dieser Zeit findet kaum eine Jagd nach möglichen Beuteorganismen statt (Nixon und Mangold 1998).

Als optimales Startfutter für frisch geschlüpfte Sepien gelten lebende Mysis (Boletzky und Hanlon 1983; Domingues et al. 2001b; Domingues et al. 2004). Einige Autoren weisen jedoch darauf hin, dass Mysis nur in den ersten Wochen von *S. officinalis* bevorzugt wird (Forsythe et al. 1994; Domingues et al. 2004). In dem durchgeführten Experiment lag die relative Wachstumsrate der mit Mysis gefütterten Sepien bei  $0.07 \text{ gd}^{-1}$  und somit im mittleren Bereich der in der Literatur beschriebenen Werte (zwischen  $0.03$  und  $0.15 \text{ gd}^{-1}$ ; Domingues et al. 2006). Zudem waren die Mortalitäten der Hatchlinge gering (siehe Abschnitt 4.3) und während des Versuchs konnte, trotz der normalerweise nachtaktiven Lebensweise (Guerra 2006) auch tagsüber eine Futteraufnahme beobachtet werden, wie es bei Sepien in Gefangenschaft oft der Fall ist (Mark et al. 2007). Die Kombination aus diesen Faktoren zeigt, dass Mysis einen sehr gut geeigneten Futterorganismus für frisch geschlüpfte Sepien darstellt, auch wenn gegen Ende des Experiments eine Abnahme in der aktiven Futteraufnahme zu erkennen war.

### 4.2.2 Juvenile Sepien

In der Übergangsphase zwischen den Experimenten wurden die Sepien mit einer Mischung aus Mysis und Garnelen gefüttert. Die Präferenz der nun schon juvenilen Sepien ging fast ausschließlich in Richtung Garnelen, was mit der Größe des Beuteorganismus zusammenhängen kann. Es ist aus der Literatur bekannt, dass sich, mit zunehmendem Alter und Größe der Sepien, Garnelen wie *Palaemonetes* und Fisch als geeignete Futterorganismen erweisen (Forsythe et al. 1994; Nixon und Mangold 1998), wobei Fische, speziell in den frühen Lebensstadien kein optimales Futter für Sepien darstellen (Domingues et al. 2001) und erst von älteren Lebensstadien bevorzugt werden. Ab welchem Alter und bei welcher Größe von *S. officinalis* sich Fisch als Nahrung von Vorteil erweist, ist noch nicht erwiesen (Castro und Guerra 1990). Zudem muss *S. officinalis* bei kleineren Beutetieren intensiver jagen, um den Nahrungsbedarf zu decken. Der Energiebedarf ist dabei höher als bei einer Jagd nach größeren Organismen, wo *S. officinalis* Energie einsparen kann (Domingues et al. 2004).

Die relativ hohe Wachstumsrate der mit Garnelen gefütterten Sepien bestätigte, dass Garnelen das bessere Futter für juvenile Sepien darstellen. Die mit Fisch gefütterten Sepien hingegen lagen mit ihrer relativen Wachstumsrate wie erwartet niedriger als die mit Garnelen gefütterten *S. officinalis*, aber auch weit unter dem Literaturwert von ca.  $0.025 \text{ gd}^{-1}$  (DeRusha

et al. 1989). Dies kann mehrere Ursachen haben; einerseits kann es daran gelegen haben, dass Fische in diesem Lebensstadium, wie oben bereits erwähnt, nicht das optimale Futter für juvenile Sepien darstellen. Andererseits könnten auch die zur Verfügung gestellte Menge und die Größe der Fische Ursache für das geringe Wachstum gewesen sein. Es wurde zwar *ad libitum* gefüttert, um den Konkurrenzdruck unter den Tieren zu minimieren, sowie um Hunger und Mangelerscheinungen vorzubeugen, es ist jedoch durchaus möglich, dass die Sepien durch die große Menge an Fisch gestresst wurden und die Größe des Futters diese Stresssituation noch verstärkt haben könnte (Palma, pers. Kommunikation). In der Literatur ist zu finden, dass die Beutedichte einen Effekt auf die Wachstumsrate bei *S. officinalis* hat (Koueta und Boucaud-Camou 1999; 2001). Hier wurden höhere Wachstumsraten bei höheren Beutedichten beobachtet. Auch der Einfluss der Größe von Beuteorganismen auf *S. officinalis* wurde in vielen Studien näher untersucht, mit dem Ergebnis, dass Fische vorwiegend als Beuteorganismus in Betracht kommen, wenn diese eine Größe von 25-80 % der dorsale Mantellänge (DML) von Sepia aufweisen (Blanc et al. 1999). Die Wahl der Beute ist jedoch in erster Linie von der momentanen „Fress-Motivation“ von *S. officinalis* abhängig. Es kann somit durchaus vorkommen, dass auch größere Organismen in das Beutespektrum mit einbezogen werden (Boletzky und Hanlon 1983). In den Experimenten von Sykes et al. (2006a) wurde beobachtet, dass Garnelen, die doppelt so lang wie die Sepien waren, von ihnen gefressen wurden. Trotzdem kann ein Einfluss der Größe und Menge von Fisch auf das Fressverhalten der Sepien nicht eindeutig ausgeschlossen werden, zumal bei den täglichen Beobachtungen die Aktivität der mit Fisch gefütterten Sepien deutlich niedriger war, als bei den mit Garnelen gefütterten Sepien. Anzeichen von Hunger wegen Futtermangels wie zum Beispiel auffälliges Schwimmen oder Treiben der Tiere an der Oberfläche (Boletzky und Hanlon 1983) wurde, im Vergleich zu den mit Garnelen gefütterten Sepien, verstärkt wahrgenommen. Diese Einzelbeobachtungen könnten bei der Betrachtung der Sterblichkeit eine Rolle spielen.

Bei genauerer Betrachtung der biochemischen Zusammensetzung der mit Fisch gefütterten Sepien (siehe Abschnitt 4.4) wird jedoch sichtbar, dass die verbliebenen Tiere sich durchaus von Fischen als Futterorganismus ernähren konnten und auch ein Vergleich mit der Wachstumsrate der Hungergruppe zeigt, dass die mit Fisch gefütterten Sepien mehr als die hungernden Tiere gewachsen sind.

Generell kann man aus den hier gewonnenen Ergebnissen jedoch folgern, dass die in diesem Experiment angebotenen Fische offensichtlich keine optimalen Futterorganismen für juvenile Sepien darstellen.

Sepien, die ohne Futter gehalten wurden (Hungergruppe), zeigten negative Wachstumsraten. Obwohl das Wachstum bei Cephalopoden und im Speziellen bei *S. officinalis* während der ersten Lebensphase exponentiell verläuft (Forsythe und van

Heukelem 1987), benötigen gerade die frühen Stadien eine große Menge an Nahrung (Koueta und Boucaud-Camou 2001), was sich in den hohen Futterumsatz- und Stoffwechselraten widerspiegelt (Castro und Lee 1994). Allerdings sind im Besonderen junge Sepien in der Lage, sich auf einen Futtermangel einzustellen, in dem sie ihre Aktivität senken, den Futterbedarf minimieren und ihren Stoffwechsel und somit ihre Wachstumsrate bis auf 1/10 herunterfahren können (Boletzky und Hanlon 1983). Ohne die Zugabe von Futter ist es jedoch eine Frage der Zeit, bis die Wachstumsrate in den negativen Bereich driftet. Ein Versuch von Koueta und Boucaud-Camou (2001) ergab ebenfalls ein negatives Wachstum der Hungergruppe, wobei die Abnahme noch wesentlich stärker war als in diesem Versuch.

### **4.3 Futter und Mortalität**

Des Weiteren kann man anhand der Mortalität ebenfalls die Qualitätsabstufungen der Futterorganismen erkennen.

#### **4.3.1 Hatchlinge**

Die Mortalität der Hatchlinge ist relativ niedrig und zeigt, dass zum einen die Zehrung der Dotterreserve erfolgte, wodurch die frisch geschlüpften Sepien in den ersten Tagen in der Lage sind, die Nahrungssuche und anschließende Jagd zu erlernen, aber auch einen Nahrungsmangel aushalten zu können (Nixon und Mangold 1998). Zum anderen zeigt die geringe Mortalität, dass Mysis als Futterorganismus optimal geeignet ist, wie es in anderen Studien ebenfalls beobachtet werden konnte (Domingues et al. 2001b; Koueta et al. 2002).

#### **4.3.2 Juvenile Sepien**

Die mit Garnelen gefütterten Sepien wiesen die geringste Mortalität auf und bestätigten somit die Ergebnisse früherer Experimente (Domingues et al. 2003a; Domingues et al. 2004; Sykes et al. 2006a), dass die geringsten Mortalitätsraten, im Vergleich zu anderen Futteralternativen wie zum Beispiel Fisch, ebenfalls in den mit Garnelen gefütterten Sepiengruppen auftraten und folglich die Garnelen als Futterorganismen optimal zur Aufzucht von juvenilen Sepien geeignet sind. Die hohe Sterblichkeitsrate der mit Fisch gefütterten Sepien kann hingegen ein weiteres Anzeichen sein, dass Fisch als Futter in dieser Wachstumsphase nicht geeignet ist. Die erhöhte Mortalität kann jedoch auch durch die Nahrungsumstellung verursacht worden sein. Vor Beginn des zweiten Experimentes

bekamen die Sepien eine gewisse Zeit eine Mischung aus Mysis und Garnelen, ehe sie anschließend nur noch mit Garnelen gefüttert wurden. In dieser Zeit konnten sich die Sepien auf das Garnelenfutter einstellen, während die Fische erst während des Experiments als Nahrungsalternative angeboten wurden. Die Sepien hatten keine Vorlaufzeit, sich an das neue Futter zu gewöhnen und mussten sich während der Versuchslaufzeit auf den neuen noch unbekanntem Futterorganismus einstellen.

Die Hungergruppe des zweiten Experiments besaß die höchste Sterblichkeit. Nach der Versuchsdauer von 20 Tagen wies sie nur noch zwei lebende Sepien auf. Wie bereits in Absatz 4.2 erwähnt, können Sepien ihren Stoffwechsel auf ein Minimum zurückfahren und sind so in der Lage, in einem unterfütterten Zustand monatelang zu überleben (Boletzky und Hanlon 1983). Jedoch beim Fehlen jeglicher Nahrung werden zunehmend die noch vorhandenen Reserven gezehrt, bis die Tiere innerhalb von ca. 21 Tagen fortschreitend sterben (Koueta und Boucaud-Camou 2001).

Als weiterer möglicher Grund für die Mortalität in den Experimenten kann auch der in einigen Studien beschriebene Kannibalismus bei *S. officinalis* sein (Castro und Guerra 1990), welcher vorwiegend bei adulten Sepien beobachtet wurde, wobei kleinere Artgenossen gefangen und gefressen werden (Boyle und Rodhouse 2005a). Kannibalismus kommt in der natürlichen Umgebung von *S. officinalis* häufig vor, jedoch ist dieses Verhaltensmerkmal bisher noch wenig erforscht (Hanlon und Messenger 1996). In Laborexperimenten mit hohen Besatzdichten ist ein Auftreten von Kannibalismus wahrscheinlicher (Boyle und Rodhouse 2005a), weshalb man im Besonderen die Mortalitätsraten der mit Fisch gefütterten Sepien und der Hungergruppe des zweiten durchgeführten Experiments genauer in Betracht ziehen müsste. Über den gesamten Versuchszeitraum konnte jedoch kein aktiver Kannibalismus beobachtet werden und auch bei der Auswertung der biochemischen Zusammensetzung (siehe Abschnitt 4.4) konnten keine Hinweise auf Kannibalismus gefunden werden.

Mysis und Garnelen erwiesen sich demnach als optimale Futterorganismen und wirkten sich positiv auf das Überleben der Sepien aus. Trotzdem ist die Mortalität bei den mit Mysis gefütterten Sepien höher im Vergleich zu der mit Garnelen gefütterten Sepiengruppe.

Diese höhere Sterblichkeit kann darauf zurückgeführt werden, dass sie bei frisch geschlüpften Sepien im Allgemeinen höher ist und mit der Zeit abnimmt. In der Studie von Domingues et al. (2004) lag die relative Mortalität frisch geschlüpfter Sepien noch bei 26.7 %, 30 Tage alte Juvenile wiesen nur noch 8.3 % auf und bei 60 Tage alten Sepien gab es keine Sterblichkeit.

## 4.4 Änderungen in der biochemischen Zusammensetzung

### 4.4.1 Fettsäuren

Lipide dienen in lebenden Organismen hauptsächlich als Strukturkomponente in Zellmembranen, als Energiespeicher, als Hormone, als Pigmente oder als Signalmoleküle. Im Gewebe der Cephalopoden weisen sie im Vergleich zu den anderen Makromolekülen (wie z.B. Proteinen) die höchsten Schwankungen auf, welche im Bereich von 0.34 bis zu 3.4 % des Nassgewichts liegen (Lee 1994). Wenn man die Gesamtfettsäuremenge als indirektes Maß für die Lipidmenge einer Probe benutzen möchte, zeigt sich, wie auch in dem hier beschriebenen Experiment, eine hohe Variabilität in der Lipidmenge. Trotzdem kann man Trends erkennen, welche einen Einfluss der Nahrung auf das Fettsäureprofil der Sepien bestätigen.

Zu den Lipiden gehören die Fettsäuren, welche meist aus unverzweigten Monocarbonsäuren bestehen. Die Fettsäuren ARA, DHA und EPA sind für tierische Organismen als Nahrungsbestandteile essentiell, da sie nicht aus ihren chemischen Vorstufen (Linolsäure C 18:3 n3 bei EPA und DHA, Linolsäure C 18:2n6 bei ARA) synthetisiert werden können und somit über die Nahrung aufgenommen werden müssen (Sargent et al. 1995). Fettsäuren erfüllen eine Vielzahl von Funktionen in pflanzlichen und tierischen Organismen. Die Omega-3-Fettsäure (n-3) DHA zum Beispiel wird vor allem für die Membransynthese benötigt wohingegen EPA und ARA in zahlreichen physiologischen Prozessen benötigt werden. Gerade diese Fettsäuren sind wichtig für das Wachstum, aber auch für die Bildung des Nerven- und visuellen Systems (Sargent et al. 1995). Darüber hinaus spielen diese mehrfach-ungesättigten Fettsäuren ARA, EPA, und DHA in der Entwicklung, Reproduktion und Fitness von Invertebraten (wie z.B. Cephalopoden) wie auch bei Vertebraten eine wichtige Rolle (Hastings et al. 2001). Bei Süßwasser- und marinen Fischen ist der Bedarf an n-3 wie bei *S. officinalis* sehr hoch, während Menschen und terrestrische Säugetiere einen höheren Bedarf an n-6 Fettsäuren aufweisen (Sargent et al. 1995). Untersuchungen benthischer Invertebraten zeigten zudem die starke Bedeutung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, der sog. PUFAs (Hall et al. 2006). Die Fettsäurezusammensetzung gibt außerdem Hinweise auf Energiespeicherungsstrategien von Meeresorganismen und erlaubt Rückschlüsse auf trophische Interaktionen in Nahrungsbeziehungen.

#### 4.4.1.1 Hatchlinge

Ähnlich wie bei Navarro und Villanueva (2000) hatten die Fettsäuren Palmitinsäure, EPA und DHA die größten Anteile an der relativ geringen Gesamtfettsäurekonzentration von *S. officinalis*. Speziell die frisch geschlüpften Sepien wiesen einen relativ geringen Gesamtfettsäuregehalt auf, der zum Ende des Versuches wieder minimal anstieg. Im Besonderen fand hauptsächlich eine Akkumulation der mehrfach ungesättigten Fettsäuren, vor allem der Omega-3-Fettsäuren EPA und DPA und DHA statt, aber auch die n-6 Fettsäure ARA wurde angereichert. Diese Fettsäuren waren ebenfalls im Futterorganismus Mysis mit am häufigsten vertreten, wobei DHA und EPA die höchsten Anteile an der Gesamtfettsäurezusammensetzung aufwiesen. DHA und EPA lagen dabei in einem Verhältnis von 0.5 vor (Vergleich auch mit Domingues et al. 2003a). Navarro und Villanueva (2000) hingegen ermittelten ein Verhältnis von 1 bei einer anderen Mysidaceenart (*Acanthomysis longicornis*). Die mit Mysis gefütterten Sepien wiesen in diesem Experiment mit einem Verhältnis von rund 2 eine höhere Menge an DHA auf, als bei dem von Domingues et al. (2003a) ermittelten Verhältnis von rund 1.

Frisch geschlüpfte Sepien leben die ersten 10 Tage hauptsächlich von ihren Dotterreserven, nehmen aber auch schon Nahrung auf (Koueta und Boucaud-Camou 2001). Aus der vorliegenden Studie ist jedoch klar erkennbar, dass sie wichtige Fettsäuren wie n-3 und n-6 aus ihrem Futterorganismus anreichern.

#### 4.4.1.2 Juvenile

Im Gewebe der juvenilen Sepien sind ebenfalls die Fettsäuren Palmitinsäure, EPA und DHA am häufigsten vertreten. Im Allgemeinen ist der Trend zu erkennen, dass die jungen Sepien (Ausnahme: Hungergruppe) durchgehend einen höheren Gesamtfettsäureanteil besitzen als die Wildtiere (wie auch bei Filgueira und Castro 2002). Die mit Garnelen gefütterten Sepien können mit der Startgruppe gleichgesetzt werden, da beide Sepiengruppen mit Garnelen gefüttert wurden. Trotzdem ist hier eine Abnahme in der Gesamtfettsäurekonzentration zu verzeichnen, was als Alterseffekt eingestuft werden kann. Dies wird durch den Vergleich des Gesamtfettsäuregehalts mit dem der bereits adulten Wildseprien bestätigt.

Gerade die jungen Entwicklungsstadien von Tintenfischen speichern kaum Lipide, sondern setzen die gesamte Energie fast ausnahmslos in Wachstum um (Piatkowski und Hagen 1994). Auch wenn sie im Hatchling-Stadium dem Adulttier in Aussehen und Verhalten stark ähneln (Boletzky und Hanlon 1983; Domingues et al. 2006), so fließt die gewonnene Energie, ähnlich wie bei Jugendstadien anderer Tierarten wie z.B. Fischlarven (Kioerboe et al. 1987), hauptsächlich in das Wachstum.

Die Wichtigkeit der PUFAs, speziell der hohen Anteile an n-3 Fettsäuren von *S. officinalis*, wird auch in diesem Experiment sichtbar. Dies wird auch durch Untersuchungen von Koueta et al. (2002) sowie Domingues et al. (2003a) und Almansa et al. (2006) bestätigt.

Die am häufigsten vertretenen Fettsäuren bei Fischen als Futterorganismen waren C 16:0, C 18:0, C 18:1n7, C 20:4n6 (ARA) und die n-3 Fettsäuren EPA und DHA. Beim Garnelenfutter waren die Hauptfettsäuren C 16:0, C 18:0 sowie die n-3 Fettsäuren EPA und DHA.

Beim Vergleich der Fettsäurezusammensetzung der Futterorganismen fiel auch hier das Hauptaugenmerk auf die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, speziell die n-3 Fettsäuren. In Domingues et al. (2004) zeigten Fisch (2.7) und Garnele (0.7) einen großen Unterschied im Verhältnis DHA zu EPA, welcher sich auch in den mit unterschiedlichem Futter gefütterten Sepien widerspiegelte. In dem hier präsentierten Experiment lagen die Verhältnisse beider Futterorganismen zwar näher aneinander (Fisch: 0.78, Garnele: 0.42), wiesen aber trotzdem einen Unterschied auf, welcher sich ebenfalls in den verschiedenen gefütterten Sepiengruppen widerspiegelte.

Die hohe Gesamtfettsäurekonzentration des Fischfutters im Vergleich zum Garnelenfutter wurde zwar mit einem geringfügig höheren Gesamtfettsäureanteil in den mit Fisch gefütterten Sepien reflektiert, trotzdem zeigten beide Sepiengruppen eine ähnlich geringe Menge der Fettsäuren. Auch bei der prozentualen Verteilung der Fettsäuregruppen ist zu erkennen, dass die n-6 Fettsäuregruppe im Fisch auch bei den mit Fisch gefütterten Sepien höher lag.

Der Anteil von EPA an den Gesamtfettsäuren in unterschiedlichen Futterorganismen und dem hieraus resultierendem Einfluss auf das Wachstum von *S. officinalis* wurde von Almansa et al. (2006) näher untersucht.

Dabei wurde ein größerer prozentualer Anteil von EPA in den Garnelen im Vergleich zu Fisch gefunden, welcher sich auch in den mit unterschiedlichem Futter gefütterten Sepien widerspiegelte. Die juvenilen Sepien aus dem hier präsentierten Experiment wiesen in ihrer EPA-Menge jedoch keinen großen Unterschied auf, wobei hier die Futterorganismen ähnlich in den prozentualen Anteilen verteilt waren wie bei Almansa et al. (2006). Trotzdem kann das Vorhandensein größerer Mengen EPA im Futterorganismus sich auch positiv auf die Wachstumsrate ausgewirkt haben. EPA spielt eine wichtige Rolle in den physiologischen Prozessen im Organismus, wie es bereits in einigen wissenschaftlichen Studien über *S. officinalis* und andere Cephalopodenarten berichtet wurde (Sinanoglou und Miniadis-Meimaroglou 1998; Navarro und Villanueva 2000; Domingues et al. 2003a; Domingues et al. 2004).

Beim Vergleich des Gesamtfettsäuregehalts der Sepien kann man erkennen, dass alle Gruppen im Vergleich zur Startgruppe an Fettsäuren verloren haben. Speziell die bereits bei

Experiment 1 erwähnten, für die Entwicklung und das Wachstum wichtigen PUFAs ARA, EPA, DPA sowie DHA, aber auch die gesättigten Fettsäuren C 16:0 und C 18:0 wurden vor allem in den mit Garnelen gefütterten Sepien stärker angereichert als in der mit Fisch gefütterten Sepiengruppe. Die beobachteten Wachstumsunterschiede zwischen den mit Garnelen gefütterten und den mit Fisch gefütterten Sepien scheinen hier mit der unterschiedlichen biochemischen Zusammensetzung der Futterorganismen in Zusammenhang zu stehen (siehe Abschnitt 4.2.2).

Die mit Garnelen gefütterten Sepien wiesen in diesem Experiment die höchste Wachstumsrate auf und benötigten dementsprechend viel Energie (u.a. höherer Bedarf an Fettsäuren) für den erhöhten Stoffwechsel, welche sie aus der Nahrung bezogen und direkt in ihr Wachstum einfließen ließen. Die mit Fisch gefütterten Sepien hatten zwar eine geringere Wachstumsrate, aber auch hier wurde offensichtlich alle aufgenommene Energie in Erhaltungsstoffwechsel und Wachstum investiert und auf eine Speicherung der Lipide verzichtet (Kioerboe et al. 1987). Ob eine Fettsäurespeicherung in anderen Geweben der Sepien stattgefunden hat, kann nicht ausgeschlossen werden. Das für die Versuche ausschließlich verwendete Mantelgewebe der Tiere besitzt nur einen geringen Fettanteil (Sinanoglou und Miniadis-Meimaroglou 1998) und dient kaum als Lipidspeicher (< 1 %; Lee 1994). Sowohl bei Sepien als auch bei Kalmaren (Stowasser 2004; Stowasser et al. 2006) und bei Cephalopoden im Allgemeinen erfüllt das Mantelgewebe eher die strukturellen Anforderungen, während die Mitteldarmdrüse als Lipidspeicher dient (Boyle und Rodhouse 2005b). Um ein umfangreicheres Bild zum Einfluss unterschiedlicher Nahrungsorganismen auf Wachstum und Überleben auf junge Lebensstadien von *S. officinalis* zu erhalten, sollten in zukünftigen Studien zur biochemischen Zusammensetzung, speziell bei Fettsäureanalysen, auch andere Gewebetypen wie z.B. die Mitteldarmdrüse eingeschlossen werden. Castro et al. (1992) fanden zum Beispiel heraus, dass bei *S. officinalis* die Mitteldarmdrüse besonders während kurzzeitigen Hungerperioden ein wichtiges Speicherorgan darstellt und die Lipidmenge erst nach 53 Tagen signifikant abnimmt.

Bei den Sepien der Hungergruppe, wurde die für den Stoffwechsel benötigte Energie ebenfalls aus den Fettsäuren gezehrt (43 % Fettsäureverlust im Vergleich zur Startgruppe). Diese Zehrung diente jedoch vielmehr zur Aufrechterhaltung der lebensnotwendigen Funktionen als zur Investition ins Wachstum, was sich in der negativen Wachstumsrate der Tiere widerspiegelt. Dieser Effekt konnte auch durch die stabile Isotopenanalyse bestätigt werden (siehe Abschnitt 4.4.2).

Bei weiteren Untersuchungen sollte man zudem auch die Bedeutung und eventuell positiven Einflüsse anderer Nahrungskomponenten wie Proteine oder Carotinoide mit einbeziehen, um die Aussagekraft der Fettsäureergebnisse zu untermauern und gegebenenfalls zu ergänzen.

#### 4.4.2 Stabile Isotope

Der Transfer stabiler Isotope von einer trophischen Ebene zur nächsten wurde in der Vergangenheit vor allem bei Fischen, Crustaceen, aber auch Mollusken und marinen Säugetieren untersucht (u.a. DeNiro und Epstein 1978; Minagawa und Wada 1984; Navarro und Villanueva 2000; Gaye-Siessegger et al. 2004; Fry 2006). In der Studie von Minagawa und Wada (1984) zum Beispiel wurde die Stickstoffisotopenzusammensetzung mariner und auch Süßwasserarten unterschiedlicher Habitats (u. a. Beringmeer, Ostchinesisches Meer) untersucht und man fand heraus, dass unabhängig vom Habitat die Isotopenfraktionierung in den Organismen stattfand und sich  $^{15}\text{N}$ , mit zunehmender trophischer Ebene, stufenweise anreichert. Bei einer Untersuchung von Schleichtriem et al. (2004) mit Fischlarven (*Cyprinus carpio*) wurden die verwendeten Futterorganismen mit verschiedenen Kohlenstoffisotopensignaturen an Fischlarven verfüttert, um so den möglichen Einfluss der Nahrung sichtbar zu machen. Hierbei konnte eine Annäherung an das Isotopensignal des Futters nachgewiesen werden. Diese Studie hat gezeigt, dass die Organismen in der Lage sind, sich nach einer gewissen Zeit an das spezifische Isotopensignal ihrer Nahrung anzunähern. Zusätzlich kann es aber auch innerhalb einer Art zu hohen Variationen im Isotopensignal kommen (z. B. durch Unterschiede in der Proteinbiosynthese, Verdauung und Assimilation). Eine Untersuchung an Collembolen ergab, dass neben dem physiologischen Zustand des Konsumenten, die Qualität der Nahrung eine wichtige Rolle spielt und einen starken Effekt auf die Fraktionierung von Stickstoff besitzt (Haubert et al. 2005). Je höher die Stickstoffkonzentration im Futter, desto stärker war der Anstieg in den gefütterten Collembolen. Bei einem fehlenden Nahrungsangebot konnte in der darauf folgenden Hungerphase ein überdurchschnittlicher Anstieg im  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert der Collembolen ermittelt werden. Jedoch nicht nur die Qualität, sondern auch die Menge des Futters wies einen signifikanten Effekt im Isotopenverhältnis der Tiere auf, wie bei Experimenten mit Karpfen (*Cyprinus carpio*) herausgefunden wurde (Gaye-Siessegger et al. 2004). Ein Zusammenhang zwischen dem  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert und der Retention der Stoffwechselenergie konnte ebenfalls nachgewiesen werden. Es ist also zu beachten, dass die Veränderungen im Isotopensignal und der Grad der Anreicherung aufgrund unterschiedlicher Stoffwechsel- und Wachstumsraten innerhalb einer Art und somit auch von Organismus zu Organismus variieren können. Hohe Variationen können auch in verschiedenen Geweben innerhalb einer Art auftreten wie in einer Studie von Hobson und Cherel (2006) gezeigt. Hier wurden verschiedene Gewebetypen von *S. officinalis* analysiert und unterschiedliche Isotopensignaturen ermittelt, welche durch die unterschiedlichen Umsatzraten im Gewebe begründet werden können (Minagawa und Wada 1984).

Aufgrund dessen wurde in dieser Arbeit bei den durchgeführten Experimenten ausschließlich Mantelgewebe zur Analyse verwendet, welches auch vorwiegend in anderen Studien zur

Bestimmung der stabilen Isotopensignatur in Tieren bevorzugt wurde (Cherel und Hobson 2005; Fry 2006; Post et al. 2007). Beim Mantelgewebe handelt es sich um ein Gewebe mit eher geringen Umsatzraten, so dass anhand der Isotopensignaturen im Mantelgewebe das Nahrungssignal über einen längeren Zeitraum reflektiert wird.

### 4.4.2.1 Hatchlinge

Bei der Auswertung der Gewebeproben wird sichtbar, dass die mit Mysis gefütterten Sepien im Vergleich zur Startgruppe sich nach ca. drei Wochen an die Futtersignatur von Mysis angepasst haben. Die Hatchlinge spiegeln somit die  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur ihrer Nahrungsquelle wider. Die Versuchszeit wurde auf drei Wochen angesetzt, um sicherzugehen, dass in jedem Fall eine Angleichung an die Nahrung in den Sepien stattgefunden hat. Eine Angleichung kann, je nach Organismus und dessen Stoffwechselrate, bereits schon nach sechs Tagen bei Fischlarven erfolgen (Schlechtriem et al. 2004).

In den ersten Tagen nach dem Schlupf zeigten die Hatchlinge leicht erhöhte  $\delta^{15}\text{N}$ -Werte. Dies ist ein Zeichen dafür, dass die frisch geschlüpften Sepien in den ersten Tagen noch von ihren Dotterreserven lebten (Nixon und Mangold 1998) und somit das Signal der Mutter noch reflektierten. Trotzdem erreichten sie nach 26 Tagen den theoretischen Anreicherungsgrad von  $\Delta\delta^{15}\text{N}=2.2\text{‰}$  für Invertebraten (nach Fry 2006). Die bereits in Abschnitt 4.2 erwähnten hohen Metabolismus- und Wachstumsraten sprechen dafür, dass eine Änderung in der  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur schon nach relativ kurzer Zeit zu erwarten war. Die geringere  $\delta^{15}\text{N}$ -Anreicherung bei Invertebraten wie z.B. Sepien im Vergleich zu Vertebraten (im Allgemeinen  $\Delta\delta^{15}\text{N}=3.4\text{‰}$ ; Fry 2006) wird im Allgemeinen auf die Ammoniumexkretion zurückgeführt (Vanderklift und Ponsard 2003). Im Stoffwechsel werden Proteine in Ammonium katabolisiert (Boyle und Rodhouse 2005c), welches als toxische Verbindung unmittelbar aus dem Organismus ausgeschieden wird. Somit bleibt nur wenig Zeit für weitere chemische Reaktionen, wodurch eine mögliche Stickstoff-Fraktionierung nur bedingt stattfinden kann. Eine starke Anreicherung schwerer Stickstoffisotope im Gewebe wird dadurch verhindert (Vanderklift und Ponsard 2003).

Bei der Betrachtung der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte der Hatchlinge ist ebenfalls eine Anreicherung zu erkennen, welche dem theoretischen Anreicherungsgrad von  $1\text{‰}$  sehr gut entspricht (Fry 2006). Es konnte jedoch eine hohe intraspezifische Variabilität der  $\delta^{13}\text{C}$ -Werte bei den mit Mysis gefütterten Sepien beobachtet werden. Die gute Übereinstimmung mit dem theoretischen Anreicherungsgrad bei frisch geschlüpften Sepien zeigt, dass diese frühen Entwicklungsstadien der Sepien sehr gut den  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert ihrer Nahrung widerspiegeln, wie es auch für andere Organismen gezeigt wurde (Minagawa und Wada 1984; Oelbermann und Scheu 2002).

#### 4.4.2.2 Juvenile

Im zweiten Experiment wurde ebenfalls der Einfluss der Nahrung auf die Anreicherung der stabilen Isotope in den Sepien sichtbar. Das Fischfutter wies mit einem  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von 9.0 ‰ einen großen Unterschied zu den Garnelen auf, welche mit 3.3 ‰ einen ähnlichen Wert wie die verfütterten Mysis besaßen. Eine Anreicherung in der  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur war nur bei den mit Garnelen gefütterten Sepien zu finden, während die mit Fisch gefütterten Sepien eine Abreicherung im Vergleich zu ihrem Futter zeigten. Ihr  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert war höher als der mit Garnelen gefütterten Sepien. Dies lässt darauf schließen, dass zwar eine Annäherung an die  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur des Fischfutters stattgefunden hat, die Sepien sich jedoch nach der Versuchsdauer von 20 Tagen noch nicht im isotopischen Gleichgewicht mit ihrer Nahrung befanden. Die Abreicherung in  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  kann verschiedene Ursachen haben. Es kann einerseits sein, dass die Versuchslaufzeit von 20 Tagen zu kurz war, um die  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur des Fischfutters annähernd zu reflektieren, aber auch andere Faktoren wie die niedrigere Umgebungstemperatur und somit ein möglicher Einfluss auf die Stoffwechselrate könnten eine Rolle gespielt haben. Außerdem sollte die niedrigere Wachstumsrate, aber auch die Erkenntnis, dass Fische offensichtlich kein optimales Futter für Sepien in diesem Stadium darstellen, in Betracht gezogen werden. Die mit Garnelen gefütterten Sepien hingegen erreichten aufgrund der hohen Wachstumsraten und des erhöhten Metabolismus, eine isotopische Angleichung an den Futterorganismus innerhalb des Versuchszeitraums.

Ein weiterer Punkt ist die verstärkte Anreicherung von  $\delta^{15}\text{N}$  als Anzeichen für Hunger, wie bereits in einigen Studien mit verschiedenen Tierarten untersucht wurde (Gannes et al. 1997; Adams und Sterner 2000; Oelbermann und Scheu 2002). Wenn dem Körper nur noch wenig bzw. kein Stickstoff mehr zur Verfügung steht, dann wird der Organismus gezwungen, alle internen, im Gewebe gespeicherten, Ressourcen einzusetzen, um so den Stoffwechsel aufrechterhalten zu können. Die Ausscheidung von bevorzugt leichtem  $\delta^{14}\text{N}$  führt normalerweise zu einer stetigen Anreicherung von schweren Stickstoffisotopen im Gewebe. Aufgrund des Nahrungsmangels wird dem Organismus kein weiterer Stickstoff zur Verfügung gestellt, der Ausscheidungsprozess findet jedoch weiter statt und somit wird die stetige Anreicherung der schweren Stickstoffisotope im Gewebe verstärkt. Ein solcher Anstieg des  $\delta^{15}\text{N}$ -Wertes konnte in diesem Experiment weder bei der mit Fisch gefütterten Gruppe noch bei der Hungergruppe beobachtet werden. Die Tiere der Hungergruppe zeigten eine Abreicherung in ihrer  $\delta^{15}\text{N}$ -Signatur, wobei diese Gruppe aus nur zwei Individuen bestand und somit keine eindeutige Aussage gemacht werden kann.

Die trophische Anreicherung in  $\Delta\delta^{15}\text{N}$  und  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  im Tier hängt neben der Verfügbarkeit von Nahrung auch von der Qualität des Futters ab. Eine geringe Nahrungsqualität oder niedrige Stickstoffgehalte der Nahrungsquelle führen meist zu geringeren  $\Delta\delta^{15}\text{N}$ -Werten des Konsumenten (Oelbermann und Scheu 2002; Haubert et al. 2005; Aberle und Malzahn

2007). Futterorganismen mit einer hohen Qualität weisen nur einen geringen Unterschied zwischen den  $\delta^{13}\text{C}$ -Werten von Konsument und Beute auf (Oelbermann und Scheu 2002). Die geringen Unterschiede zwischen dem Futterorganismus Garnele und den mit Garnelen gefütterten Sepien sowie der Startgruppe bestätigen diesen Qualitätseinfluss des Futters. Die Kohlenstoffquelle des Fischfutters wurde von den mit Fisch gefütterten Sepien mit einem  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Wert von 2 ‰ (Fry, 2006:  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Wert=1 ‰) gut reflektiert. Dies zeigt, dass die Sepien das angebotene Fischfutter durchaus aufgenommen haben. Wie von Haubert et al. (2005) beschrieben, erhöhte sich die  $^{13}\text{C}$ -Fraktionierung bei niedriger Nahrungsqualität und führt zu einer erhöhten Anreicherung von schweren Kohlenstoffisotopen. Aufgrund der weniger guten Qualität des Fischfutters in dieser Studie konnte somit auch ein Anstieg in der Fraktionierungsrate im Körper der Sepien aufgezeigt werden, wodurch eine Erhöhung im  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Wert erfolgte, der über dem theoretischen Anreicherungsgrad von Fry (2006) lag.

Die Hungergruppe hingegen zeigte kaum eine Veränderung, sondern wies einen ähnlichen  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert wie die mit Garnelen gefütterten Sepien bzw. die der Startgruppe auf. Das Ergebnis widerspricht der Studie von Schlechtriem et al. (2004), wo ein Anstieg in der  $\delta^{13}\text{C}$ -Signatur der Hungergruppen bei Fischlarven beobachtet wurde. Scheinbar senkten die Sepien ihre Stoffwechselrate auf ein Minimum, so dass die Erhöhung von  $\delta^{15}\text{N}$  bzw.  $\delta^{13}\text{C}$  nicht oder nur langsam stattfand. Eine weitere Möglichkeit könnte sein, dass die Tiere primär von anderen körpereigenen Energiereserven wie Proteinen (siehe Abnahme im  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert) als von ihren Kohlenstoffreserven wie Fettsäuren zehrten, was jedoch durch die Betrachtung des C:N Verhältnisses nicht unbedingt bestätigt wird (siehe Abschnitt 4.4.2.4).

### 4.4.2.3 Vergleich Versuchstiere und Wildtiere

Vander Zanden und Rasmussen (2001) beobachteten in ihrer Studie, dass Tiere, die im Labor aufgezogen wurden, im Vergleich zu Wildfängen eine höhere Variabilität in ihren  $\delta^{15}\text{N}$ -Werten besaßen. Die Wildtiere aus Experiment 2 wiesen nur geringfügig höhere Schwankungen auf. Sie unterschieden sich jedoch stark von den juvenilen Sepiengruppen. Mit einem  $\delta^{15}\text{N}$ -Wert von 10.2 ‰ und einem  $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -18.3 ‰ liegen sie nahe an den ermittelten Daten von Hobson und Cherel (2006) mit  $\delta^{15}\text{N}$ =15.0 ‰ und  $\delta^{13}\text{C}$ =-18.1 ‰. Dies kann auf einen intraspezifischen Anstieg der  $\delta$ -Werte im Bezug zur eigenen Körpergröße zurückzuführen sein, denn wenn der Jäger/Konsument wächst, bevorzugt er auch dementsprechend größere Beuteorganismen. Mit zunehmender Mantellänge von *S. officinalis* sind somit höhere  $\delta$ -Werte zu erwarten. Dafür sprechen die Werte der Sepien aus beiden Experimenten. Die älter und größer werdenden Sepien bevorzugten in der Übergangsphase der Experimente zunehmend Garnelen, einen Beuteorganismus, welcher der biochemischen Zusammensetzung von Mysis sehr ähnelt und sich lediglich in der Größe

unterscheidet. Bei Filguera und Castro (2002) hingegen zeichnete sich ein Trend auf, der entgegengesetzt verlief. In dieser Studie wurden Wildfänge unterschiedlicher Größen aus der Ästurgemeinschaft (Seegraswiese) des Ría de Vigo (Spanien) beprobt. Die Ergebnisse stehen im Widerspruch zu dem bisherigen Wissen über die Nahrungsökologie bei Sepien, da die adulten Tiere ein anderes Nahrungsspektrum bevorzugen als die früheren Entwicklungsstadien. Die ontogenetischen Veränderungen im Nahrungsspektrum sowie in der Beutegröße wurden bereits mehrfach dokumentiert (Castro und Guerra 1990; Blanc et al. 1999). Dementsprechend müssten sich die stabilen Isotopensignaturen mit zunehmender Sepiengröße stärker anreichern, da die bevorzugt größeren Futterorganismen sich ebenfalls in einer höheren trophischen Ebene befinden als die Auswahl der Futterorganismen jüngerer Sepienstadien, die niedriger im Nahrungsnetz angesiedelt sind. Die Autoren (Filgueira und Castro 2002) nehmen an, dass die Ursachen in diesem gegenläufigen Trend u. a. im Migrationsverhalten von *S. officinalis* zu finden sind. Normalerweise wandern die Sepien mit zunehmendem Alter in tiefere Gewässer, um dort auf Nahrungssuche zu gehen (Guerra 2006), jedoch wandern adulte *S. officinalis* zum Laichen meist aus den tiefen Gewässern in Flachwassergebiete (Guerra 2006). Somit besteht die Möglichkeit, dass aufgrund der Migration solche Sepien sich im Fanggebiet aufhielten und so in der Studie in Betracht gezogen wurden. Des Weiteren kann die Möglichkeit bestanden haben, dass kleinere Individuen das Ästurgebiet gar nicht verlassen haben, ihren Lebenszyklus also ausschließlich in der Flachwasserzone verbracht haben und deshalb die Isotopensignatur der Futterorganismen des lokalen Nahrungsnetzes der Flachwasserzone reflektierten. Die größten gefangenen Tiere der Seegraszone des Ría de Vigo, wiesen eine abweichende Isotopensignatur auf, im Vergleich zu den anderen Sepien, die in diesem Gebiet gefangen wurden. Das kann darauf zurückgeführt werden, dass diese großen Sepien ursprünglich aus tieferen Gewässern stammen und eingewandert sind, womit die von den anderen Wildfängen abweichende Isotopenzusammensetzung trotz ähnlicher Größenverhältnisse erklärt werden könnte. Selbst wenn sich die Sepien der tieferen Gewässer bereits längere Zeit in dem Flachwassergebiet aufgehalten und von dem „neuen“ Futterspektrum gefressen hätten, kann das Isotopensignal immer noch das Futterspektrum der tieferen Gewässer reflektieren. Aufgrund der geringeren Stoffwechselrate der adulten Sepien im Vergleich zu den jüngeren Artgenossen, wird die ursprüngliche Isotopenzusammensetzung im Organismus länger beibehalten, ehe eine Annäherung an die Isotopensignatur des Futterspektrums der Flachwassergebiete erfolgte. Es können demnach große und kleine Tiere in den gleichen trophischen Netzen vertreten sein und gleichgroße Tiere in verschiedenen Nahrungsnetzen vorkommen. Aus diesem Grund sind neben den Feldstudien die Experimente im Labor von großer Bedeutung, um unter kontrollierten Bedingungen den

Einblick in den Organismus zu bekommen und somit verlässliche Aussagen über die Rolle der Sepien im natürliche Nahrungsnetz treffen zu können.

### 4.4.2.4 C:N Verhältnisse

Das C:N Verhältnis reflektiert das Verhältnis zwischen Lipiden und Proteinen. In der Studie von Post et al. (2007) wurden Pflanzen und Tiere untersucht, wobei in den Tieren ein starker Einfluss des C:N Verhältnisses (Lipidgehalt) auf den  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Wert gefunden wurde. Bei geringen Fettsäurekonzentrationen (wie im Mantelgewebe der Tintenfische) oder bei C:N Verhältnissen unter 3.5 kann der Einfluss der Lipide auf die  $\Delta\delta^{13}\text{C}$ -Signatur vernachlässigt werden (Post et al. 2007). Wenn allerdings ein Vergleich von Arten mit variierendem Lipidgehalt vorgenommen wird, sollte eine zusätzliche Lipidextraktion durchgeführt werden, welche jedoch geringe aber signifikante Fraktionierung in  $\delta^{15}\text{N}$  hervorrufen können (Post et al. 2007). Da die in beiden Experimenten verwendeten Tiere annähernd gleiche C:N Verhältnisse aufwiesen, konnten die Daten auch ohne Lipidextraktion ausgewertet werden.

Fische und benthische Invertebraten haben im Allgemeinen ein C:N Verhältnis zwischen 3.3 und 5.1 (McConnaughey und McRoy 1979).

Das C:N Verhältnis scheint bei *S. officinalis* mit dem Alter und Wachstum abzunehmen. Während die frisch geschlüpften Sepien einen Wert von 4.6 aufwiesen, bewegten sich die Werte der Juvenilen um 4.1 und die Wildseprien besaßen mit 3.9 das niedrigste Verhältnis. In der Studie von Hobson und Cherel (2006) wurde bei 10 Monate alten Sepien ein C:N Verhältnis von 3.2 und bei Wildseprien ein Verhältnis von 3.5 ermittelt. Hierbei wird deutlich, dass die jungen Stadien von *S. officinalis* kaum Fettsäuren und Proteine speichern, sondern die gewonnene Energie, wie bereits erwähnt, fast ausschließlich in ihr Wachstum einfließen lassen (Kioerboe et al. 1987). Adulte Cephalopoden assimilieren Fettsäuren weniger effektiv als Proteine (Lee 1994), was sich im Anstieg des Stickstoffgehalts und dementsprechend im geringeren C:N Verhältnis widerspiegelt.

Das C:N Verhältnis der in dieser Studie verwendeten Versuchstiere blieb sowohl bei den gefütterten Sepien als auch bei der Hungergruppe annähernd konstant. Normalerweise müsste das C:N Verhältnis im Hungerzustand aufgrund der erhöhten Proteinzehrung niedriger werden wie es z.B. von Haubert et al. (2005) gezeigt wurde. Das lässt vermuten, dass sowohl die Protein- als auch Fettsäurereserven gleichermaßen gezehrt wurden. Da aber die Hungergruppe nur von zwei Individuen vertreten wurde, sind weitere Untersuchungen notwendig, um die Stoffwechselvorgänge im Organismus speziell in der Hungerphase besser deuten zu können.

### 5 Zusammenfassung

Aufgrund zahlreicher Studien zu Physiologie, Aufzucht und Verhalten erwies sich der Modellorganismus *S. officinalis* als ideal für die Durchführung der Experimente, welche den Einfluss der Nahrung auf die biochemische Zusammensetzung klären sollten.

Die beiden Aufzuchtsexperimente wurden durchgeführt, um den Einfluss der Nahrung auf verschiedene Parameter wie Wachstum, Mortalität, Fettsäuresignatur sowie Isotopensignatur frisch geschlüpfter Sepien (Experiment 1) sowie juveniler Sepien (Experiment 2) zu untersuchen. Die umfangreichen Analysen wurden ausschließlich an Mantelgewebeproben der Tiere durchgeführt.

In Experiment 1 wurde eine hohe Wachstumsrate (IGR) der Hatchlinge sowie eine geringe Mortalitätsrate beobachtet. Der Einfluss des Nahrungsorganismus *Mysis* auf die Fettsäure- bzw. stabile Isotopenzusammensetzung der Sepien konnte nachgewiesen werden.

Die Wachstumsrate der Sepien aus Experiment 2 war bei den mit Garnelen gefütterten Sepien am höchsten und sank über eine niedrigere, aber immer noch positive Wachstumsrate bei den mit Fisch gefütterten Tieren bis zu einem negativen Wachstum bei der Hungergruppe. Diese Abstufung konnte ebenfalls bei der Betrachtung der Mortalität und zum Teil in der biochemischen Zusammensetzung beobachtet werden. Der Transfer der Fettsäuremuster sowie die Weitergabe des Isotopensignals konnte auch in diesem Experiment sichtbar gemacht werden. Die Kombination beider Methoden (Fettsäure- und Isotopenanalyse) erwies sich als ausgezeichneter Indikator, um den Einfluss der Nahrung umfangreich zu studieren.

Die Fettsäure- bzw. stabile Isotopenzusammensetzung zeigte in der gesamten Studie einen Einfluss der biochemischen Zusammensetzung der Nahrung auf verschiedene Entwicklungsstadien der Konsumenten und bekräftigte somit das Potenzial beider Methoden als Nahrungsnetzindikatoren und trophische Marker. Diese Methoden können zwar keine vollständige Beschreibung der Nahrungsnetzstruktur und dessen Funktion liefern, dennoch bieten gerade die Erkenntnisse aus Studien, die unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt wurden, einen wichtigen Beitrag, um die Funktion und Rolle des Konsumenten im Nahrungsnetz besser verstehen zu können. Zusätzlich konnte mit diesen Experimenten der starke Einfluss des Wachstums auf die biochemische Zusammensetzung der jungen Sepien nachgewiesen werden. Weitere Erkenntnisse im Verhalten und in der biochemischen Zusammensetzung, speziell der Hungertiere, konnten ebenfalls gewonnen werden. Trotzdem spielen noch viele weitere Faktoren wie zum Beispiel andere Nahrungskomponenten (u.a. Proteine, Carotenoide) oder andere Gewebetypen (z.B. Mitteldarmdrüse, Schnabel) bei der Interpretation der biochemischen Zusammensetzung eines Organismus eine Rolle. Um die hier gewonnenen Daten zur Nahrungsökologie des

Konsumenten *S. officinalis* und die Information zu den von *S. officinalis* bevorzugten Beuteorganismen im komplexen Nahrungsnetz anwenden zu können, müssen weitere Untersuchungen im Labor sowie im Freiland vorgenommen werden. Dies würde es ermöglichen, präzisere Aussagen zum Wachstum von *S. officinalis* und zur Bedeutung der in dieser Studie untersuchten Nahrungsorganismen treffen zu können. Je mehr Daten aus zukünftigen ökologischen Studien gesammelt werden, umso größer sind die Möglichkeiten neue Einblicke in die Ernährungsstrategie und Lebensweise von *S. officinalis* und deren Rolle in marinen Nahrungsnetzen gewinnen zu können.

## 6 Literaturverzeichnis

- Aberle N, Malzahn A (2007) Inter-specific and nutrient-dependent variations in stable isotope fractionation: Experimental studies simulating pelagic multi-trophic systems. *Oecologia* DOI 10.1007/s00442-007-0829-5, in press
- Adams TS, Sterner RW (2000) The effect of dietary nitrogen content on trophic level  $^{15}\text{N}$ -enrichment. *Limnology and Oceanography* 45: 601-607
- Aguzzi J, Cuesta JA, Librero M, Toja J (2005) Daily and seasonal feeding rhythmicity of *Palaemonetes varians* (Leach 1814) from southwestern Europe. *Marine Biology* 148: 141-147
- Alfaro AC, Thomas F, Sargent L, Duxbury M (2006) Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 70: 271-286
- Almansa E, Domingues P, Sykes A, Tejera N, Lorenzo A, Andrade JP (2006) The effects of feeding with shrimp or fish fry on growth and mantle lipid composition of juvenile and adult cuttlefish (*Sepia officinalis*). *Aquaculture* 256: 403-413
- Bell JG, Tocher DR, MacDonald FM, Sargent JR (1994) Effects of diets rich in linoleic (18:2n-6) and alpha-linoleic (18:3n-3) acids on the growth, lipid class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiology and Biochemistry* 13: 105-118
- Bettencourt V (2000) Idade e crescimento do choco *Sepia officinalis* L., Faro
- Blanc A, du Sel PG, Daguzan J (1999) Relationships between length of prey/predator for the most important prey of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Malacologia* 41: 139-145
- Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917
- Boletzky SV (1987) Fecundity variation in relation to intermittent or chronic spawning in the cuttlefish, *Sepia officinalis* L. (Mollusca, Cephalopoda). *Bulletin of Marine Science* 40: 382-387
- Boletzky SV, Hanlon RT (1983) A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod molluscs. *Memoirs of the National Museum Victoria* No. 44
- Boyle PR, Rodhouse PG (2005a) *Cephalopods as Predators* *Cephalopods - Ecology and Fisheries*. Blackwell Publishing, London, pp 222-233
- Boyle PR, Rodhouse PG (2005b) *Form and Function* *Cephalopods - Ecology and Fisheries*. Blackwell Publishing, London, pp 7-35
- Boyle PR, Rodhouse PR (2005c) *Cephalopods - Ecology and Fisheries*. Blackwell Publishing, London

- Castro BG, Garrido JL, Sotelo CG (1992) Changes in composition of digestive gland and mantle muscle of the cuttlefish *Sepia officinalis* during starvation. *Marine Biology* 114: 11-20
- Castro BG, Guerra A (1990) The diet of *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) and *Sepia elegans* (D'Orbigny, 1835) (Cephalopoda, Sepioidea) from the Ria de Vigo (NW Spain). *Scientia Marina* (Barcelona) 54: 375-388
- Castro BG, Lee PG (1994) The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L (Mollusca, Cephalopoda). *Comparative Biochemistry and Physiology a-Physiology* 109: 1007-1016
- Chen RF, Fry B, Hopkinson CS, Repeta DJ, Peltzer ET (1996) Dissolved organic carbon on Georges Bank. *Continental Shelf Research* 16: 409-420
- Cherel Y, Hobson KA (2005) Stable isotopes, beaks and predators: a new tool to study the trophic ecology of cephalopods, including giant and colossal squids. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B: Biological Sciences* 272: 1601-1607
- Clarke MR (1996) The role of Cephalopods in the world's oceans: An introduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 351: 979-983
- Coelho ML, Modesto T, Soares F, Lopez A (1989) *Sepia officinalis*: Potential for aquaculture and restocking? In: Boucaud-Camou E (ed) 1 st International Symposium on the cuttlefish *Sepia* : La seiche - The cuttlefish. Institut de Biochimie et de Biologie Appliquée Université de Caen, Caen, pp 348-349
- Correia M, Domingues PM, Sykes A, Andrade JP (2005) Effects of culture density on growth and broodstock management of the cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture* 245: 163-173
- DeNiro M, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42. : 495 to 506.
- DeRusha RH, Forsythe JW, Dimarco FP, Hanlon RT (1989) Alternative diets for maintaining and rearing Cephalopods in captivity. *Laboratory Animal Science* 39: 306-312
- Domingues P, Bettencourt V, Guerra A (2006) Growth of *Sepia officinalis* in captivity and nature. *Vie et milieu* 56: 109-120
- Domingues P, Poirier R, Dickel L, Almansa E, Sykes A, Andrade JP (2003a) Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International* 11: 225-242
- Domingues P, Sykes A, Sommerfield A, Almansa E, Lorenzo A, Andrade J (2004) Growth and survival of cuttlefish (*Sepia officinalis*) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture* 229: 239-254

- Domingues PM, Dimarco PF, Andrade JP, Lee PG (2005) Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. *Aquaculture International* 13: 423-440
- Domingues PM, Kingston T, Sykes A, Andrade JP (2001) Growth, feeding rates and food conversions of cuttlefish *Sepia officinalis* fed different prey, from hatchling to adult sizes
- Domingues PM, Kingston T, Sykes A, Andrade JP (2001a) Growth of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus 1758) at the upper end of the biological distribution temperature range. *Aquaculture Research* 32: 923-930
- Domingues PM, Sykes A, Andrade JP (2001b) The use of *Artemia sp.* or mysids as food source for hatchlings of the cuttlefish (*Sepia officinalis* L.); effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture International* 9: 319-331
- Domingues PM, Sykes A, Andrade JP (2002) The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquaculture International* 10: 207-220
- Domingues PM, Sykes A, Sommerfield A, Andrade JP (2003b) Effects of feeding live or frozen prey on growth, survival and the life cycle of the cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International* 11: 397-410
- FAO (2007) Species Fact Sheet: *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. In: Roper CFE, Sweeney MJ, Nauen CE (eds) *FAO Species catalogue VOL. 3. Cephalopods of the world. An Annotated and Illustrated Catalogue of Species of Interest to Fisheries.* Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) Fisheries Department. , pp 4
- Filgueira R, Castro BG (2002) Relationship between trophic position and size of cuttlefish *Sepia officinalis* L. : Do stable isotopes give the right answer? Departamento de Ecología e Biología Animal.Faculdade de Ciencias.Universidade de Vigo.Spain
- Folch J, Lees M, Stanley GHF (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biol. Chem.* 226: 497-509
- Forsythe JW, DeRusha RH, Hanlon RT (1994) Growth, reproduction and life span of *Sepia officinalis* (Cephalopoda: Mollusca) cultured through seven consecutive generations. *Journal of Zoology* 233: 175-192
- Forsythe JW, van Heukelem WF (1987) Growth. In: Boyle PR, Rodhouse P (eds) *Cephalopod Life Cycles.* Academic Press, London, pp 135-155
- Froese R, Pauly D (2007) FishBase. [www.fishbase.org](http://www.fishbase.org). In: Editors (ed) *World Wide Web electronic publication*
- Fry B (1988) Food Web Structure on Georges Bank from Stable C, N, and S Isotopic Compositions. *Limnology and Oceanography* 33: 1182-1190
- Fry B (2006) *Stable Isotope Ecology.* Springer Science +Business Media (LLC)

- Fry B, Parker PL (1979) Animal diets in Texas seagrass meadows:  $\delta^{13}\text{C}$  evidence for the importance of benthic plants. *Estuarine Coastal Mar Sci* 8: 499-509
- Fry B, Sherr EB (1984)  $\delta^{13}\text{C}$  measurements as indicators of carbon flow in marine and fresh water ecosystems. *Contrib Mar Sci* 27: 13-47
- Gannes LZ, Obrien DM, delRio CM (1997) Stable isotopes in animal ecology: Assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology* 78: 1271-1276
- Gaye-Siessegger J, Focken U, Muetzel S, Abel H, Becker K (2004) Feeding level and individual metabolic rate affect  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values in carp: implications for food web studies. *Oecologia* 138: 175-183
- Grigoriou P, Richardson CA (2004) Aspects of the growth of cultured cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus 1758). *Aquaculture Research* 35: 1141-1148
- Guerra A (2006) Ecology of *Sepia officinalis*. *Vie et milieu* 56: 97-107
- Hall D, Lee SY, Meziane T (2006) Fatty acids as trophic tracers in an experimental estuarine food chain: Tracer transfer. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 336: 42-53
- Hanlon RT, Messenger JB (1988) Adaptive coloration in young cuttlefish (*Sepia-Officinalis* L) - the morphology and development of body patterns and their relation to behavior. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 320: 437-&
- Hanlon RT, Messenger JB (1996) Feeding and foraging Cephalopod Behaviour. Cambridge University Press, Cambridge, pp 47-65
- Hansen T, Sommer U (2007) Increasing the sensitivity of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  abundance measurements by a high sensitivity elemental analyzer connected to an isotope ratio mass spectrometer. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 314-318
- Hastings N, Agaba M, Tocher DR, Leaver MJ, Dick JR, Sargent JR, Teale AJ (2001) A vertebrate fatty acid desaturase with  $\delta 5$  and  $\delta 6$  activities. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 98: 14304-14309
- Haubert D, Langel R, Scheu S, Ruess L (2005) Effects of food quality, starvation and life stage on stable isotope fractionation in Collembola. *Pedobiologia* 49: 229-237
- Hobson KA, Cherel Y (2006) Isotopic reconstruction of marine food webs using cephalopod beaks: new insight from captive raised *Sepia officinalis*. *Canadian Journal of Zoology* 84: 766-770
- Jackson GD, Bustamante P, Cherel Y, Fulton EA, Grist EPM, Jackson CH, Nichols PD, Pethybridge H, Phillips K, Ward RD, Xavier JC (2007) Applying new tools to cephalopod trophic dynamics and ecology: perspectives from the Southern Ocean Cephalopod Workshop, February 2-3, 2006. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 17: 79-99

- Jardine TD, Cunjak RA (2005) Analytical error in stable isotope ecology. *Oecologia* 144: 528-533
- Kioerboe T, Munk P, Richardson K (1987) Respiration and growth of larval herring *Clupea harengus* : Relation between specific dynamic action and growth efficiency. *Marine ecology progress series*. Oldendorf 40: 1-10
- Koueta N, Boucaud-Camou E (1999) Food intake and growth in reared early juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L-(Mollusca Cephalopoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 240: 93-109
- Koueta N, Boucaud-Camou E (2001) Basic growth relations in experimental rearing of early juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 265: 75-87
- Koueta N, Boucaud-Camou E (2003) Combined effects of photoperiod and feeding frequency on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. in experimental rearing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 296: 215-226
- Koueta N, Boucaud-Camou E, Noel B (2002) Effect of enriched natural diet on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Aquaculture* 203: 293-310
- Lee PG (1994) Nutrition of cephalopods: Fueling the system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 25: 35-51
- Lock K, Mees J (1999) The winter hyperbenthos of the Ria Formosa -- a lagoon in southern Portugal -- and adjacent waters. *Cah. Biol. Mar* 40: 47-56
- Malzahn AM, Aberle N, Clemmesen C, Boersma M (2007) Nutrient limitation of primary producers affects planktivorous fish condition. *Limnology and Oceanography* 52: 2062-2071
- Mark F, Jaeckel G, Gutowska M, Portner H, Oellermann M, Ellington C (2007) Diurnal activity patterns and related changes in energy metabolism in the Cephalopod *Sepia officinalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology* 146: S76-S76
- McConnaughey T, McRoy CP (1979) Food-web structure and the fractionation of carbon isotopes in the Bering Sea. *Marine Biology* 53: 257-262
- Minagawa M, Wada E (1984) Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food-chains - Further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 48: 1135-1140
- Moltschaniwskyj NA, Jackson GD (2000) Growth and tissue composition as a function of feeding history in juvenile Cephalopods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 253: 229-241

- Navarro JC, Villanueva R (2000) Lipid and fatty acid composition of early stages of cephalopods: An approach to their lipid requirements. *Aquaculture* 183: 161-177
- Nixon M, Mangold K (1998) The early life of *Sepia officinalis*, and the contrast with that of *Octopus vulgaris* (Cephalopoda). *Journal of Zoology* 245: 407-421
- Oelbermann K, Scheu S (2002) Stable isotope enrichment ( $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ ) in a generalist predator (*Pardosa lugubris*, *Araneae* : *Lycosidae*): effects of prey quality. *Oecologia* 130: 337-344
- Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 293-320
- Piatkowski U, Hagen W (1994) Distribution and lipid composition of early life stages of the cranchid squid *Galiteuthis glacialis* (Chun) in the Weddel Sea. *Antarct. Ant.Sci.* 6: 235-239
- Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology* 83: 703-718
- Post DM, Layman CA, Arrington DA, Takimoto G, Quattrochi J, Montana CG (2007) Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. *Oecologia* 152: 179-189
- Rau GH, Hopkins TL, Torres JJ (1991)  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  in Weddell Sea invertebrates: Implications for feeding diversity. *Marine Ecology Progress Series* 77: 1-6
- Reid A, Roper CFE, Jereb P (2005) Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species known to date. Volume 1. Chambered nautilus and sepioids (*Nautilidae*, *Sepiidae*, *Sepiolidae*, *Sepiadariidae*, *Idiosepiidae* and *Spirulidae*). In: Purposes FSCfF (ed), Rome, pp 57-152
- Rexfort A, Mutterlose J (2006) Stable isotope records from *Sepia officinalis* - A key to understanding the ecology of belemnites? *Earth and Planetary Science Letters* 247: 212-221
- Ricker WE (1979) Growth Rates and Models. In: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR (eds) *Fish Physiology* Academic Press, New York, pp 677-743
- Rodhouse PG, Nigmatullin CM (1996) Role as consumers. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 351: 1003-1022
- Sargent JR, Bell JG, Bell MV, Henderson RJ, Tocher DR (1995) Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of applied ichthyology* 11: 183-198
- Schabes M, Hamner W (1992) Mysid locomotion and feeding: kinematics and water-flow patterns of *Antarctomysis* sp., *Acanthomysis sculpta*, and *Neomysis rayii* *Journal of Crustacean Biology* 12: 1-10
- Schlechtriem C, Focken U, Becker K (2004) Stable isotopes as a tool for nutrient assimilation studies in larval fish feeding on live food. *Aquatic Ecology* 38: 93-100

- Sinanoglou VJ, Miniadis-Meimaroglou S (1998) Fatty acid of neutral and polar lipids of (edible) Mediterranean Cephalopods. *Food Research International* 31: 467-473
- Stowasser G (2004) Squid and their prey: insights from fatty acid and stable isotope analysis, Ph D thesis. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
- Stowasser G, Pierce GJ, Moffat CF, Collins MA, Forsythe JW (2006) Experimental study on the effect of diet on fatty acid and stable isotope profiles of the squid *Lolliguncula brevis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 333: 97-114
- Sykes A, Domingues PM, Andrade JP (2006a) Effects of using live grass shrimp (*Palaemonetes varians*) as the only source of food for the culture of cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International* 14: 551-568
- Sykes A, Domingues PM, Correia M, Andrade JP (2006b) Cuttlefish culture. State of the art and future trends. *Vie et Milieu* 56: 129-137
- Sykes A, Domingues PM, Loyd M, Sommerfield A, Andrade JP (2003) The influence of culture density and enriched environments on the first stage culture of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International* 11: 531-544
- Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (2001) Variation in  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnology and Oceanography* 46: 2061-2066
- Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet  $\delta^{15}\text{N}$ -enrichment: A meta-analysis. *Oecologia* 136: 169-182
- Veloza AJ, Chu F-LE, Tang KW (2006) Trophic modification of essential fatty acids by heterotrophic protists and its effects on the fatty acid composition of the copepod *Acartia tonsa*. *Marine Biology* 148: 779-788
- Warnke K (1994) Some aspects of social interaction during feeding in *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda) hatched and reared in the laboratory. *Vie et Milieu* 44: 125-131

## 7 Danksagung

First of all: Ich möchte mich recht herzlich bei meinen Betreuern Drs. Nicole Aberle-Malzahn und Arne Malzahn für die tolle und unermüdliche Unterstützung bedanken, ohne die diese Arbeit nicht das wäre, was sie heute ist. Gerade die letzten Wochen waren richtig anstrengend, aber Dank euch und euren wertvollen Hilfestellungen und vielen Tipps konnte ich den Weg durch den Datenschungel gut meistern. Danke dir Arne für die zahlreichen Lehrstunden im Computerkram und seinen kniffligen Programmen - ohne deine Hilfe wäre ich garantiert untergegangen – merci merci und nochmals merci.

Ihr hattet immer ein offenes Ohr und hilfreiche Ratschläge für mich - egal ob fast 3000 km dazwischen lagen oder „nur“ der Weg von Kiel zur Insel. Ich möchte euch auch noch dafür Danke sagen, dass ich auf Helgoland die Chance hatte, nicht nur mit euch zusammenzuarbeiten, sondern auch meine Proben bearbeiten und neue Analysemethoden kennen lernen konnte – die eine auch noch beim „Master of Fettsäuren“ höchstpersönlich.

Da ich schon mal bei Helgoland bin: ich sag auch Danke an die technischen Mitarbeiter, die mich auf der Insel unterstützt haben bei der Probenanalyse.

Meinem Betreuer Dr. Uwe Piatkowski möchte ich ebenfalls recht herzlich danken. Seine ansteckende Begeisterung für Tintenfische und natürlich seine wertvollen Anregungen zum Konzept und zur Fertigstellung der Arbeit waren eine große Hilfe. Natürlich möchte ich mich auch dafür bedanken, dass er mir den Aufenthalt in Portugal überhaupt erst ermöglichte und mich bei diesem „Abenteuer“ in jeder Situation unterstützte.

Desweiteren möchte ich auch Herrn Prof. Pedro Andrade und seiner Forschungsgruppe der Universidade do Algarve (Ciências do Mar e do Ambiente) in Portugal danken, die mir die Aufzuchtanlagen und das dafür nötige Wissen zur Verfügung stellten; mir aber auch bei vielen nützlichen Dingen wie z.B. dem Fangen des Futters zur Seite standen und mich so gut wie möglich unterstützten.

Ich danke Herrn Prof. Ulrich Sommer vom IFM-GEOMAR in Kiel für die Betreuung dieser Arbeit, dass ich bei offenen Fragen jederzeit zu ihm kommen konnte und dass ich in seiner Arbeitsgruppe meine Diplomarbeit anfertigen konnte.

Ich danke auch der Abteilung (FB-EÖN), dass sie mich in ihrer Mitte willkommen hieß, mich unterstützte und mir wertvolle Tipps gegeben hat – egal ob es sich um Ausdrucksfindungen

(verknüpft mit netten Pausen, merci Kathrin), um Kampfansagen an die Statistik (danke Birte) oder einfach nur um nette Gespräche handelte.

Speziell bedanke ich mich bei Thomas Hansen für seine Turbo-Analysen und natürlich auch für seine hilfreichen Ratschläge zu stabilen Isotopen.

Ebenfalls danke ich Herrn Prof. Marten Boersma für die Betreuung meiner Arbeit und dafür, dass ich die Analysen der Proben in seiner Forschungsgruppe der Biologischen Anstalt Helgoland (AWI) durchführen konnte.

Special thanks geht an Dr. Adrian Bischoff, der ein wichtiger Wegbegleiter dieser Arbeit wurde und mir immer 110 Prozent mit Rat und Tat zur Seite stand. Ich werde die erfrischenden Diskussionen und den Morgen-Kaffee jetzt noch mehr vermissen.

Last but not least danke ich vielen weiteren Mitarbeitern des IFM (Dr. Uwe Waller, Dr. Jörn Schmidt, Dr. Karsten Zumholz, Dr. Helmut Thetmeyer, Dr. Mark Lenz etc.) für ihre nützlichen Denkanstöße und natürlich meinen Freunden (diejenigen wissen schon, dass sie gemeint sind) für ihre große Unterstützung sowie die hilfreichen Tipps und die willkommenen Abwechslungs-Manöver.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich während des gesamten Studiums so enorm unterstützt haben, mich gerade in den letzten Monaten stets ermutigten und einfach immer für mich da waren - in den guten und besonders in den harten Zeiten. Danke für alles.

## 8 Anhang

Tabelle 4: Wasserparameter Temperatur [°C] und Salinität [PSU] des gesamten Versuchszeitraumes

Datum	Temperatur [C°]	Salinität [PSU]		Datum	Temperatur [C°]	Salinität [PSU]	
01. Sep	25.7	36.6		13. Okt	19.8	37.8	Exp. 1
02. Sep	25.6	36.6		14. Okt	20.2	37.9	Exp. 1
03. Sep	24.9	36.7		15. Okt	21.2	37.7	Exp. 1
04. Sep	25.0	36.7		16. Okt	21.2	37.9	Exp. 1
05. Sep	25.7	36.7		17. Okt	20.4	37.7	Exp. 1
06. Sep	26.2	36.6		18. Okt	19.7	35.5	Exp. 1
07. Sep	25.5	36.4		19. Okt	20.0	35.5	Exp. 1
08. Sep	25.7	36.1		20. Okt	20.2	35.4	Exp. 1
09. Sep	26.1	36.0		21. Okt	20.3	36.2	
10. Sep	25.4	36.0		22. Okt	21.2	37.0	
11. Sep	25.4	36.0		23. Okt	21.3	35.6	
12. Sep	24.4	36.0		24. Okt	21.3	35.6	
13. Sep	23.4	36.2		25. Okt	20.7	35.2	
14. Sep	21.5	36.2		26. Okt	19.1	34.6	
15. Sep	20.5	36.3		27. Okt	19.2	34.9	
16. Sep	20.1	36.4		28. Okt	19.0	34.9	
17. Sep	20.5	36.4		29. Okt	19.9	35.2	
18. Sep	21.1	36.4		30. Okt	19.7	35.5	
19. Sep	21.8	36.4		31. Okt	20.3	35.6	
20. Sep	22.8	36.4		01. Nov	20.3	35.6	
21. Sep	23.1	36.4		02. Nov	21.6	35.1	
22. Sep	21.1	35.8		03. Nov	20.8	34.0	
23. Sep	21.8	35.6		04. Nov	21.0	34.3	
24. Sep	21.8	35.6		05. Nov	21.1	36.2	
25. Sep	21.3	35.6	Exp. 1	06. Nov	19.6	32.3	Exp. 2
26. Sep	22.1	35.8	Exp. 1	07. Nov	19.5	31.3	Exp. 2
27. Sep	22.5	35.6	Exp. 1	08. Nov	19.1	31.8	Exp. 2
28. Sep	21.8	35.7	Exp. 1	09. Nov	19.6	32.7	Exp. 2
29. Sep	21.8	35.8	Exp. 1	10. Nov	18.8	33.1	Exp. 2
30. Sep	22.0	35.9	Exp. 1	11. Nov	17.2	33.2	Exp. 2
01. Okt	22.8	35.8	Exp. 1	12. Nov	16.7	33.5	Exp. 2
02. Okt	22.6	35.9	Exp. 1	13. Nov	16.5	33.7	Exp. 2
03. Okt	22.6	35.8	Exp. 1	14. Nov	16.5	34.1	Exp. 2
04. Okt	20.5	35.9	Exp. 1	15. Nov	17.3	34.3	Exp. 2
05. Okt	19.7	35.9	Exp. 1	16. Nov	18.0	33.0	Exp. 2
06. Okt	19.9	40.2	Exp. 1	17. Nov	16.4	33.1	Exp. 2
07. Okt	20.3	36.2	Exp. 1	18. Nov	16.7	33.8	Exp. 2
08. Okt	20.8	36.2	Exp. 1	19. Nov	16.9	34.0	Exp. 2
09. Okt	20.1	37.6	Exp. 1	20. Nov	17.2	34.2	Exp. 2
10. Okt	20.8	37.4	Exp. 1	21. Nov	17.4	34.5	Exp. 2
11. Okt	20.8	37.5	Exp. 1	22. Nov	17.4	34.8	Exp. 2
12. Okt	20.2	37.6	Exp. 1	23. Nov	17.7	35.0	Exp. 2



Tabelle 6: Analyse der stabilen Isotope und des Verhältnis C:N der verwendeten Sepien

Experiment 1								
Probe	FUTTER	BECKEN	Identifikation	d 15N/14N [‰]	d 13C/12C [‰]	molar C/N ratio	Δ N [‰]	Δ C [‰]
Sepia(Start)			Jung 11	6.014	-10.978	4.56		
			Jung 13	5.994	-12.031	4.43		
			Jung 19	6.044	-11.518	4.74		
			Jung 21	6.857	-11.104	5.00		
			Jung 23	6.675	-11.881	4.81		
			Jung 3	5.543	-11.813	4.56		
			Jung 4	6.213	-11.584	4.52		
		Jung 6	6.236	-11.165	4.20			
Sepia(Mys)	Mysis		Alt 1	3.754	-13.067	4.53	1.0555	-0.134
			Alt 2	4.942	-11.803	4.01	2.2435	1.13
			Alt 4	5.124	-12.500	4.21	2.4255	0.433
			Alt 5	4.222	-11.921	4.03	1.5235	1.012
			Alt 6	3.589	-12.701	4.48	0.8905	0.232
			Alt 7	5.056	-11.950	3.97	2.3575	0.983
			Alt 8	4.898	-12.328	4.12	2.1995	0.605
			Alt 9	5.147	-11.940	3.99	2.4485	0.993
			Alt10	4.585	-13.01	4.30	1.8865	-0.077
Experiment 2								
Probe	FUTTER	BECKEN	Identifikation	d 15N/14N [‰]	d 13C/12C [‰]	molar C/N ratio	Δ N [‰]	Δ C [‰]
Sepia(Start)	Garnele		Start 1	4.676	-11.340	3.99		
			Start 2	5.450	-11.581	4.19		
			Start 3	4.443	-11.523	4.05		
			Start 4	5.158	-12.807	4.53		
Sepia(Pal)	Garnele	T   15	T   15-1	5.571	-11.138	3.95	2.254	0.107
		T   15	T   15-10	5.524	-11.038	3.78	2.207	0.207
		T   15	T   15-11	5.598	-10.858	3.81	2.281	0.387
		T   15	T   15-2	5.848	-10.973	4.05	2.531	0.272
		T   15	T   15-3	5.112	-11.014	4.03	1.795	0.231
		T   15	T   15-4	5.232	-10.996	3.88	1.915	0.249
		T   15	T   15-5	5.730	-11.521	4.38	2.413	-0.276
		T   15	T   15-6	5.286	-11.673	4.35	1.969	-0.428
		T   15	T   15-7	4.791	-10.773	3.98	1.474	0.472
		T   15	T   15-8	5.192	-11.809	4.01	1.875	-0.564
		T   15	T   15-9	5.683	-11.064	3.85	2.366	0.181
		T12	T12-1	5.522	-11.355	3.92	2.205	-0.110
		T12	T12-10	5.053	-11.035	4.17	1.736	0.210
		T12	T12-11	5.155	-11.671	4.11	1.838	-0.426
		T12	T12-12	5.705	-11.159	3.90	2.388	0.086
		T12	T12-2	5.478	-10.464	3.90	2.161	0.781
		T12	T12-3	6.055	-11.902	4.23	2.738	-0.657
		T12	T12-4	5.011	-10.986	3.94	1.694	0.259
		T12	T12-5	5.075	-11.441	4.07	1.758	-0.196
		T12	T12-6	5.837	-11.658	3.99	2.520	-0.413
		T12	T12-7	5.791	-11.639	4.12	2.474	-0.394
		T12	T12-8	4.944	-10.997	4.09	1.627	0.248
		T12	T12-9	5.835	-10.770	3.94	2.518	0.475
		T15	T15-1	5.257	-10.886	4.00	1.940	0.359
		T15	T15-10	4.926	-11.197	4.15	1.609	0.048
		T15	T15-11	4.817	-11.161	3.92	1.500	0.084
		T15	T15-12	4.732	-11.224	3.90	1.415	0.021
T15	T15-2	7.857	-10.826	4.17	4.540	0.419		
T15	T15-3	5.030	-11.565	4.08	1.713	-0.320		
T15	T15-4	5.896	-10.049	4.09	2.579	1.196		
T15	T15-5	5.158	-10.477	3.94	1.841	0.768		
T15	T15-6	4.268	-14.067	3.94	0.951	-2.822		
T15	T15-7	5.841	-11.192	4.53	2.524	0.053		
T15	T15-8	5.628	-11.060	4.07	2.311	0.185		
T15	T15-9	5.616	-10.752	4.03	2.299	0.493		

Experiment 2								
Probe	FUTTER	BECKEN	Identifikation	d 15N/14N [‰]	d 13C/12C [‰]	molar C/N ratio	Δ N [‰]	Δ C [‰]
Sepia(Fisch)	Fisch	T16	T16-1	7.025	-11.889	3.92	-2.174	2.397
		T16	T16-2	5.901	-12.332	4.01	-3.298	1.954
		T16	T16-3	6.887	-12.187	3.92	-2.312	2.099
		T16	T16-4	5.647	-11.863	3.94	-3.552	2.423
		T16	T16-5	6.468	-13.005	3.92	-2.731	1.281
		T16	T16-6	5.047	-12.849	3.91	-4.152	1.437
		T16	T16-7	5.695	-12.366	3.89	-3.504	1.920
		T16	T16-8	4.343	-12.619	4.34	-4.856	1.667
		T16	T16-9	6.108	-12.285	3.88	-3.091	2.001
		T17	T17-1	7.010	-11.661	3.70	-2.189	2.625
		T17	T17-10	7.407	-11.972	3.87	-1.792	2.314
		T17	T17-11	5.909	-11.739	3.91	-3.290	2.547
		T17	T17-2	6.203	-11.819	3.85	-2.996	2.467
		T17	T17-3	6.954	-11.914	3.66	-2.245	2.372
		T17	T17-4	6.166	-12.774	3.99	-3.033	1.512
		T17	T17-5	6.988	-12.019	3.89	-2.211	2.267
		T17	T17-6	6.206	-11.407	3.63	-2.993	2.879
T17	T17-8	6.277	-12.336	4.00	-2.922	1.950		
T17	T17-9	6.196	-11.807	3.82	-3.003	2.479		
Sepia(Hunger)	T I 12	11 Hunger		4.002	-11.926	4.03		
		12 Hunger		4.941	-11.338	4.08		
Sepia(Wild)		Wild 1		9.329	-19.135	4.54		
		Wild 10		10.263	-18.374	3.99		
		Wild 2		10.072	-20.156	4.30		
		Wild 3		12.917	-15.377	3.74		
		Wild 4		9.060	-19.754	4.34		
		Wild 5		10.984	-16.863	3.71		
		Wild 6		10.610	-18.164	4.14		
		Wild 7		9.431	-18.262	3.21		
		Wild 8		10.546	-18.327	3.69		
Wild 9		9.671	-18.314	3.73				

**Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt und keine anderen als die gegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Mit der Einstellung dieser Arbeit in die Fachbibliothek des Biologiezentrums bzw. des Leibniz-Institutes für Meereskunde sowie der Universitätsbibliothek der CAU bin ich einverstanden.

Nicole Hielscher

Kiel, den