

ZÜRCHER HOCHSCHULE FÜR ANGEWANDTE WISSENSCHAFTEN
DEPARTEMENT LIFE SCIENCES UND FACILITY MANAGEMENT
INSTITUT FÜR UMWELT UND NATÜRLICHE RESSOURCEN

Algenhaltiges Fischfutter – Kultivierung von Mikroalgen und Fütterungsversuche mit
juvenilen Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Master Thesis

von

Sophia Egloff

Masterstudiengang 2014

Abgabedatum 01.09.2017

Vertiefung Natural Resource Sciences

Fachkorrektoren:

Dr. Refardt, Dominik

ZHAW, Grüental, Wädenswil

Dr. Pietsch-Schmied, Constanze

ZHAW, Grüental, Wädenswil

Abstract

Fish production in aquaculture is a growing market. The main part of fish meal, which makes up approximately 30-40 % of fish feeds are still covered by unsustainable marine sources. Important component in fish meal and oil, are polyunsaturated fatty acids (PUFAs) which are difficult to substitute. Docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA) and arachidonic acid (ARA) are the most important PUFAs for fish. Microalgae, which are also providers of PUFAs in the natural food chain, seem to be a good opportunity to substitute fish meal and fish oil in fish feed. A time and cost consuming part in aquaculture is the rearing of fish larvae because mortality is high and feeding is extensive as mostly live prey is being used. This project aims at developing microalgae-containing feed for fish larvae, which shall replace the live prey. To test the feed, a well-known and easy-to-rear fish species had to be chosen. Tilapia with its high growth rate and tolerance against high water temperatures and lower water quality is an optimal candidate for this. It lends itself to be used for feeding trials because it is omnivorous character.

Suitable algae strains were selected based on their known content of PUFAs (DHA, EPA and ARA). After cultivation in the lab, the three algae *Nannochloropsis gaditana*, *Porphyridium sordidum* and *Isochrysis galbana* were selected for production. Production was done in plastic bags. As *I. galbana* did not sufficiently grow, it was bought. After harvesting, the method of freeze drying was applied in order to obtain the algae powder. With a feed formulator, three different feeds of the same gross quality were designed. One diet without algae (control) and two feeds with two algae each (Porph/Nanno: 2 % of *P. sordidum* and 2 % of *N. gaditana*, and Iso/Nanno: 2 % of *Isochrysis* sp. and 2 % of *N. gaditana*, respectively). The feed was pelleted with a spaghetti extruder. Three pellet sizes were produced. Afterwards, a feeding trial lasted nine weeks and was conducted using tilapia larvae with an initial weight of 0.26 g. Once after six weeks and once at the end of the experiment, all fish were weighed. Some of the fish were taken for further analyses such as measuring length, sampling of liver and spleen or for determinations of nutrient contents.

With 8.5 mg/L per day *N. gaditana* showed a better growth than *P. sordidum* (5.9 mg/L per day), and 330 g of *N. gaditana* and 205 g of *P. sordidum* were obtained. The content of EPA in *N. gaditana* was 2.6 % of dry biomass, the content of ARA in *P. sordidum* was below detection limit. *Isochrysis* sp. had a DHA content of 0.9 % of the dry biomass. By adding the algae in the Porph/Nanno feed 4.8 % fish meal and 3.6 % fish oil could be reduced, whereas in the Iso/Nanno feed it was 4.0 % fish meal and 4.9 % fish oil. Fish that feed on algae feed showed a significant better growth than those in the control group. This could be seen in final weights, standard lengths and higher growth rates. The food conversion ratio (FCR) was lower in fish, which were fed on algae feeds. No influence of algae feed was shown in the corpulence factor, hepatosomatic index or colour of the filets, whereas fish with algae diet had higher spleenosomatic indices. Fish receiving algae feed contained higher lipids in the entire body than fish in the control group.

It could be shown that all three algae are suitable as feed additive. Further investigations could be done to achieve higher growth rates and foster PUFA production in algae. Four percent of algae in the fish feed had a positive effect on growth performance of the fish. The results of the feeding trial are promising with respect to the substitution of higher amounts of fish meal and fish oil in fish feeds.

Zusammenfassung

Die Produktion von Fischen in Aquakulturen steigt. Der Hauptanteil des Fischmehls, welches ungefähr 30-40 % des Fischfutters ausmacht, wird durch marine Ressourcen abgedeckt, was nicht nachhaltig ist. Ein wichtiger Inhaltsstoff in Fischmehl und Fischöl sind mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFAs), welche schwierig zu ersetzen sind. Docosahexaensäure (DHA), Eicosapentaensäure (EPA) und Arachidonsäure (ARA) sind für die Fische die wichtigsten PUFAs. Mikroalgen, welche auch in der natürlichen Nahrungskette die Produzenten für PUFAs sind, scheinen eine gute Möglichkeit zu sein um Fischmehl und Fischöl zu ersetzen. Ein zeitaufwändiger und kostspieliger Teil der Aquakultur ist die Aufzucht von Fischlarven. Einerseits ist die Mortalität hoch und andererseits ist die Fütterung aufwändig, da meist Lebendfutter verwendet wird. In dieser Masterarbeit soll ein Mikroalgenhaltiges Fischfutter für Fischlarven entwickelt werden, welches das Lebendfutter ersetzen soll. Um ein solches Futter zu testen, sollte eine bekannte und einfach zu haltende Fischart gewählt werden. Tilapien mit ihrer hohen Wachstumsrate und ihrer grossen Toleranz gegenüber hohen Wassertemperaturen und tiefer Wasserqualität bieten sich als Testorganismus an. Ein weiterer Vorteil ist, dass Tilapien omnivor ernährt werden können.

Geeignete Algen wurden aufgrund ihres Gehalts an PUFAs (DHA, EPA und ARA) ausgewählt. Nach der Kultivierung im Labor wurden die drei Algen *Nannochloropsis gaditana*, *Porphyridium sordidum* und *Isochrysis galbana* für die Produktion ausgewählt. Die Algen wurden in Hängeschläuchen produziert. Weil *I. galbana* nicht genügend wuchs, wurde diese Alge gekauft. Nach der Ernte wurden die Algen gefriertrocknet und zu Algenpulver verarbeitet. Mit einem Futterrechner wurden drei verschiedene Futter mit gleichen Anteilen an Hauptnährstoffen formuliert: Ein Futter ohne Algen (Kontrolle) und zwei Futter mit je zwei Algen (Porph/Nanno: 2 % *P. sordidum* und 2 % *N. gaditana*; Iso/Nanno: 2 % *Isochrysis* sp. und 2 % *N. gaditana*). Das Futter wurde mit einem Spaghetti-Extruder pelletiert. Es wurden drei Pellet-Grössen hergestellt. Es wurde ein neunwöchiges Fütterungsexperiment mit Tilapia-Larven mit einem Startgewicht von 0.26 g durchgeführt. Nach sechs Wochen und am Ende des Experiments wurden alle Fische gewogen. Wenige Fische wurden für weitere Analysen wie Längenmessung, Entnahme von Leber und Milz oder für Nährstoffanalysen verwendet.

Mit 8.5 mg/L pro Tag wuchs *N. gaditana* besser als *P. sordidum* (5.9 mg/L pro Tag). Von *N. gaditana* konnten 330 g Biomasse und von *P. sordidum* 205 g produziert werden. Der Gehalt an EPA war bei *N. gaditana* bei 2.6 % der TS, bei *P. sordidum* war der Gehalt an ARA unter der Nachweisgrenze. *Isochrysis* sp. hatte einen DHA-Gehalt von 0.9 % TS. Mit der Zugabe der Algen zum Porph/Nanno Futter konnte das Fischmehl um 4.8 % und das Fischöl um 3.6 % reduziert werden. Beim Iso/Nanno Futter waren es 4.0 % Fischmehl und 4.9 % Fischöl, die ersetzt werden konnten. Die Fische, welche mit den Algenfuttern gefüttert wurden, zeigten ein signifikant besseres Wachstum als die Fische in der Kontrolle. Dies zeigte sich in den Endgewichten, den Standardlängen, den höheren Wachstumsraten und den tieferen Food Conversion Ratios. Keinen Einfluss hatten die Algenfutter auf den Korpulenz-Faktor, den hepatosomatischen Index und die Filetfarbe, sowie auf die Anzahl Fische, die gestorben sind. Der spleenosomatische Index war bei den Fischen, welche das Algenfutter frassen, erhöht. Zudem hatten die Fische mit dem Algenfutter einen höheren Körper-Lipidgehalt als die Fische in der Kontrolle.

Es konnte gezeigt werden, dass sich alle drei Algen als Futterzusatz eignen. Weiterführend könnte versucht werden, das Wachstum der Algen sowie die PUFA Produktion durch Optimierung des Reaktors und den Kulturbedingungen zu erhöhen. Die 4 % Algen im Fischfutter hatten einen positiven Effekt auf das Wachstum der Fische. Die Resultate des Fütterungsversuchs sind vielversprechend, dass höhere Anteile von Fischmehl und -öl im Fischfutter ersetzt werden könnten.

Danksagung

Ich möchte mich bei Constanze Pietsch für ihre enorme Unterstützung bei der Rezeptur und Herstellung des Fischfutters, sowie bei der Planung und Durchführung des Fütterungsexperiments sehr herzlich bedanken. Ebenso für die Analyse meiner Fische, die sie gemacht hat, damit wir diese Resultate auch noch haben, als das Budget ausgegangen ist.

Bei Dominik Refardt möchte ich mich für die tolle und lehrreiche Unterstützung beim Ausarbeiten der Thesis bedanken und dafür, dass er sich immer Zeit genommen hat, wenn ich mit R-Problemen zu ihm kam.

Einen grossen Dank geht an die gesamte Forschungsgruppe, vor allem an Mathias Sigrist, Linda Tschirren, Zala Schmutz und Fridolin Tschudi welche beim Fütterungsexperiment mit ihrer Erfahrung eine grosse Unterstützung waren und grosse Teile der Technik übernommen haben.

Beim Inhaber der Firma Egloff Gartenbau möchte ich mich für die grosse Unterstützung beim Bau des Plastiksack-Bioreaktors und den Netzkörben bedanken.

Bei Ansgar Schlüter, Stefan Klettenhammer und Christian Zimmerman möchte ich mich für die Einführung und Mitbenützung des Gefriertrockners bedanken.

Und nicht zuletzt ein riesen grosser Dank an Andreas Seitz, welcher seine Semester und Bachelorarbeit auf meinem Thema gemacht hat und mir grosse Teile der praktischen und theoretischen Arbeit abgenommen hat. Ebenfalls herzlichen Dank an Timon Huonder, Judith Germann und Tim Ortner welche ebenfalls mit einer Semesterarbeit zu meinem Thema beigetragen haben.

Inhalt

1	Einleitung.....	7
2	Material und Methoden.....	9
2.1	Auswahl und Kultivierung der Algen im Labor	9
2.2	Algenproduktion im Plastiksack-Bioreaktor	10
2.3	Ernte und weitere Verarbeitung der Algen	11
2.4	Analyse der Algen	13
2.5	Ökotoxikologische Tests	13
2.6	Herstellung des Fischfutters.....	13
2.6.1	Rezeptur	13
2.6.2	Futterherstellung.....	14
2.7	Fütterungsexperiment.....	15
2.7.1	Bezug und Eingewöhnung der Fische	15
2.7.2	Haltung während des Experiments	15
2.7.3	Tägliche und wöchentliche Kontrollen	16
2.7.4	Fütterungsregime	16
2.7.5	Aufnahme und Berechnung der Parameter und Indizes	17
2.8	Auswertung und Statistik	19
3	Resultate	20
3.1	Algenproduktion.....	20
3.2	Inhaltsstoffe der Algen	20
3.3	Fischfutter.....	21
3.4	Fütterungsexperiment.....	22
3.4.1	Wachstum und Futtermittelverwertung.....	22
3.4.2	Physiologische Indizes	26
3.4.3	Filetfarbe und Inhaltsstoffe der Fische	27
3.4.4	Physikalische und chemische Wasserparameter.....	28
4	Diskussion.....	31
5	Literatur.....	35

1 Einleitung

Die Aquakultur ist das am schnellsten wachsende landwirtschaftliche Segment. Laut Hochrechnungen werden 2030 mehr als die Hälfte aller verkauften Fische aus der Aquakultur stammen (Jackson, 2013; Tacon und Metian, 2008). Die Aquakultur ist jedoch nicht unabhängig von der Fischerei, da die Aquakulturfische meist mit Wildfischen gefüttert werden (Jackson, 2012). Die Erträge der Fischerei gehen aber aufgrund von Übernutzung immer weiter zurück. Die Nachfrage nach einem nachhaltigen Ersatz für Fischmehl und Fischöl steigt bei Produzenten sowie bei Konsumenten. Die Versuche, den Hauptanteil des Fischmehls und -öls durch Landpflanzen (Getreide, Ölsaaten) zu ersetzen sind nicht vollständig zufriedenstellend, da diese meist eine andere Nährstoffzusammensetzung haben und darum den Bedarf der Fische nur teilweise abdecken können (Woher, 2010).

Die Voraussetzung für einen gesunden, starken Fischbestand in der Aquakultur ist die erfolgreiche Produktion und Aufzucht von Fischlarven. Um Verluste zu reduzieren, werden viele Fischlarven mit Lebendfutter gefüttert, was jedoch aufwändig ist (People Le Ruyet et al., 1993) und eine Umstellungsphase auf konventionelles Fischfutter zur Folge hat, in welcher es ebenfalls Verluste geben kann (Rosenlund et al., 1997). Durch das Anbieten von beiden Futtermitteln (Lebendfutter und konventionelles Futter) kann diese Umstellungsphase verkürzt werden und das Wachstum und Überleben der Fischlarven gesteigert werden (Holt, 1993; Walford et al., 1991). Die Entwicklung eines nachhaltigen Fischfutters, welches die Bedürfnisse von Fischlarven abdecken kann und somit das Lebendfutter schon beim ersten Füttern möglichst ganz ersetzen kann, ist darum von grossem Interesse.

Einer der wichtigsten und am schwierigsten zu ersetzenden Inhaltsstoffe in Fischmehl und Fischöl sind die mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA), welche für eine normale Entwicklung und ein gutes Wachstum der Fische von grosser Bedeutung sind (Sargent et al., 1999). Dabei sind die Docosahexaensäure (DHA), die Eicosapentaensäure (EPA) und die Arachidonsäure (ARA) essentiell, welche für Aufrechterhaltung und Funktion von Zellmembranen verantwortlich sind (Sargent et al., 1997). Mikroalgen haben grosses Potential für die Verwendung als Bestandteil von Fischfutter, da sie unter anderem diese Fettsäuren produzieren. Algen gehören in die natürliche Nahrungskette und sind in der Natur die Produzenten von PUFAs.

Ein hoher Gehalt an DHA, EPA und ARA kann nicht in einer einzigen Mikroalgenart gefunden werden. Mikroalgen, die einen hohen Gehalt an DHA produzieren, wie beispielsweise *Isochrysis* sp., werden bereits verwendet, um die Qualität des Lebendfutters zu erhöhen (Tzovenis et al., 1997). Mikroalgen mit hohem DHA-Gehalt können in mehreren taxonomischen Gruppen gefunden werden (Lang et al., 2011). Das Gleiche gilt für die PUFAs EPA und ARA. Es kommen also mehrere Gruppen infrage, die Arten mit hohen Gehalten an PUFAs beinhalten (Lang et al., 2011).

Verschiedene Mikro- und Makroalgen wurden schon erfolgreich als Fischfutter für Larven eingesetzt (Hasan und Chakrabarti, 2009). *Chlorella* und *Scenedesmus* (Badwy et al., 2008), *Spirulina* (Olvera-Novoa et al., 1998), *Ulva* (Ergün et al., 2009) und *Spirodela* (Fasakin et al., 1999) wurden schon bei Tilapia gefüttert. *Undaria*, *Ascophyllum*, *Porphyra*, *Spirulina*, *Gracilaria* und *Ulva* wurden schon bei Meerbrassen (*Pagrus major*) angewendet (Mustafa und Nakagawa, 1995; Valente et al., 2006; Yone et al., 1986). Zudem wurde *Ulva* auch an Äschen (*Mugil cephalus*) und *Ulva* oder *Pterocladia* an Goldbrassen (*Sparus aurata*) verfüttert (Wassef et al., 2001, 2005). *Porphyra* und eine Kombination aus *Nannochloropsis* und *Isochrysis* wurden beim Kabeljau (*Gadus morhua*) verwendet (Walker und Berlinsky, 2011; Walker et al., 2009).

Um herauszufinden, ob eine Alge als Fischmehl- oder Fischölersatz geeignet ist, sollte eine gut bekannte Fischart, bei welcher die Bedürfnisse aller Altersklassen geklärt sind, als Testorganismus gewählt werden. Ein optimaler Kandidat ist der Buntbarsch Tilapia, zu dem unter anderem die Gattung *Oreochromis* sp. gehört. Eine Art dieser Gattung, die Niltilapia (*Oreochromis niloticus*) ist eine der meist gezüchteten Arten der Welt. Wegen ihrer hohen Wachstumsrate, ihrer guten Resistenz gegen Stress und Krankheiten, sowie ihrer grossen Toleranz gegenüber hohen Wassertemperaturen und tiefer Wasserqualität sind Niltilapien einfach zu halten.

Weitere Vorteile bestehen darin, dass sie omnivor ernährt werden können und dass Tilapialarven schon ohne Zugabe von Lebendfutter mit konventionellem Futter aufgezogen werden konnten (Santiago et al., 1985, 1987).

Das Hauptziel dieser Masterarbeit ist die Formulierung eines Mikroalgenhaltigen Futtermittels, das in einer Fütterungsstudie mit Tilapialarven geprüft werden soll.

Zuerst werden Mikroalgen, welche in der Literatur einen hohen Gehalt an einer der drei PUFAs DHA, EPA oder ARA aufweisen, ausgewählt. Diese ausgewählten Algen werden auf ihre Kultivierbarkeit und das Wachstum im Labor getestet. Ökotoxikologische Tests sollen Aufschluss über eine mögliche Giftigkeit der ausgewählten Algen für die Fische geben. Die vielversprechendsten Algen werden in grösseren Reaktoren nochmals auf ihre Kultivierbarkeit geprüft und die am besten geeigneten Algen für die Produktion ausgewählt. Offene Fragen wie der Reaktortyp, die Ernte- und Trocknungsmethoden sollen hier geklärt werden.

Anhand eines Futterrechners soll ein auf Tilapialarven zugeschnittenes Futter formuliert werden. Es wird einerseits ein Kontrollfutter sowie zwei Futter mit verschiedenen Algen formuliert und hergestellt. Die Algen sollen einen Teil des Fischmehls und -öls im Futter ersetzen, ohne dass sich die Hauptnährstoffe Protein, Fett und Kohlenhydrate vom Kontrollfutter unterscheiden. Des Weiteren muss eine geeignete Methode zur Herstellung des Futters gefunden werden.

Anhand der Fütterungsstudie soll die Eignung der Futter für Tilapialarven überprüft werden. Dabei ist das Wachstum, ebenso wie die Gesundheit der Fische relevant um mögliche positive oder negative Effekte der ausgewählten Algen aufzeigen zu können.

2 Material und Methoden

2.1 Auswahl und Kultivierung der Algen im Labor

Sechs Mikroalgen wurden zur Kultivierung im Labor ausgesucht. Kriterien bei der Auswahl waren ein möglichst hoher Gehalt an mindestens einer der drei gewünschten mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs): Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) und Arachidonsäure (ARA), sowie die Verfügbarkeit der Alge bei der Stammsammlung von Algenkulturen Göttingen (SAG), da jede Stammsammlung ihr eigenes System der Nummerierung hat und sich die verwendete Literatur auf die Sammlung der SAG bezog (Lang et al., 2011b). Zudem sollte die Alge möglichst einfach zu kultivieren (möglichst Einzeller und Kulturmedium möglichst ohne Bodenextrakte) und nicht giftig für Fische sein. So wurden für jede der drei PUFAs EPA, DHA und ARA je zwei Algen ausgewählt, bei der SAG bestellt und im Labor während zwei bis drei Monaten kultiviert (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die bestellten Algen, deren potentiell hoher Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFAs) Eicosapentaensäure (EPA), Docosahexaensäure (DHA) bzw. Arachidonsäure (ARA) laut Literatur (Lang et al., 2011b) und die angewendeten Medien für die Kultivierung.

Hoher PUFA Gehalt an ...	Klasse	Gattung	Artname	SAG No.	Medium
EPA	<i>Rhodophyceae</i>	<i>Dixoniella</i>	<i>grisea</i>	39.94	F/2 Brackwasser
EPA	<i>Eustigmatophyceae</i>	<i>Nannochloropsis</i>	<i>gadicana</i>	2.99	F/2 Salzwasser
ARA	<i>Rhodophyceae</i>	<i>Rhodella</i>	<i>violacea</i>	115.79	F/2 Brackwasser
ARA	<i>Rhodophyceae</i>	<i>Porphyridium</i>	<i>sordidum</i>	114.79	F/2 Brackwasser
DHA	<i>Haptophyceae</i>	<i>Isochrysis</i>	<i>galbana</i>	13.29	F/2, L1 Salzwasser
DHA	<i>Haptophyceae</i>	<i>Diacronema</i>	<i>lutheri</i>	926-1	F/2 Brackwasser

Die Algen wurden zu Beginn in Erlenmeyerkolben (100 ml) kultiviert. *Dixoniella grisea*, *Nannochloropsis gadicana*, *Rhodella violacea* und *Porphyridium sordidum* wurden in einem Schüttelinkubator (Multitron Pro Infors, Schweiz) bei 24.5° C, 115 rpm, 5 % CO₂ und konstanter Beleuchtung inkubiert. Die Lichtintensität betrug 240 µmol m⁻² s⁻¹ (ungefähr 10 kLux). *Isochrysis galbana* und *Diacronema lutheri* wuchsen besser, wenn sie nicht geschüttelt wurden. Diese wurden in einem Raum bei 21 °C, ohne CO₂ und einer Beleuchtung während 16 h pro Tag (Beleuchtungsstärke ungefähr 6 kLux) kultiviert.

Für alle Arten, ausser *I. galbana*, welche in L1 Medium am besten wuchs, wurde F/2 Medium verwendet (Anhang A). Der pH wurde für alle Medien zwischen 7.8 und 8 eingestellt. Für die Brackwasser-Algen wurde die Salzkonzentration des F/2 Mediums halbiert. Die Medien wurden nicht autoklaviert.

Die Algen, welche gut wuchsen, wurden in grösseren Erlenmeyerkolben (1000 ml) vermehrt, bis mindestens 5 L der Kultur vorhanden waren. Da beide Algen, welche potentiell hohe Gehalte an DHA beinhalten (*I. galbana* und *D. lutheri*), ein zu geringes Wachstum aufwiesen, um in der zur Verfügung stehenden Zeit genug Biomasse zu produzieren, musste eine dieser Algen zugekauft werden. Es wurde entschieden, dass für den Fütterungsversuch mit Fischen *Isochrysis* sp. verwendet werden soll, da diese laut verwendeter Literatur tendenziell höhere Gehalte an DHA aufwies als *D. lutheri*. Von der Firma Varicon Aqua Solutions Ltd in England konnte die Alge als Paste (9 % TS) zugekauft werden.

2.2 Algenproduktion im Plastiksack-Bioreaktor

Die Produktion erfolgte in Hängeschläuchen aus Polyethylen (0.5 m Breite, 200 µm Dicke, Inno-Pack GmbH, Schweiz). Diese Endlosschläuche wurden auf eine Länge von 5.8 m zugeschnitten und in der Mitte gefaltet. Um die Säcke aufzuhängen, wurde eine Klemmtechnik verwendet. Es konnten vier Säcke gleichzeitig in ein Paletten-Gestell gehängt werden, von denen jeder ein Volumen von 100 bis 150 L fasste. Eine Luftpumpe (AL-80, Alita) sorgte gleichzeitig für die Belüftung und Umwälzung der Algen in den Plastiksäcken. Detailliertere Informationen und eine Bauanleitung befinden sich im Anhang B.

In den Hängeschläuchen wurden *N. gaditana*, *D. grisea*, *P. sordidum* und *R. violacea* kultiviert. Da *R. violacea* in den Hängeschläuchen nicht wuchs, wurde *P. sordidum* produziert, um die ARA-Fettsäuren abzudecken.

Um die Algen in einem Volumen von 100-150 L zu produzieren, wurde eine möglichst dichte Starterkultur von 10-15 L vorbereitet. Dafür wurden Glasflaschen (25 L) verwendet. Die Raumtemperatur lag bei $25 \pm 2^\circ \text{C}$. Beleuchtet wurde der Raum während 23 h pro Tag mit vier Natriumdampflampen (Plantastar, 400 W, Osram). Die Produktion aller Algen fand im selben Raum unter den gleichen Bedingungen statt. Die Algen im Freien zu kultivieren war nicht möglich, da die Temperatur in den Säcken aufgrund der jahreszeitlich intensiven Sonneneinstrahlung und der hohen Lufttemperaturen zu hoch geworden wäre.

Alle Algen wurden mit F/2 Medium gedüngt. Um das Wachstum zu verfolgen, wurde jeden zweiten Tag eine Probe aus dem Hängeschlauch abgesogen und die optische Dichte (OD) von 750 nm am Photometer (Infinite M-200, Tecan, Schweiz) gemessen. Ebenso wurde die Trockenmasse (TS) mit einem Moisture Analyzer (HB43-S Halogen, Mettler Toledo, Schweiz) bestimmt, um festzustellen, ob nachgedüngt werden musste.

Die mittlere Zunahme der OD pro Tag wurde wie folgt ausgerechnet:

$$\text{mittlere Zunahme OD pro Tag} = (OD_{\text{Anfang}} - OD_{\text{Max}}) / \text{Anzahl Tage}$$

Für das Befüllen und Entleeren der Säcke wurde eine Seitenkanal-Pumpe (Tellarini EEM20, Italien) verwendet. Ungefähr nach einem Monat mussten die Algen jeweils in einen neuen Sack umgepumpt werden, da sich an den am wenigsten bewegten Stellen Algen ablagerten und einen Biofilm bildeten welcher den Sack an diesen Stellen weniger transparent machte.

Um einen neuen Sack zu beimpfen, wurde das zentrifugierte Wasser, das noch ungefähr 0.1 g/L Algen beinhaltete, verwendet. Dieses Vorgehen hatte den Vorteil, dass nicht jedes Mal eine neue Starterkultur heraufgezogen werden musste und die Algen, die nicht herauszentrifugiert wurden, nicht verloren gingen.

Während der Produktion traten zwei Kontaminationen auf. Einerseits wuchsen Fadenalgen in der Kultur von *N. gaditana* (Abbildung 1). Diese konnten jedoch durch Absieben durch ein Netz (ungefähr 40 µm) stark reduziert werden (Abbildung 2). Andererseits gab es eine Kontamination in den Säcken von *P. sordidum*. Diese Kontamination konnte nicht abgeschwächt oder rückgängig gemacht werden. Da es sich jedoch mit grosser Wahrscheinlichkeit um *Nannochloropsis gaditana* aus der Parallelkultur handelte (Kontamination vermutlich durch die Verwendung von nur einer Seitenkanal-Pumpe), war diese Kontamination für die Weiterverwendung der Algen nicht entscheidend von Nachteil. Der Unterschied in den Zellgrößen erschwerte eine gute Quantifizierbarkeit. Aus diesem Grund wurde nur die Zunahme von *Nannochloropsis* sp. in den Proben per Zählung verfolgt (Anhang C), nicht aber das Wachstum von *P. sordidum*.

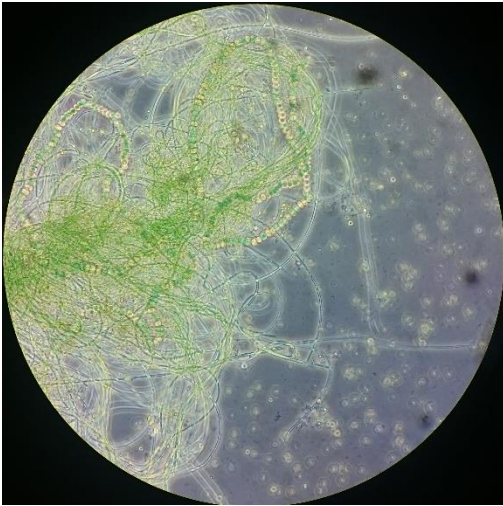


Abbildung 1: Kultur von *N. gaditana* unter dem Mikroskop mit einer Kontamination von Fadenalgen.

Abbildung 2: Absieben der Fadenalgen vor der Ernte von *N. gaditana*.

2.3 Ernte und weitere Verarbeitung der Algen

Durch Zentrifugation konnte die Algensuspension entwässert werden. Bei *D. grisea* und *P. sordidum* wurde festgestellt, dass das Medium nach längerer Kultivierung dickflüssig wurde und so das Zentrifugieren verunmöglicht (*D. grisea*), resp. massiv erschwert (*P. sordidum*) wurde. Deshalb wurde für die Produktion der EPA-Fettsäuren *N. gaditana* und nicht *D. grisea* gewählt.

Da ein Volumen von 100-150 L zu gross war, um es mit einer Laborzentrifuge zu entwässern und die Trockenmasse für eine Industriezentrifuge zu gering war, wurde mit einer Milchzentrifuge (Milky FJ 125 EAP) mit einem Volumen von 12 L gearbeitet (Bischof, 2012). Weil Milchzentrifugen ursprünglich zur Trennung von Rahm und Milch bestimmt sind, traten bei der Zentrifugation der Algen Probleme auf, sodass die Milchzentrifuge von Zeit zu Zeit gestoppt werden musste. Die Algen klebten in der Trommel fest und mussten mit einem Teigschaber entfernt werden. Das Zeitintervall, in dem die Trommel geöffnet werden musste, hing von der Dichte der Kultur ab. Um gute Resultate zu erzielen, waren mehrere Zentrifugationsdurchläufe nötig. Je nach Algenart und deren Grösse wurde das gesamte Volumen zwischen zwei (*P. sordidum*) und vier (*N. gaditana*) Mal zentrifugiert (Abbildung 3, Abbildung 4 und Abbildung 5). Wie viele Durchläufe nötig waren, wurde durch photometrisches Vergleichen der Zentrifugate bestimmt. Wenn von Auge keine grossen Unterschiede mehr feststellbar waren, wurde auf einen weiteren Durchgang verzichtet. Durch das Zentrifugieren entstand eine Paste von 15-25 % TS.

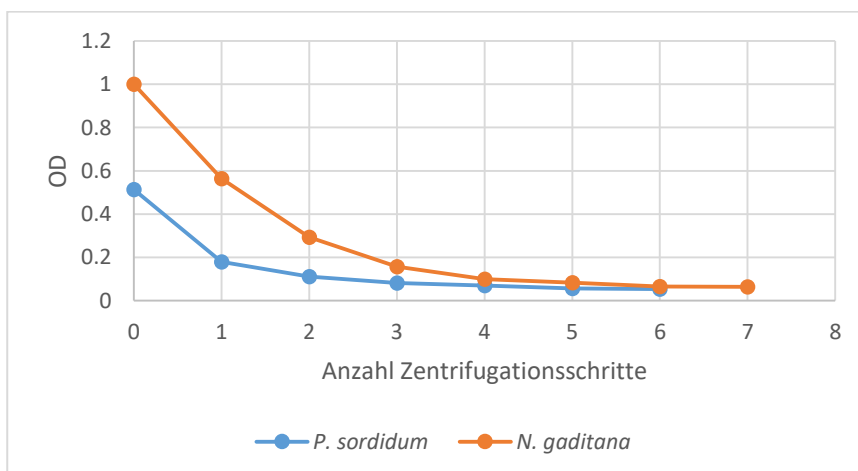


Abbildung 3: Abnahme der Optischen Dichte (OD) bei *N. gaditana* und *P. sordidum* bei mehreren Zentrifugationsdurchläufen.

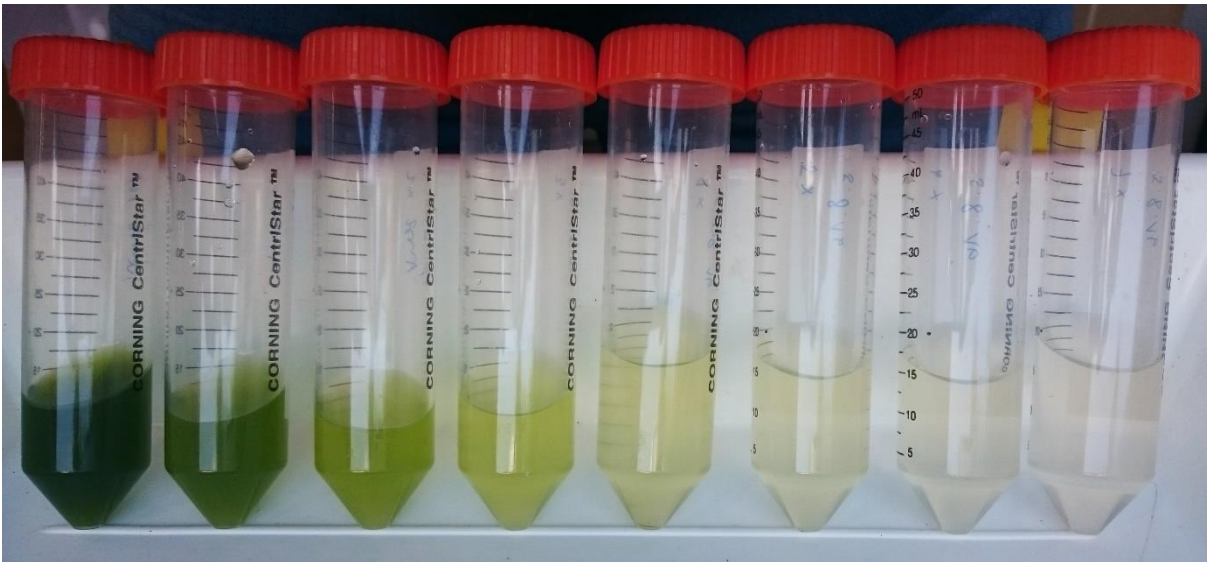


Abbildung 4: Zentrifugate der einzelnen Zentrifugierschritte von *N. gaditana* bei 0 bis 7 Mal in der Milchzentrifuge.

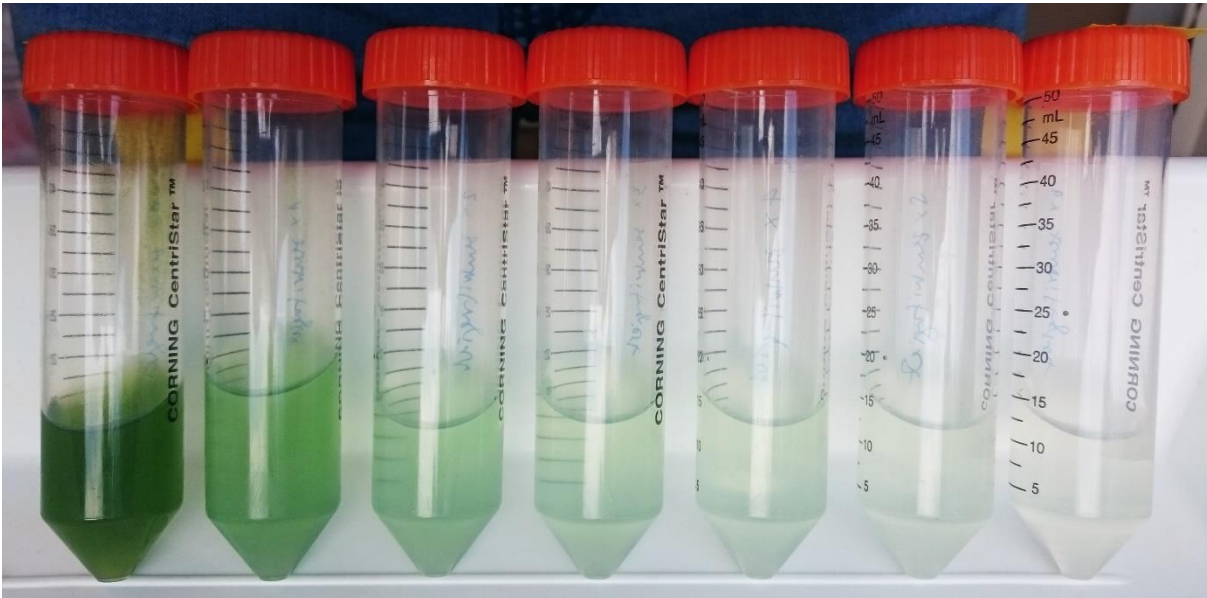


Abbildung 5: Zentrifugate der einzelnen Zentrifugierschritte von *P. sordidum* bei 0 bis 6 Mal in der Milchzentrifuge.

Nach der Zentrifugation wurden die geernteten Algen gefriergetrocknet. Dafür wurde die Algenpaste in Vakuumbuteln ausgestrichen, sodass diese ungefähr eine Dicke von 1 cm hatte (Abbildung 6). Danach wurde sie bei -20°C eingefroren. Die gefrorenen Platten wurden mit einem Hammer in kleine Stücke zerschlagen, um die Oberfläche zu erhöhen. Der Gefriertrockner (Alpha 2-4 LD plus, CHRIST, Deutschland) wurde auf -85°C und auf ein Vakuum von 0.37 mbar eingestellt. Während dem Trocknungsprozess wurden die Algen je einmal mit einem Küchenmixer homogenisiert und so die Oberfläche nochmals erhöht. Der Trocknungsprozess lief so lange, bis die Algen nur noch maximal 5 % Feuchtigkeit enthielten. Der Feuchtigkeitsgehalt wurde mit dem Moisture Analyzer (HB43-S Halogen, Mettler Toledo, Schweiz) stichprobenmässig überprüft. Das Algenpulver wurde anschliessend vakuumiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C eingefroren.



Abbildung 6: Die Algenpaste wurde als Vorbereitung für die Gefrier Trocknung in Vakuumbuteln dünn ausgestrichen und gefroren.

2.4 Analyse der Algen

Die Analyse wurde von einem externen Labor (Biolytix AG, Witterswil, Schweiz) durchgeführt. Bei 55-60 g Material pro Probe konnte ein zuverlässiges Resultat gewährleistet werden. Die meisten Analysresultate wurden mittels LC-MS/MS Methode ermittelt. Das Fettsäurespektrum wurde gaschromatographisch gemäss ASU § 64 LFGB L 13.00-26 nach DIN EN ISO 5508 bestimmt. Die Berechnung der Kohlenhydrate wurde wie folgt gemacht:

$$\text{Kohlenhydrate} = 100 - \text{Feuchtegehalt} - \text{Asche} - \text{Eiweiss} - \text{Fett} - \text{Ballaststoffe}$$

Da Biolytix den Energiewert nur berechnen und nicht messen konnte, wurde dieser intern durch Kaliometrie (mittels Bombenkalorimeter, IKA 2000) bestimmt. *Teile des Kapitels 2.4 wurden aus der Arbeit von A. Seitz (2017a) übernommen und bei Bedarf angepasst.*

2.5 Ökotoxikologische Tests

Mit den gefriergetrockneten Algen wurden ökotoxikologische Tests mit Zebraärblings-Eiern nach der DIN Norm Nr. 38415-6 (2003) durchgeführt, um eine mögliche toxische Wirkung der ausgewählten Algen abzuschätzen. Die Tests wurden mit den selber gezüchteten *N. gaditana*, *D. grisea*, *P. sordidum* und *R. violacea*, sowie mit den eingekauften *Isochrysis* sp. durchgeführt. Die maximale Konzentration wurde so angepasst, dass sie der Futtermenge, die ein Fisch im vorliegenden Versuch pro Tag an Algen fressen würde, entsprach. Dies entsprach 0.01 g (4 %) Algen in 2 ml Testwasser. Für die nächst tiefere Konzentration wurde die vorherige Konzentration halbiert. Dieser Vorgang wurde viermal wiederholt, sodass die Konzentrationen 4 %, 2 %, 1 % und 0.5 % getestet werden konnten.

Der ökotoxikologische Test wurde innerhalb einer Semesterarbeit 2 (Huonder, 2017) durchgeführt und wird hier nicht mehr ausführlich behandelt. Die wichtigste Erkenntnis der Arbeit war, dass alle Algen in der höchsten Konzentration die Entwicklung der Fischembryonen beeinträchtigten. Die besten Resultate zeigte *N. gaditana*, bei der in der höchsten Konzentration (4 %) wenige Embryonen schlüpften und insgesamt am wenigsten Embryonen eine abnormale Entwicklung zeigten. An zweiter Stelle lag *P. sordidum*, bei der sich wenige Embryonen in der zweit höchsten Konzentration (2 %) noch normal entwickelten, gefolgt von *D. grisea* und *Isochrysis* sp., bei welchen sich die Embryonen erst in der dritten Konzentration (1 %) normal entwickelten. Bei *R. violacea* entwickelten sich die Embryonen erst in der niedrigsten Konzentration (0.5 %) normal.

2.6 Herstellung des Fischfutters

2.6.1 Rezeptur

Drei Futter wurden formuliert: Ein Futter welches *P. sordidum* und *N. gaditana* enthielt (im folgenden Porph/Nanno), ein Futter mit *Isochrysis* sp. und *N. gaditana* (im folgenden Iso/Nanno) und ein Kontrollfutter

ohne Algen. Für die Berechnung der benötigten Zutaten wurde ein Excel-basiertes Futterberechnungsprogramm verwendet (Pietsch, unpubliziertes Resultat). Die Analysewerte der Mikroalgen wurden in die bestehende Datenbank eingespeist. Es wurde ein Gesamtproteingehalt von 40 % und ein Lipidgehalt von 11 % im Futter festgelegt. Die Komponenten für das Futter waren Fischmehl und Fischöl, Casein, Weizen-, Blut- und Reismehl, Maisstärke und ein Vitaminmix (Abbildung 7). Für die Algenfutter wurde ein Anteil von 4 % Algen im Futter festgelegt. Pro Futter sollten jeweils beide Algen zu gleichen Gewichtsanteilen (2 %) beigefügt werden. Es war essentiell, dass die drei Futter schlussendlich alle einen ungefähr gleichen Nährwert hatten und die Anteile der Hauptnährstoffe Protein, Lipide und Kohlenhydrate möglichst gleich waren. Um die Qualität und die Inhaltsstoffe im Futter durch die Beigabe der Algen nicht zu stark zu verändern, mussten andere Zutaten dementsprechend reduziert werden. Es war hierbei nicht ausreichend, nur die Anteile von Fischmehl und Fischöl zu reduzieren, sondern das Weizenmehl und das Casein mussten ebenfalls angepasst werden (Abbildung 7, Anhang D, Anhang E). Es wurde darauf geachtet, dass jeweils nur diese vier Zutaten in ihren Mengen verändert wurden, um eine Konstanz in der Rezeptur zu behalten. So wurden die Maisstärke, das Blut- und Reismehl und die Vitamine in allen Futtern zu gleichen Teilen beigefügt. Um später etwas über die Nährstoffverdaulichkeit aussagen zu können, wurde jedem Futter 1 % Titaniumoxid beigefügt. Titaniumoxid kann von den Fischen nicht aufgenommen werden. Dies ermöglichte es, anhand des prozentualen Anteils des Titaniumoxids im Kot Rückschlüsse auf die Nährstoffaufnahme zu machen.

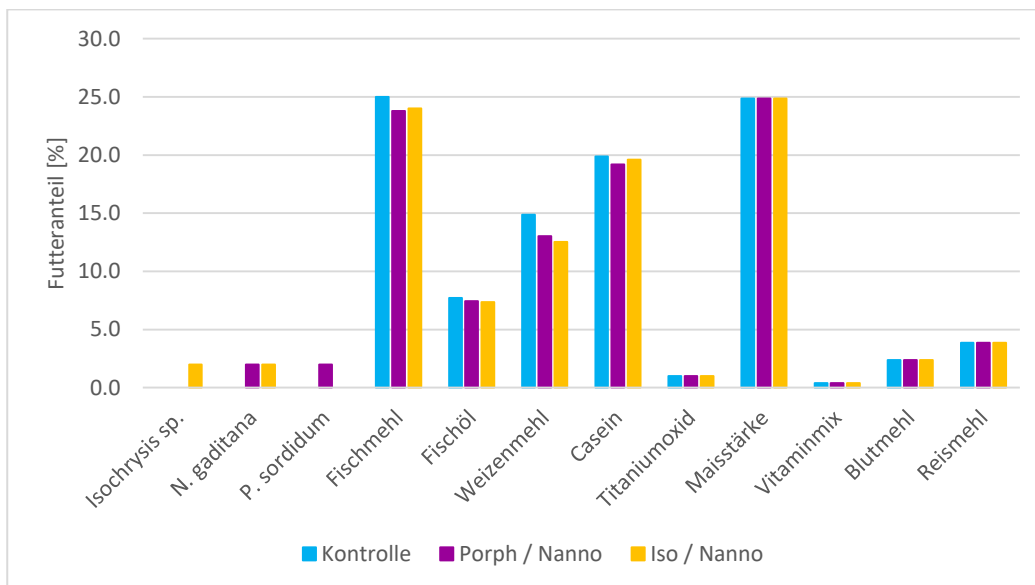


Abbildung 7: Darstellung der Zutatengrößen (%) für die drei Fischfutter. Die Futter wurden so aufeinander abgestimmt, dass alle die gleichen Hauptnährstoffgehalte enthielten.

Die benötigte Futtermenge wurde mit der geschätzten Wachstumsrate von juvenilen Tilapien berechnet. Die Rezepte wurden darum für 6.5 kg pro Futter zusammengestellt. Da die Herstellung eines Futters ungefähr 5-6 h benötigte, wurde die Herstellung der drei Futter auf drei Tage verteilt. Für jedes Futter wurden Pellets in drei verschiedenen Größen hergestellt (Staub: <0.5 mm, Mini: 0.5-1 mm und Midi: 1-2 mm). Die benötigte Menge pro Pellet-Größe, wurde ebenfalls mit der geschätzten Wachstumsrate festgelegt (Staub: 160 g, Mini: 340 g und Midi: 6000 g).

2.6.2 Futterherstellung

Zum Vormischen der Futterkomponenten wurde eine Teigknetmaschine (RCSM-20L, Royal Catering) verwendet. Vor der Wasserzugabe wurden alle Zutaten während 10 Minuten gemischt. Das Wasser wurde nicht nach Rezept beigegeben, sondern in Abhängigkeit von der Konsistenz der Masse: Die Masse musste knetbar sein und durfte weder an den Händen kleben, noch beim Zerdrücken in Stücke zerfallen (Kontrolle: 3.1 L, Porph/Nanno: 2.9 L und Iso/Nanno 3.2 L).

Der Futterteig wurde mit einem Extruder (Pasta-Maschine D45, La Parmigiana, Italien) bei einer Temperatur von 30 °C weiterverarbeitet. Jede Futtermasse wurde zwei Mal durch den Extruder ohne Matrize gepresst, um Mischung und Konsistenz zu verbessern. Danach wurden die Matrizen (Grösse: 0.6 mm für Mini und 1.6 mm für Midi) sowie das Schneidegerät aufgesetzt, um die Futtermasse zu Pellets zu verarbeiten. Die herausgepressten Pellets wurden in flachen Schalen aufgefangen. Durch Hin- und Herbewegen dieser Schalen konnte verhindert werden, dass die Pellets aneinander kleben blieben. Es war dabei von Vorteil, möglichst viele Schalen zu verwenden, damit die Pellets antrocknen konnten, bevor sie zusammen in einen Behälter geschüttet wurden. Für die Herstellung der Pellet-Grösse Staub gab es keine genügend kleine Matrize. Deshalb wurde der Rest des Futterteigs, der nicht zu Pellets verarbeitet werden konnte, durch ein Metallsieb (2 mm Maschenweite) gerieben.

Nach dem Extrudieren wurde das Futter während 12 h bei 55 °C und Umluft getrocknet. Der Feuchtegehalt (Sollwert: < 4 %) wurde stichprobenmässig bestimmt (Moisture Analyzer HB43-S Halogen, Mettler Toledo, Schweiz). Nach dem Trocknen wurden alle drei Futter ein weiteres Mal gesiebt, um die vorgegebene Körnung einzuhalten. Dabei wurden die ausgesiebten Anteile nach Möglichkeit der jeweilig passenden Körnung zugeteilt. Die Futter wurden luftdicht verpackt und bei 4 °C gelagert. Für alle drei Futter wurden dieselben Inhaltstoffanalysen wie bei den Algen (Kapitel 2.4) durchgeführt (Biolytix AG, Schweiz). Weitere Futtereigenschaften wie Schwimmfähigkeit, Farbe und Stabilität wurden während dem Fütterungsversuch beobachtet und notiert. *Teile des Kapitels 2.6 wurden aus der Arbeit von A. Seitz (2017a) übernommen und bei Bedarf angepasst.*

2.7 Fütterungsexperiment

2.7.1 Bezug und Eingewöhnung der Fische

650 Tilapia-Fingerlinge ‚red strain, all male‘ (*Oreochromis niloticus*) wurden von Til-Aqua, NE importiert. Die Biomasse betrug insgesamt 120 g, was einem Durchschnittsgewicht von 0.18 g pro Fisch entsprach. Die Fische wurden für sieben Tage in einer Quarantäne akklimatisiert. Die Wassertemperatur betrug 25-26 °C. Während der ersten fünf Tage wurde mit kommerziellem Futter (Aller Futura Ex Gr. 0 von Emsland Aller Aqua, Deutschland) gefüttert. Danach wurden alle Fische auf das Kontrollfutter umgestellt, um die Fische an das neue Futter zu gewöhnen. Die Fütterungsrate betrug anfangs 12 % der Biomasse pro Tag. Das Futter wurde auf sieben Portionen pro Tag aufgeteilt mit einer ersten Fütterung um 7:00 und einer letzten um 19:00. Dafür wurden Futterautomaten (Rondomatic 400, Grässlin, Deutschland) verwendet, welche auch während des Versuches eingesetzt wurden.

2.7.2 Haltung während des Experiments

Das Experiment startete am 18. Januar 2017 und dauerte neun Wochen (bis am 22. März 2017). Es wurde in der Aquakulturanlage der ZHAW unter der Tierversuchsgenehmigung zh213/16 durchgeführt (Anhang F).

Für den Versuch wurden drei unabhängige, baugleiche Kreisläufe mit je einem Wasservolumen von 6.5 m³ verwendet (Anhang G). Ein Kreislauf bestand aus drei Rundstrombecken mit einem Volumen von je 1700 L, einem Trommelfilter zur Feststoffabscheidung (HydroTech, 40 µm), einem Biofilter, einer Sauerstoffanreicherung, sowie Kühl- und Heizsystemen. Das Anlagenwasser wurde mittels Belüftung im Bewegtbett-Biofilter von CO₂ entgast. Täglich wurde 5-20 % des Wasservolumens durch Frischwasser ersetzt. Der Sauerstoff wurde als Reingas zugegeben und eine Sauerstoffsättigung von 100 % angestrebt. Die Wassertemperatur lag bei 25.7 ± 0.33 °C. Es wurde ein pH von unter 8 angestrebt. Falls der pH höher als 8 war, wurde Salzsäure (37 %, Carl Roth, Deutschland) über eine Titriersäule tröpfchenweise zugegeben bis der pH bei ungefähr 7.5 lag. Die Leitfähigkeit wurde mittels Zugabe von Regeneriersalz (reosal, Landi, Schweiz) bei 738 ± 83 µS/cm gehalten.

Zu Beginn des Experiments hatten die Fische ein Individualgewicht von 0.26 ± 0.004 g. Alle Fische wurden vor dem Einsortieren gewogen und so auf die Becken verteilt, dass die Biomasse bei allen Becken bei 10.4 ±

0.17 g lag. Insgesamt wurden 360 Tilapia für den Versuch verwendet (120 Fische pro Futter, je 40 pro Becken). Da drei Becken zu einem Kreislauf zusammengeschlossen waren, wurde auf eine Zufallsverteilung der Futter verzichtet, um eine Vermischung der löslichen Inhaltsstoffe des Futters durch das Wasser zu vermeiden. Pro Kreislauf wurde daher ein Futter gefüttert. Der Raum wurde von 6:30 bis 19:30 beleuchtet (13 h: 11 h).

Haben Tilapia genügend Platz, bilden sie Reviere, was zu erhöhtem Stress in der Gruppe führt. Andererseits ist die Futterrauffindung schwierig, wenn die Fische in einem zu grossen Volumen gehalten werden. Um beide negativen Effekte so weit wie möglich zu vermeiden, wurden die Fische zuerst in Netzkörben (PE, Maschenweite 1.4 mm x 2.2 mm) mit einem Volumen von 40 L gehalten. Nach vier Wochen wurden sie in grössere Körbe (170 L, PE, Maschenweite 5 mm x 5mm) umgesetzt. Diese grösseren Netzkörbe hatten einen Trichter als Boden, an welchem zuunterst eine Pumpe (Compact+ 2000, Eheim, Deutschland) angeschlossen war. Diese gewährleistete unter anderem, dass das Wasser in den Körben gut zirkulierte.

2.7.3 Tägliche und wöchentliche Kontrollen

Täglich wurden Sauerstoff (mg/L), Temperatur (°C), pH und Leitfähigkeit (µs/cm) pro Kreislauf mit einer Multisonde (HQ 40d Hach Lange) überprüft.

Die Futterautomaten wurden täglich kontrolliert. Es kam vor, dass sich die Schalen der Futterautomaten verklemmten und sich darum nicht entleerten. Nicht ausgeleerte Schalen wurden nachträglich bei den nächsten 2-3 Fütterungen dazu gefüttert.

Die Gesundheit der Fische wurde ebenfalls täglich kontrolliert. Es galten die für diesen Versuch festgelegten Abbruchkriterien (Anhang F). Tote Fische wurden aus dem Becken genommen, gewogen, protokolliert und in 3.5 % gepuffertem Formaldehyd eingelegt. Zudem wurde die Standardlänge der toten Fische gemessen, damit das ursprüngliche Gewicht der häufig angefressenen Fische mittels Formel später ermittelt werden konnte (Anhang H).

Mit Küvetten-Tests (Hach, Schweiz) wurden einmal pro Woche die chemischen Wasserwerte Ammonium (LCK 304), Nitrit (LCK 341) und Nitrat (LCK 339) mittels Photometrie gemessen. Zudem wurde der Frischwasserverbrauch der Kreisläufe wöchentlich anhand der Wasserzähler abgelesen und protokolliert.

2.7.4 Fütterungsregime

Die Fütterungsrate lag zu Beginn des Experiments bei 12% pro Fischbiomasse und Tag und wurde im Laufe des Experiments dem jeweiligen Wachstumsstand der Fische angepasst (Tabelle 2). Die Fütterungsrate wurde jeweils für alle Becken gleichzeitig angepasst. Das bedeutete, dass mit der Verringerung der Fütterungsrate gewartet wurde, bis alle Becken das nächst höhere Durchschnittsgewicht erreicht hatten. Grundsätzlich wurden die Tiere also eher reichlich als zu knapp gefüttert.

Die Futtermenge wurde wöchentlich und für jedes Becken individuell der jeweiligen Fischbiomasse angepasst. Andererseits wurde die Anzahl Fische durch die Protokollierung der Abgänge und das Zählen der Fische mittels Fotografieren laufend aktuell gehalten. Die Futtermenge pro Becken wurde mithilfe der nachfolgenden Formel berechnet:

$$\text{Futtermenge [g] pro Tag} = \text{Durchschnittsgewicht [g] pro Fisch} * \text{Anzahl Fische pro Becken} * \text{Fütterungsrate [\%]}$$

Die Futtermenge für einen Tag wurde separat abgewogen und von Hand in die Futterautomaten auf sieben Portionen verteilt. Die sieben Portionen pro Tag sowie die Fütterungszeiten wurden über den gesamten Versuch beibehalten. Am Morgen eines jeden Tages wurden tendenziell grössere Portionen gefüttert als am Abend.

Beim Wechsel von Staub auf die nächst grösseren Pellets Mini wurde die Umstellung, ohne vorübergehend beide Grössen zu füttern, gemacht da sich diese zwei Grössen nicht stark unterschieden. Bei der Umstellung von Mini auf Midi wurden während zwei Wochen beide Futtergrössen gefüttert, damit sich die Fische an das grössere Futter gewöhnen konnten (Tabelle 2).

Tabelle 2: Die Fütterungsrate und die Futtergrösse in Abhängigkeit der Durchschnittsgewichte der Fische.

Woche im Experiment	Durchschnittliches Gewicht pro Fisch [g]	Fütterungsrate pro Tag und Fisch [%]	Futtergrösse
1	0.2	12	Staub
2	0.3	10	Staub
3	0.4	9	Staub
5	0.8	9	Mini
6	1.0	8	Mini
8	1.5	7	1/3 Mini + 2/3 Midi
9	2.5	7	1/4 Mini + 3/4 Midi

2.7.5 Aufnahme und Berechnung der Parameter und Indizes

Wöchentlich wurde eine Zwischenwägung von wenigen Fischen gemacht, um den Biomassezuwachs, sowie die Zunahme des Durchschnittsgewichts pro Fisch abschätzen zu können. Die Wägungen fanden immer morgens statt. Die Fische wurden an diesen Morgen nicht gefüttert und verpassten dadurch meist die zwei ersten Fütterungen. Diese wurden über den Tag verteilt nachgeholt. Die Wägungen wurden nach der im Tierversuchsantrag festgelegten Methode durchgeführt: Wenige Fische wurden gefangen in einen Behälter mit Wasser entlassen. Von dort wurden sie mit einem Netz herausgefischt und in einen Massbecher gesetzt, der ebenfalls mit Wasser gefüllt und vorgängig tariert worden war. Meist wurden mehrere Fische zusammen auf die Waage gesetzt und nicht einzeln gewogen. Dies verringerte unter anderem den durch Wasserspritzer verursachten Messfehler.

Nach sechs Wochen (1.März) und zum Versuchsende nach neun Wochen (22.März) wurden alle Fische einzeln gewogen und wenige Fische aus dem Versuch entnommen, um weitere Analysen zu machen. Eine Überdosis (> 150 mg/L) an Betäubungsmittel (MS-222, Sigma-Aldrich, Schweiz) diente zur Euthanasie der Tiere. Nach sechs Wochen wurden fünf Fische pro Becken für Analysen entnommen und getötet. Die Tiere wurden mit einem Papiertuch leicht abgetrocknet, gewogen und vermessen (Standardlänge und Gesamtlänge). Ebenfalls wurde die Fleischfarbe des Filets mittels Farbmessgerät (CSM 5, PCE Deutschland GmbH, Deutschland) bestimmt. Dafür wurde vorgängig die Haut über dem Filet abgezogen (Abbildung 8) und an der Rückenmuskulatur (weisser Muskel) mindestens zwei einzelne Messungen der Fleischfarbe vorgenommen. Bei allen entnommenen Tieren wurde ausserdem, wenn möglich, aus der Caudalvene mit Insulinspritzen Blut genommen und für Differenzialblutbilder ausgestrichen und die Leber entnommen und gewogen. Die Leberproben wurden anschliessend für 24 h in gepuffertem Formaldehyd (3.5 Vol.-%) eingelegt und danach in 70 % Ethanol gelagert. Bei Versuchsende nach 9 Wochen wurden 15 Fische pro Becken für Analysen entnommen. Wieder wurde bei allen Fischen das Gewicht (abgetrocknet) und die Standard- sowie die Gesamtlänge gemessen. Bei fünf Tieren pro Becken wurde die Fleischfarbe bestimmt, Blut genommen und die Leber entnommen und gewogen. Bei zwei dieser fünf Fische wurden zusätzlich die Milz und der Darm entnommen und gewogen. Das Aushärten der Proben in Formaldehyd und die anschliessende Lagerung in Ethanol wurde bei allen drei Organen gleich wie in der Woche 6 durchgeführt. Die verbliebenen zehn Fische wurden für weitere Analysen (Nährstoff-zusammensetzung) eingefroren.

Um eine Aussage über die Nährstoffverdaulichkeit des Futters machen zu können, wurde der Kot gesammelt. Dafür wurden die Pumpen, welche an die Netzkörbe angeschlossen waren, genutzt. Diese transportieren das Wasser und den Kot in Filterschläuche (60 mm x 320 mm, Landi, Schweiz), welche alle zwei Tage gewechselt wurden. Die Filterschläuche wurden bei 55 °C getrocknet und anschliessend ausgekratzt. Zusätzlich wurde der im Fischhaltungskorb liegen gebliebene Kot nach Bedarf mit einem feinen Netz gesammelt und ebenfalls getrocknet. Der Kot wurde durch ein externes Labor (Biolytix AG, Schweiz) analysiert. Die Resultate der Analyse waren unerwartet (Anhang L), weshalb diese Daten nicht weiter verwendet wurden.

Die Nährstoffanalyse der Fische wurde durch Constanze Pietsch in Zusammenarbeit mit dem ILGI (Institut für Lebensmittel- und Getränkeinnovation, ZHAW) durchgeführt. Die Analyse der Differenzialblutbilder lag bis zur Abgabe der Arbeit noch nicht vor. Alle entnommenen Organe wurden für die Herstellung von Histologie-Schnitten ans Institut für Fisch- und Wildtiermedizin (FIWI) der Universität Bern geschickt und dort entsprechend eingebettet, entwässert, geschnitten und mit HE (Hämatoxylin und Eosin) gefärbt. Die Auswertung der Histologie-Schnitte wurde in der Bachelorthesis von A. Seitz (2017b) bearbeitet, weshalb dieser Aspekt in der vorliegenden Arbeit nicht vertieft wird.



Abbildung 8: Die Haut über dem Filet wurde abgezogen um die Fleischfarbe des Filets mittels Farbmessgerät messen zu können, der Pfeil gibt den Ort der Messungen im vorderen Bereich des Rückenmuskels an.

Anhand der in den beiden Wochen aufgenommenen Daten konnten mehrere Faktoren berechnet werden. Der Korpulenz-Faktor (k-Faktor) gibt an, ob die Fische eher in die Breite (k-Faktor gross) oder in die Länge (k-Faktor klein) gewachsen sind. Die Spezifische Wachstumsrate (SWR) ist eine Möglichkeit, das Wachstum der Fische zu beurteilen, während der Food Conversion Ratio (FCR) angibt, wie gut die Fische das Futter verwerten konnten. Die Energie-, Protein- und Lipideffizienz sagen ebenfalls etwas über die Futtermittelverwertung aus. Der Hepatosomatische Index (HSI) und der Spleenosomatische Index (SSI) erlauben Aussagen über den Gesundheitszustand des Fisches. Um den SWR und den FCR möglichst genau berechnen zu können, mussten auch die Abgänge während dem Versuch berücksichtigt werden. Dafür wurden die Gewichte der toten, häufig beschädigten Fische aus der Standardlänge nach folgender Formel errechnet. Die Formel wurde aus den Gewichten und Standardlängen der Fische, die in den beiden Wochen entnommen wurden, ermittelt (Anhang H). Die übrigen Parameter wurden wie folgt berechnet:

$$k - \text{Faktor} = \frac{100 * \text{Körpergewicht [g]}}{(\text{Körperlänge [cm]})^3}$$

$$\text{SWR [\%]} = \frac{100 * (\ln \text{Endgewicht [g]} - \ln \text{Anfangsgewicht [g]})}{\text{Anzahl Tage im Experiment}}$$

$$\text{FCR} = \frac{\text{Futtermenge [g]}}{(\text{Endgewicht [g]} - \text{Anfangsgewicht [g]})}$$

$$\text{HSI [\%]} = \frac{100 * \text{Lebergewicht [g]}}{\text{Körpergewicht [g]}}$$

$$\text{SSI [\%]} = \frac{100 * \text{Milzgewicht [g]}}{\text{Körpergewicht [g]}}$$

$$\text{ursprüngliches Gewicht der toten Fische [g]} = 0.5256 * (\text{Standardlänge [cm]})^2 - 2.5071 * \text{Standardlänge [cm]} + 3.7895$$

$$\text{Energie - Effizienz [g/kJ]} = \frac{\text{Endgewicht [g]} - \text{Anfangsgewicht [g]}}{(\text{Energiegehalt Futter [kJ/g Futter]} * \text{Futtermenge [g]})}$$

$$\text{Protein - Effizienz [\%]} = \frac{\text{Endgewicht [g]} - \text{Anfangsgewicht [g]}}{(\text{Proteingehalt Futter [g/100g Futter]} * \text{Futtermenge [g]})}$$

$$\text{Lipid - Effizienz [\%]} = \frac{\text{Endgewicht [g]} - \text{Anfangsgewicht [g]}}{(\text{Lipidgehalt Futter [g/100g Futter]} * \text{Futtermenge [g]})}$$

2.8 Auswertung und Statistik

Die Daten wurden einerseits mit Excel 2013 und andererseits mit R-Studio (Version 3.1.1) visualisiert. Für die meisten Darstellungen in R wurde das package „ggplot2“ verwendet. Alle statistischen Auswertungen wurden in R-studio durchgeführt. Es wurde mit einem alpha-Wert von 5 % getestet. Mittels Shapiro-Wilk Test wurde getestet, ob die Residuen normalverteilt waren, während die Homoskedastizität der Varianzen mit dem Levene Test überprüft wurde.

Die Daten aller Gewichtsmessungen wurden verwendet, um Wachstumskurven der Fische pro Futter zu erstellen. Diese Kurven wurden durch die Modellierung einer ANCOVA, die die logarithmierten Gewichtswerte und zwei Faktoren (Tage: kontinuierlich, 1 Freiheitsgrad; Futter: kategorisch, 2 Freiheitsgrade) beinhaltete, miteinander verglichen.

Die in den Wochen 6 und 9 erhobenen Daten und die daraus berechneten Faktoren und Indizes (k-Faktor, SWR und FCR, HSI, SSI) konnten in einer ANOVA modelliert werden. Die ANOVA verglich die Werte anhand des Faktors Futter (kategorisch, 2 Freiheitsgrade) miteinander. Unterschiede zwischen einzelnen Futtergruppen wurden mit einem posthoc-Test (pairwise t-Test, holm-bonferoni korrigiert) ermittelt. In Fällen, bei denen die Annahmen der parametrischen Tests verletzt wurden, wurde ein nicht-parametrischer Test ausgeführt (Kruskal-Wallis) und der posthoc-Test Wilcoxon rank sum Test (holm-bonferoni korrigiert) angewandt. Wenn neben den Residuen die Varianz nicht normal verteilt war, wurde der One-way Test ausgeführt. Als Post-hoc Test wurde wiederum der pairwise t-Test (Holm-Bonferoni-korrigiert) angewandt. Das gleiche Verfahren wurde auch für die Anzahl tote Fische, die Filetfarbe, die Nährstoffe der Fische und die physikalischen und chemischen Wasserparameter verwendet.

Bei der SWR, der FCR, dem SSI und einem Teil der Nährstoffe der Fische konnte aufgrund der geringen Datenmenge keine zuverlässige statistische Auswertung gemacht werden. Dies wurde jeweils im Text vermerkt.

3 Resultate

3.1 Algenproduktion

In den Hängeschläuchen konnten *N. gaditana*, *P. sordidum* und *D. grisea* erfolgreich kultiviert werden (Abbildung 9). *P. sordidum* hatte im Schnitt eine tägliche Zunahme der OD von 0.010 und erreichte eine maximale OD von 0.664. *N. gaditana* zeigte das konstanteste und beste Wachstum mit einer maximalen OD von 1.18 und mit einer durchschnittlichen Zunahme der OD von 0.013 pro Tag. *D. grisea* wurde, aufgrund der Resultate im ökotoxikologischen Test und wegen der schwierigen Entwässerung, nicht weiter produziert. Zudem zeigte sich dort mit einer Zunahme der OD von 0.004 pro Tag das geringste Wachstum.

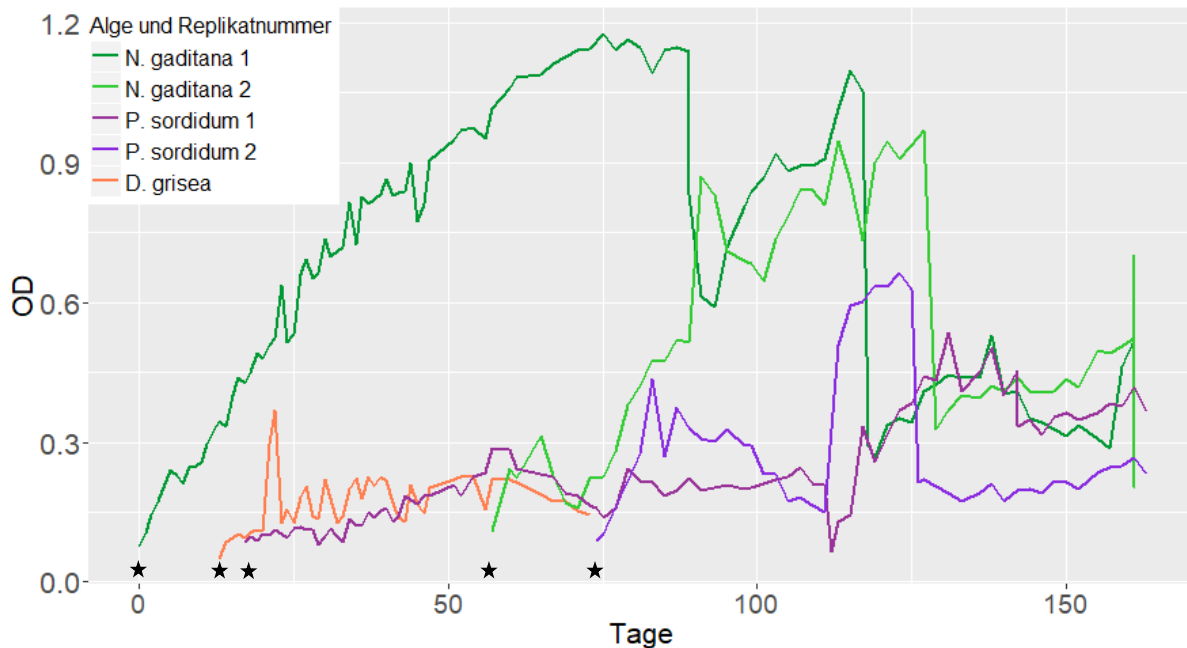


Abbildung 9: Wachstumskurven der Algen anhand der OD (Optische Dichte) Wellenlänge 750 nm. Die Kulturen wurden zu unterschiedlichen Zeiten gestartet (Stern).

Die Produktivität von *N. gaditana* entsprach 8.5 mg/L pro Tag. Es konnten innerhalb von 161 Tagen in ungefähr 250 L 330.8 g Biomasse (TS 97 %) produziert werden. Von *P. sordidum* konnten insgesamt 206.3 g mit einer TS von 96% produziert werden, die Produktivität lag bei 5.9 mg/L pro Tag.

3.2 Inhaltsstoffe der Algen

Die Algen unterschieden sich bezüglich der Hauptnährstoffe Protein, Lipide und Kohlenhydrate voneinander (Tabelle 3). Bei den Proteingehalten lag der Wert von *Isochrysis* sp. deutlich tiefer als die der anderen beiden Algen. Weniger deutliche Unterschiede zwischen den Algen bestanden bei den Kohlehydrat- und Lipidgehalten. Die Energiegehalte von *N. gaditana* und *P. sordidum* lagen nahe beieinander, während der Wert von *Isochrysis* sp. deutlich tiefer war. *Isochrysis* sp. zeigte auch den tiefsten Gehalt an Aminosäuren. Bei *P. sordidum* fiel vor allem der hohe Aschegehalt auf. Alle drei Algen enthielten Omega-3 und Omega-6 Fettsäuren. Die Werte der drei Fettsäuren DHA, EPA und ARA lagen häufig unter der Messgrenze und dürfen nur als Näherungswerte angesehen werden. Bei *P. sordidum* wurde der Messwert von Cystein unterschritten, weshalb bei Methionin & Cystein ebenfalls nur ein Näherungswert angegeben wurde. Der komplette Analysebericht ist dem Anhang I zu entnehmen. Teile des Kapitels 3.2 wurden aus der Arbeit von A. Seitz (2017a) übernommen und bei Bedarf angepasst.

Tabelle 3: Nährstoffzusammensetzung der drei Mikroalgen. Alle Werte beziehen sich auf % Algenpulver (g/100g Algenpulver). Das Vergleichszeichen (</>) bedeutet, dass der jeweilige Wert nicht verlässlich ist, da die Messgrenze für mind. einen Wert unterschritten wurde. Die mit * gekennzeichneten Werte stammen nicht von Biolytix, sondern wurden an der ZHAW mittels Bombenkalorimeter gemessen.

Gemessener Parameter	Einheit	<i>N. gaditana</i>	<i>P. sordidum</i>	<i>Isochrysis</i> sp.
Trockensubstanz (TS)	[%]	97.2	94.7	95.9
Aschegehalt	[%]	12.9	37.4	13.3
Bruttoenergie	[MJ/kg]	21.3*	19.5*	13.2*
Rohprotein	[%]	41.7	41.2	20.1
Kohlenhydrate (berechnet)	[%]	28.1	31.9	25.8
Lipide	[%]	14.5	9.5	11.3
20:4 Arachidonsäure (n-6) (ARA)	[%]	<0,1	<0,1	<0,1
20:5 Eicosapentaensäure (n-3) (EPA)	[%]	2.6	<0,1	0.4
22:6 Docosahexaensäure (n-3) (DHA)	[%]	<0,1	<0,1	0.9
Σ n-3	[%]	3.2	1.7	2.8
Σ n-6	[%]	0.4	1.7	0.8
Σ Aminosäuren	[%]	35.31	36.51	18.79
Arginin	[%]	2.43	0.53	3.36
Histidin	[%]	0.74	0.36	0.5
Isoleucin	[%]	1.57	1.09	1.46
Leucin	[%]	3.11	1.79	2.94
Lysin	[%]	2.06	0.91	1.87
Methionin	[%]	0.82	0.44	0.81
Methionin + Cystein	[%]	1.02	>0.44	1.01
Phenylalanin	[%]	2.04	1.22	1.78
Phenylalanin + Threonin	[%]	3.7	1.93	3.58
Threonin	[%]	1.66	0.71	1.8
Tyrosin	[%]	1.23	0.72	1.87
Valin	[%]	2.35	1.45	2.35

3.3 Fischfutter

Von allen Futtern wurden ungefähr 6 kg hergestellt. Die vorgegebenen Anteile der Pellet-Größen Staub, Mini und Midi konnten eingehalten werden. Durch die Zugabe der Algen *P. sordidum* und *N. gaditana* im Futter Porph/Nanno konnte das Fischmehl um 4.8 % und das Fischöl um 3.6 % reduziert werden. Beim Futter Iso/Nanno erlaubte die Zugabe der Algen eine Reduktion des Fischmehls um 4.0 % und des Fischöls um 4.9 %. Alle drei Futter sanken im Wasser und wiesen die gleiche Stabilität auf. Die Farben der drei Futter waren leicht unterschiedlich: Während die Kontrolle eine hellbraune Farbe hatte, waren die Algen-Futter eher grünbraun.

Die Analyse der Futter bestätigte, dass die analysierten und die geplanten Inhaltstoffe vom Futterberechnungs-programm praktisch identisch waren (Anhang I, Anhang J). Insbesondere waren die Futter in Bezug auf die Anteile der Hauptnährstoffe wie geplant untereinander sehr ähnlich. Alle drei hergestellten Futter hatten demnach ähnliche Energiegehalte, einen ähnlichen Gehalt an Proteinen und Lipiden (Tabelle 4), sowie praktisch keine Unterschiede im Wasser-, Asche- und Kohlenhydratgehalt. Deutliche Unterschiede bestanden dagegen hinsichtlich der ungesättigten Fettsäuren. Während die Werte des Kontrollfutters unter dem Messwert lagen, waren die Werte von Porph/Nanno und Iso/Nanno identisch. Die Anteile der für die Fische relevanten Aminosäuren lagen bei allen Futtern sehr nahe beisammen. Der

komplette Analysebericht ist dem Anhang K zu entnehmen. *Teile des Kapitels 3.3 wurden aus der Arbeit von A. Seitz (2017a) übernommen und bei Bedarf angepasst.*

*Tabelle 4: Nährstoffzusammensetzung der drei Futter. Alle Werte beziehen sich auf % Futter (g/100 g Futter). Das Vergleichszeichen (</>) bedeutet, dass der jeweilige Wert nicht verlässlich ist, da die Messgrenze für mind. einen Wert unterschritten wurde. Die mit * gekennzeichneten Werte stammen nicht von Biolytix, sondern wurden an der ZHAW mittels Bombenkalorimeter gemessen.*

Gemessener Parameter	Einheit	Kontrolle	Porph/Nanno	Iso/Nanno
Gesamtmenge	[g]	6170	6145	6172
Trockensubstanz (TS)	[%]	95.3	94.5	94.9
Aschegehalt	[%]	5.3	5.7	6.2
Bruttoenergie	[MJ/kg]	20.4*	20.2*	20.3*
Rohprotein	[%]	38.3	37.8	38.2
Kohlenhydrate (berechnet)	[%]	37.7	36.5	37.0
Lipide	[%]	11.2	11.2	11.1
20:4 Arachidonsäure (n-6) (ARA)	[%]	<0.1	0.1	<0.1
20:5 Eicosapentaensäure (n-3) (EPA)	[%]	<0.1	1.1	1.1
22:6 Docosahexaensäure (n-3) (DHA)	[%]	<0.1	1.3	1.3
Σ n-3	[%]	<0.1	2.9	2.9
Σ n-6	[%]	<0.1	0.4	0.4
Σ Aminosäuren	[%]	47.42	47.27	48.07
Arginin	[%]	1.86	1.89	1.89
Histidin	[%]	1.17	1.13	1.19
Isoleucin	[%]	2.46	2.4	2.61
Leucin	[%]	4.13	4.37	4.76
Lysin	[%]	3.92	3.96	4.06
Methionin	[%]	1.39	1.44	1.59
Methionin + Cystein	[%]	1.56	>1.44	1.71
Phenylalanin	[%]	2.25	2.23	2.39
Phenylalanin + Threonin	[%]	4.17	4.22	4.26
Threonin	[%]	1.92	1.99	1.87
Tyrosin	[%]	1.28	1.18	1.43
Valin	[%]	3.57	3.31	3.73

3.4 Fütterungsexperiment

3.4.1 Wachstum und Futtermittelverwertung

Über die gesamte Dauer des Fütterungsexperimentes konnte ein konstantes Wachstum beobachtet werden (Abbildung 11) (Faktor Tage: $F_{1,24}=6658$, $p < 0.001$), dabei erreichten die Fische je nach Futter unterschiedliche Endgewichte (Faktor Futter: $F_{2,24}= 15.24$, $p < 0.001$), was sich auch in einer unterschiedlichen Wachstumsrate widerspiegelte (Interaktion Futter x Tage: $F_{2,24}= 16.98$, $p < 0.001$). Die logarithmierten Daten konnten mit der ANCOVA sehr gut modelliert werden ($R^2 = 0.99$), was auf ein exponentielles Wachstum hinwies und es ermöglichte, Wachstumsraten zu schätzen. Die berechneten Wachstumsraten waren für die Fische mit dem Kontrollfutter 4.4 ± 0.1 % pro Tag ($R^2 = 0.99$) für die Fische mit dem Futter Porph/Nanno 5.0 ± 0.1 % pro Tag ($R^2 = 0.98$), und für die Fische mit dem Futter Iso/Nanno 5.3 ± 0.1 % pro Tag ($R^2 = 0.99$).

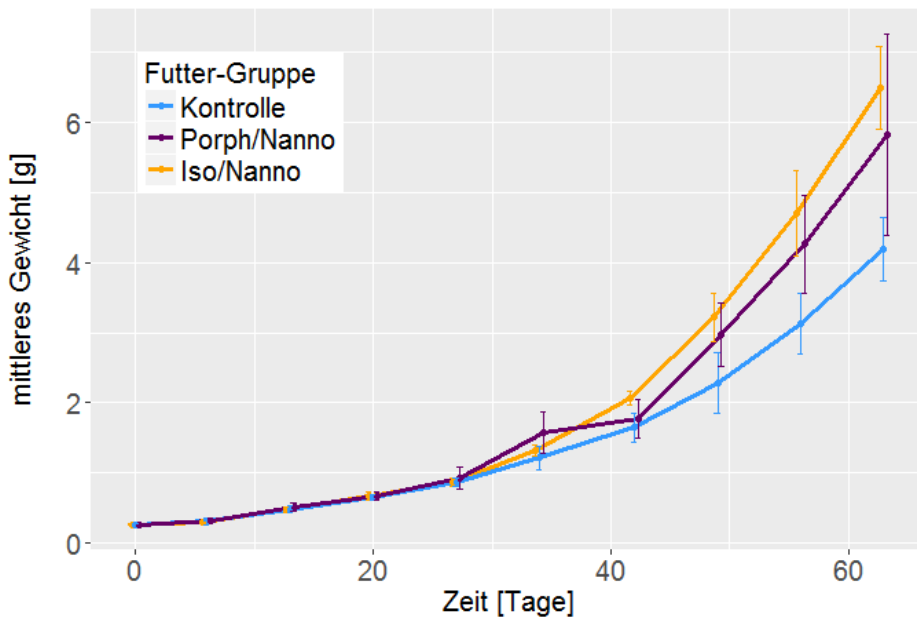


Abbildung 11: Wachstumskurven der drei Fütterungsgruppen über den Versuchsverlauf.

Das Gewicht der Fische (Woche 6: Tag 42, Woche 9: Tag 63), belegt ebenfalls, dass die Fische mit den verschiedenen Futtern unterschiedlich gewachsen sind (Abbildung 10). In der Woche 6 lagen die mittleren Gewichte der Fische der Kontrolle bei 1.7 ± 0.7 g, diejenigen des Futters Porph/Nanno bei 1.8 ± 0.9 g und diejenigen mit dem Futter Iso/Nanno bei 2.1 ± 0.9 g. In der Woche 6 zeigten die Gewichte der verschiedenen Futtergruppen signifikante Unterschiede ($\chi^2_2 = 11.19$, $p = 0.004$). Die Gruppe Iso/Nanno war signifikant unterschiedlich von den anderen beiden Gruppen (Kontrolle: $p = 0.002$, Porph/Nanno: $p = 0.05$), während die Kontrolle und die Gruppe Porph/Nanno keinen signifikanten Unterschied ($p = 0.50$) zeigten. Die mittleren Gewichte der Fische unterschieden sich in Woche 9 stärker untereinander als in Woche 6 (Kontrolle: 4.2 ± 2.5 g; Porph/Nanno: 5.8 ± 3.6 g; Iso/Nanno: 6.5 ± 3.5 g) und zeigten signifikante Unterschiede ($F_{2,151} = 12.83$, $p < 0.001$). Die Gewichte der Fische in der Kontrolle waren signifikant unterschiedlich zu den Gewichten der Fische mit dem Futter Porph/Nanno ($p = 0.013$) und zu denen mit dem Futter Iso/Nanno ($p < 0.001$), wohingegen die Gewichte der Gruppen Porph/Nanno und Iso/Nanno nicht signifikant unterschiedlich waren ($p = 0.20$).

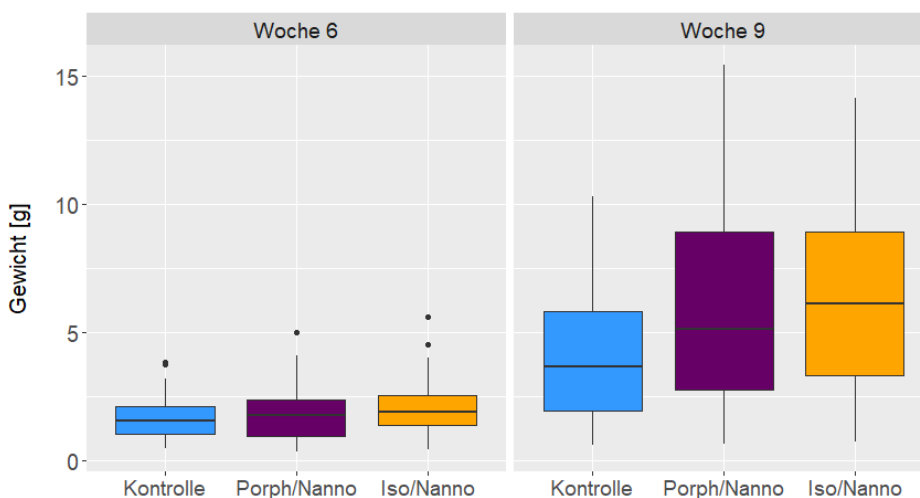


Abbildung 10: Gewichte der drei Futtergruppen bei der ersten gesamten Wägung (Woche 6) und der zweiten (Woche 9).

Die Standardlängen der Fische lagen in der Woche 6 alle um einen Mittelwert von 3.6 ± 0.5 cm und zeigten keine signifikanten Unterschiede ($F_{2,41} = 0.40$, $p = 0.68$). In der Woche 9 gab es signifikante Unterschiede zwischen den drei Futtergruppen ($F_{2,132} = 20.23$, $p < 0.001$). Alle drei Gruppen unterschieden sich signifikant (Kontrolle-Porph/Nanno: $p < 0.001$; Kontrolle-Iso/Nanno: $p < 0.001$; Porph/Nanno-Iso/Nanno: $p = 0.02$). Die kürzesten mittleren Standardlängen wies die Kontrolle (5.4 ± 0.7 cm), gefolgt von der Gruppe Porph/Nanno (5.9 ± 0.7 cm), auf. Die längsten mittleren Standardlängen hatten die Fische mit dem Futter Iso/Nanno (6.2 ± 0.5 cm) (Abbildung 12).

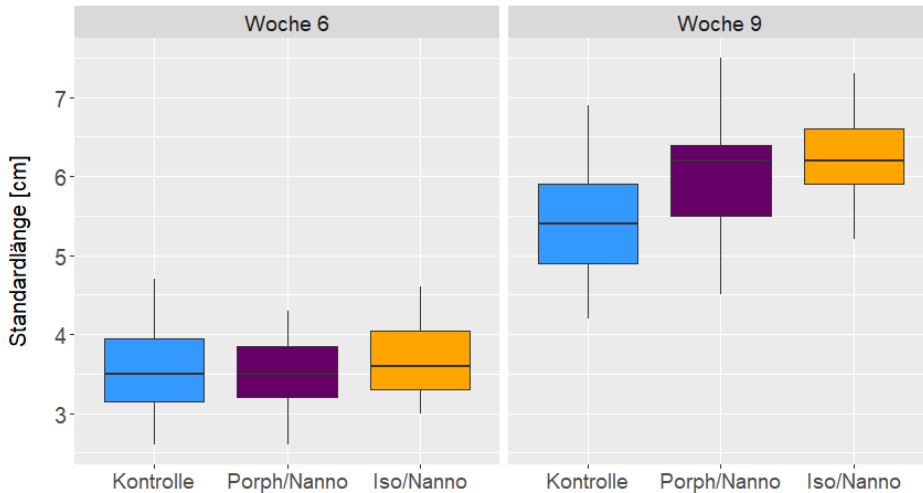


Abbildung 12: Die Standardlängen der Fische aufgeteilt nach Futter und Zeitpunkt der Messung.

Die verschiedenen Futter zeigten keinen signifikanten Unterschied im Korpulenz-Faktor (k-Faktor) (Woche 6: $\chi^2_2 = 0.67$, $p = 0.72$; Woche 9: $\chi^2_2 = 1.04$, $p = 0.59$). Dieser lag in der Woche 6 bei allen Futtergruppen um einen Mittelwert von 1.6 ± 0.8 und nahm bis zur Woche 9 (1.8 ± 0.2) zu (Abbildung 13).

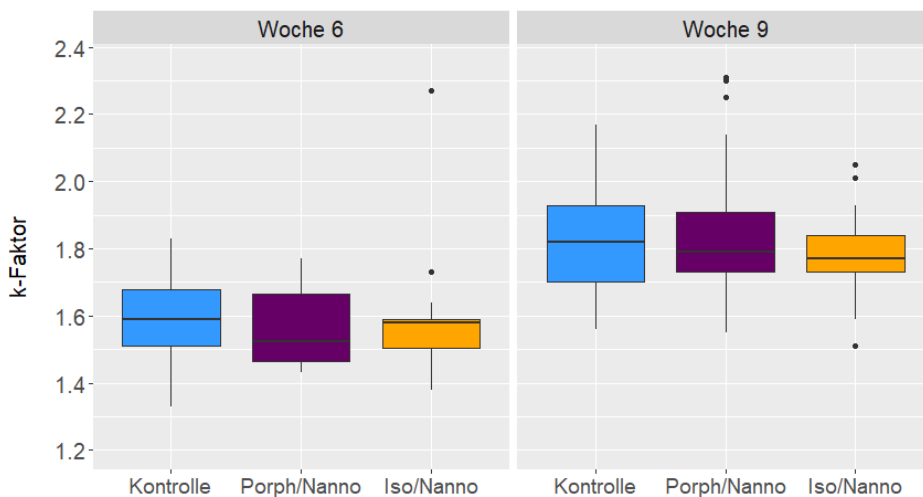


Abbildung 13: Der Korpulenz-Faktor (k-Faktor) der drei Futtergruppen in der Versuchswoche 6 und 9.

Die spezifischen Wachstumsraten (SWR) lagen in der Woche 6 bei 4.6 ± 0.2 % (Kontrolle), 4.8 ± 0.3 % (Porph/Nanno) und 5.2 ± 0.1 % (Iso/Nanno). Es bestanden keine signifikanten Unterschiede ($F_{2,6} = 4.25$, $p = 0.07$). In der Woche 9 wiesen alle drei Gruppen höhere Wachstumsraten auf als in Woche 6 (Abbildung 14). In der Woche 9 hatte die Kontrolle die tiefste Wachstumsrate (5.0 ± 0.1 %). Die Gruppen Porph/Nanno mit 6.2 ± 0.5 % und Iso/Nanno mit 6.1 ± 0.2 % zeigten ähnlich hohe Wachstumsraten. Es bestanden signifikante Unterschiede ($F_{2,6} = 9.33$, $p = 0.014$) zwischen Kontrolle- Porph/Nanno ($p = 0.025$) und Kontrolle-Iso/Nanno

($p = 0.025$), jedoch keine zwischen Porph/Nanno-Iso/Nanno ($p = 0.785$). Es ist anzumerken, dass die Auswertungen aufgrund der geringen Datenmenge nicht zuverlässig sind.

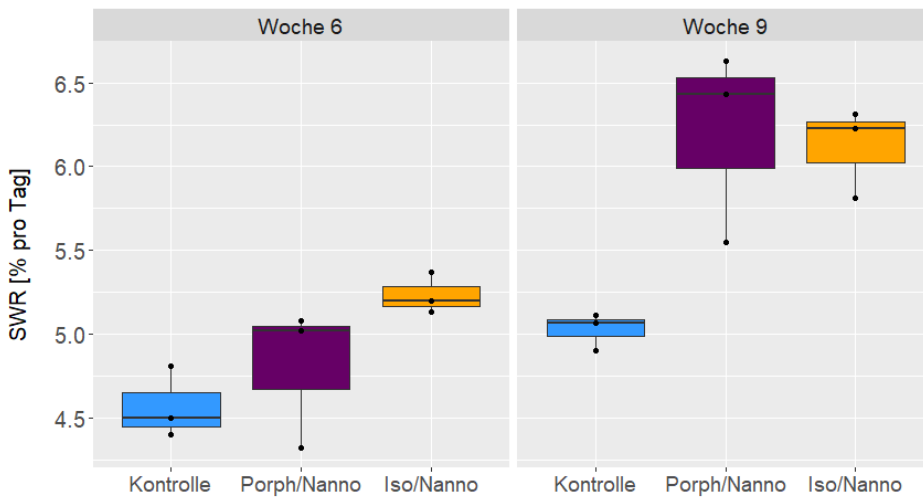


Abbildung 14: Die spezifischen Wachstumsraten (SWR) aufgeteilt nach Futtergruppe und Woche im Versuch. Bei allen Futtergruppen gab es je ein Resultat pro Becken.

Die Food Conversion Ratios (FCR) lagen in der Woche 6 höher (Kontrolle: 1.8 ± 0.2 , Porph/Nanno: 1.8 ± 0.1 und Iso/Nanno: 1.4 ± 0.1) als in der Woche 9 (Kontrolle: 1.4 ± 0.03 , Porph/Nanno: 1.2 ± 0.1 und Iso/Nanno: 1.1 ± 0.1) (Abbildung 15). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Futtergruppen in der Woche 6 ($F_{2,6} = 4.99$, $p = 0.05$) und in der Woche 9 ($F_{2,6} = 4.27$, $p = 0.07$). Die Auswertung ist jedoch aufgrund der geringen Datenmenge nicht zuverlässig.

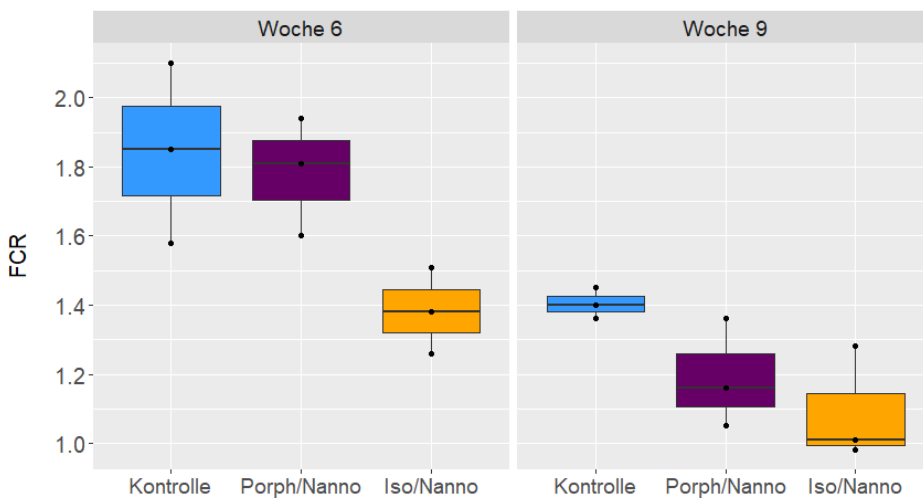


Abbildung 15: Die Food Conversion Ratio (FCR) aufgeteilt nach Futtergruppe und Woche im Versuch. Bei allen Futtergruppen gab es je ein Resultat pro Becken.

Die Energie-, Protein und Lipideffizienz war beim Futter Iso/Nanno am besten, gefolgt vom Futter Porph/Nanno. Die geringsten Effizienzen wies das Kontrollfutter auf (Tabelle 5).

Tabelle 5: Energie-, Protein- und Lipideffizienz der drei Futtermittel. Dargestellt sind die Mittelwerte und die Standardabweichungen pro Futtermittel.

Effizienz	Einheit	Kontrolle	Porph/Nanno	Iso/Nanno
Energieeffizienz	[g/kJ]	0.026 ± 0.0010	0.031 ± 0.0028	0.035 ± 0.0036
Proteineffizienz (PER)	[%]	1.39 ± 0.055	1.65 ± 0.15	1.88 ± 0.19
Lipideffizienz	[%]	4.76 ± 0.19	5.54 ± 0.51	6.45 ± 0.66

Zusätzlich zu den für die weiteren Analysen verwendeten Fischen, starben während dem Versuch 75 Fische. Dies entsprach 21 % der Fische. Die Mortalität unterschied sich nicht signifikant zwischen den Futtermitteln ($F_{2,107} = 0.27$, $p = 0.77$) und betrug für die Gruppe Porph/Nanno 23.3 %, für die Kontrollgruppe 19.2 % und für Iso/Nanno 20.0 %. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Woche im Versuch und der Anzahl toter Fische festgestellt werden ($\chi^2_8 = 49.58$, $p < 0.001$). Grundsätzlich nahm die Anzahl toter Fische pro Woche während des Verlaufs des Experiments zu (Abbildung 16). In der Woche 1 bis 3 gab es nur vereinzelte Abgänge. Kurz bevor die Fische in die grösseren Netzkörbe umgesetzt wurden, gab es mit 15 Fischen in der Woche 4 am meisten Tote. Danach ging die Zahl leicht zurück, bis sie ab der Woche 7 wieder zunahm.

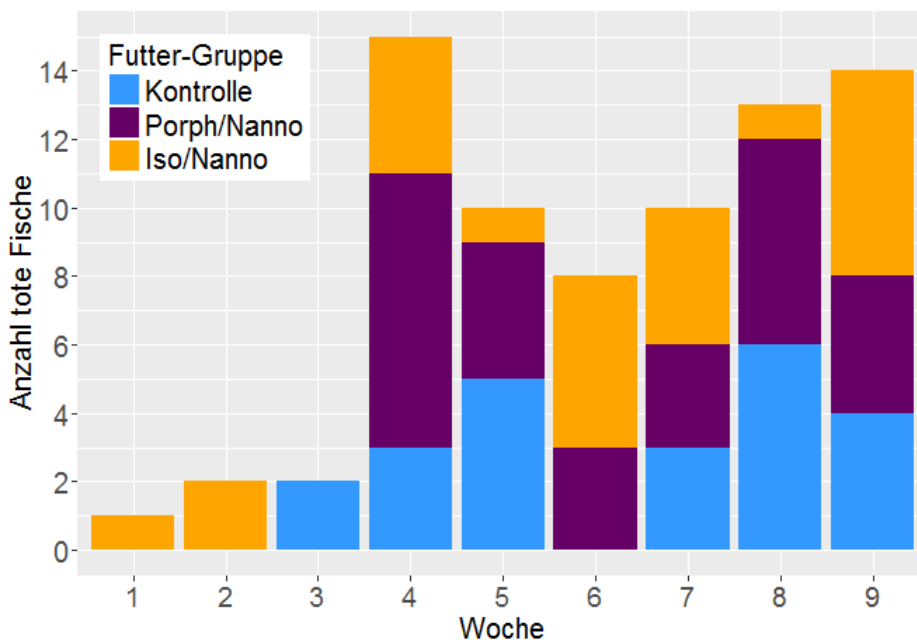


Abbildung 16: Anzahl tote Fische pro Futter aufgeteilt auf die Wochen im Versuch.

3.4.2 Physiologische Indizes

Die drei Futtermittelgruppen zeigten keine signifikanten Unterschiede beim hepatosomatischen Index (HSI) (Woche 6: $F_{2,41} = 0.17$, $p = 0.85$; Woche 9: $F_{2,42} = 1.22$, $p = 0.31$). Die Mittelwerte lagen in beiden Wochen in der Kontrolle knapp am höchsten (4.4 ± 1.3 % resp. 4.2 ± 0.6 %), gefolgt von Iso/Nanno, wo sie bei 4.1 ± 1.3 % und 4.0 ± 0.8 % lagen. Am tiefsten waren die Werte von Porph/Nanno (4.1 ± 1.3 % resp. 3.8 ± 0.9 %) (Abbildung 17).

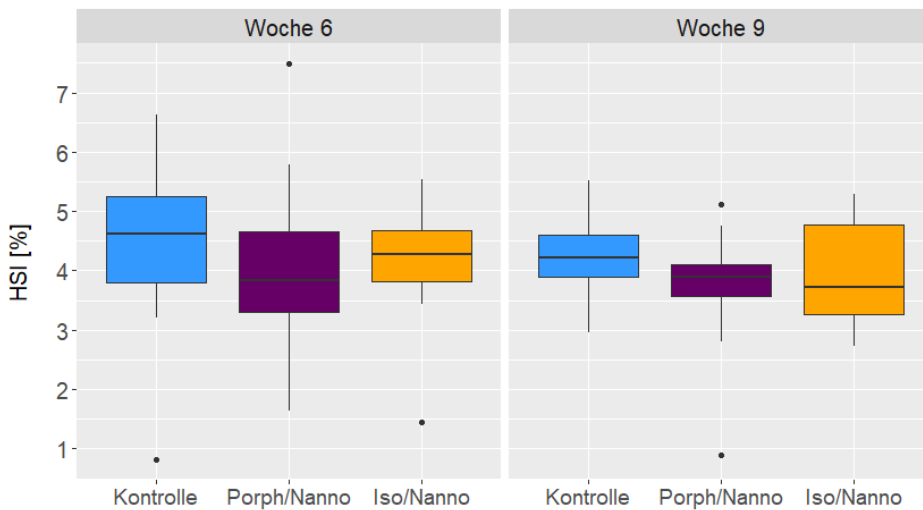


Abbildung 17: Hepatosomatischer-Index (HSI) der drei Futtergruppen nach 6 und nach 9 Wochen im Versuch.

Der spleenosomatische Index (SSI) zeigte in der Woche 9 grosse Unterschiede zwischen den drei Futtergruppen (Abbildung 18). Mit 0.8 ± 0.2 % waren die Werte von Iso/Nanno am höchsten. An zweiter Stelle folgte die Gruppe Porph/Nanno mit 0.6 ± 0.1 % und an dritter die Kontrolle mit 0.4 ± 0.1 %. Obgleich diese Unterschiede signifikant sind ($F_{2,13} = 7.37$, $p = 0.007$, Kontrolle-Iso/Nanno: $p = 0.006$, Kontrolle-Porph/Nanno: $p = 0.11$, Porph/Nanno-Iso/Nanno: $p = 0.08$), ist die Auswertung aufgrund der geringen Datenmenge nicht zuverlässig.

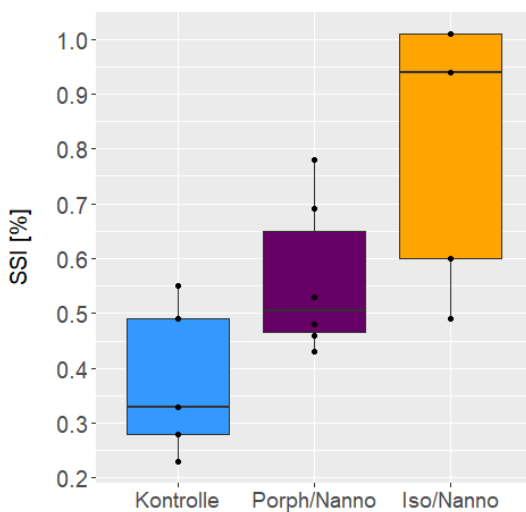


Abbildung 18: Der Spleenosomatische Index (SSI) wurde nur am Ende des Versuchs (Woche 9) aufgenommen.

3.4.3 Filetfarbe und Inhaltstoffe der Fische

Die drei Futter zeigten weder in der Woche 6 noch in der Woche 9 signifikante Unterschiede im Filet in Bezug auf die Helligkeit (Woche 6: $\chi^2_2 = 1.69$, $p = 0.43$; Woche 9: $F_{2,42} = 0.21$, $p = 0.81$), die Rot-Grün-Komponente (Woche 6: $\chi^2_2 = 4.74$, $p = 0.09$, Woche 9: $\chi^2_2 = 2.32$, $p = 0.31$) und die Gelb-Blau-Komponente (Woche 6: $F_{2,42} = 0.12$, $p = 0.89$; Woche 9: $F_{2,42} = 0.22$, $p = 0.81$). Die Werte zeigten weder zwischen den Futtergruppen, noch zwischen den Wochen grosse Unterschiede (Abbildung 19).

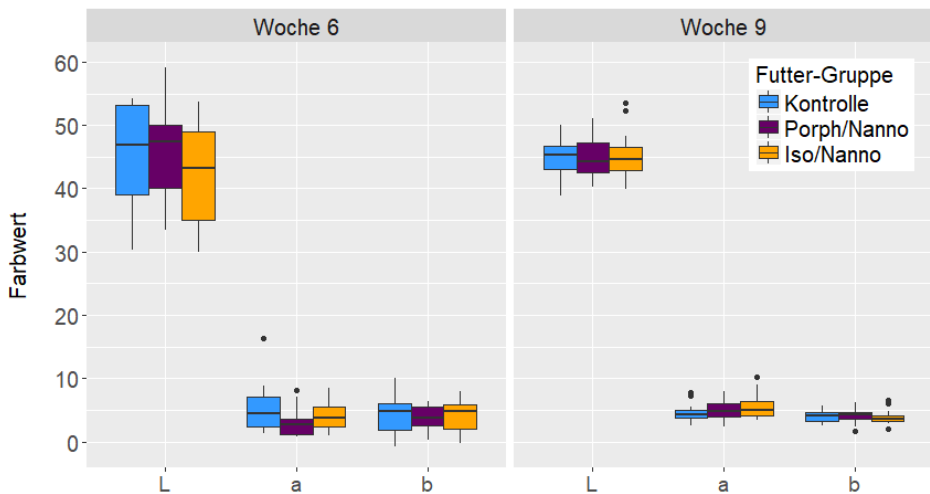


Abbildung 19: Filetfarben im L-a-b-System pro Futtergruppe und Woche im Versuch. L= Helligkeit, a= Rot-Grün-Komponente, b= Gelb-Blau-Komponente

Die Fische unterschieden sich bezüglich Lipidgehalt ($F_{2,9} = 36.90$, $p < 0.001$, tiefer in der Kontrollgruppe). Keine Unterschiede bestanden bei der Trockensubstanz ($\chi^2_2 = 6.04$, $p = 0.05$), der Bruttoenergie ($F_{2,7} = 0.86$, $p = 0.47$) und beim Aschegehalt ($\chi^2_2 = 3.61$, $p = 0.164$) (Tabelle 6). Bei Lipid-, Asche- und Energiegehalt sind die Auswertungen aufgrund der geringen Datenmenge nicht zuverlässig.

Tabelle 6: Inhaltsstoffe der Fische aufgeteilt nach Futter, alle Angaben beziehen sich auf % (resp. kg bei der Bruttoenergie) der Nasssubstanz.

Nährstoffparameter	Einheit	Fische der Kontrolle	Fische mit dem Futter Porph/Nanno	Fische mit dem Futter Iso/Nanno
Trockensubstanz (TS)	[%]	42.9 ± 2.67	40.6 ± 2.99	41.2 ± 3.07
Bruttoenergie	[MJ/kg]	11112.5 ± 639.8	10102.9 ± 206.9	10025.1 ± 374.8
Lipid	[%]	8.4 ± 2.2	13.0 ± 2.05	11.0 ± 6.39
Asche	[%]	4.1 ± 0.18	3.8 ± 0.22	3.8 ± 0.20

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Fische, welche mit Algenfutter gefüttert wurden, besser gewachsen sind als diejenigen in der Kontrolle. Dies lässt sich anhand des Endgewichts und der Standardlänge der Fische belegen. Die Gruppen, die mit Algenfutter gefüttert wurden, wiesen deutlich höhere Wachstumsraten und einen tieferen FCR auf. Keinen Einfluss hatten die Algenfutter auf den Korpulenz-Faktor, die Filetfarbe und die Anzahl Fische, die gestorben sind. Die Leber hatte bei allen Gruppen ungefähr den gleichen Anteil am Gesamtgewicht, während die Milz bei den Gruppen Porph/Nanno und bei Iso/Nanno einen höheren Anteil am Gewicht hatte. Die Fische, welche mit Algenfutter gefüttert wurden, hatten einen höheren Lipidgehalt als die Fische in der Kontrolle, jedoch zeigten die Algenfutter keinen Einfluss auf Trockensubstanz, Bruttoenergie und Aschegehalt.

3.4.4 Physikalische und chemische Wasserparameter

Die Wassertemperatur des Kreislaufs in dem das Kontrollfutter gefüttert wurde, betrug über den gesamten Versuchszeitraum $25.67 \text{ °C} \pm 0.38 \text{ °C}$, diejenige des Kreislaufs mit dem Futter Porph/Nanno $25.78 \text{ °C} \pm 0.34 \text{ °C}$ und diejenige mit dem Futter Iso/Nanno $25.74 \text{ °C} \pm 0.27 \text{ °C}$. Die Temperaturen unterschieden sich zwischen den Kreisläufen nicht signifikant ($\chi^2_2 = 5.00$, $p = 0.08$).

Der mittlere Sauerstoffgehalt lag bei der Kontrolle bei $7.93 \pm 0.68 \text{ mg/L}$, während er bei Porph/Nanno und Iso/Nanno weniger grosse Abweichungen zeigte und tiefer, bei $7.48 \pm 0.12 \text{ mg/L}$, resp. bei $7.55 \pm 0.13 \text{ mg/L}$ lag. Die hohen Werte beim Kreislauf mit dem Kontrollfutter traten aufgrund einer Fehlsteuerung des

Notsauerstoffs auf. Die Sauerstoffgehalte zeigten signifikante Unterschiede ($F_{2,118} = 15.28$, $p < 0.001$) zwischen Kontrolle-Porph/Nanno ($p < 0.001$) und Kontrolle-Iso/Nanno ($p < 0.001$), jedoch keine zwischen Porph/Nanno-Iso/Nanno ($p = 0.80$).

Die Mittelwerte der Leitfähigkeit wiesen in der Kontrolle $727.38 \pm 84.94 \mu\text{S/cm}$ auf. Bei Porph/Nanno lagen sie mit $709.8 \pm 63.03 \mu\text{S/cm}$ leicht darunter, während sie bei Iso/Nanno mit $778.25 \pm 81.61 \mu\text{S/cm}$ am höchsten waren. Auch hier traten signifikante Unterschiede auf ($F_{2,124} = 14.02$, $p < 0.001$): Kontrolle-Porph/Nanno ($p = 0.20$), Kontrolle-Iso/Nanno ($p < 0.001$) und bei Porph/Nanno-Iso/Nanno ($p < 0.001$).

Die pH-Werte zeigten ebenfalls signifikante Unterschiede ($\chi^2_2 = 14.01$, $p < 0.001$). Wieder wies der Kreislauf mit dem Kontrollfutter signifikante Unterschiede zum Kreislauf mit dem Futter Porph/Nanno ($p = 0.002$) und zu dem mit dem Futter Iso/Nanno ($p = 0.013$) auf, während die Kreisläufe in denen Porph/Nanno und Iso/Nanno gefüttert wurde, untereinander keine signifikanten Unterschiede aufwiesen ($p = 0.18$). Die Mittelwerte lagen bei allen Kreisläufen eher hoch, nämlich zwischen 8.05 ± 0.33 in der Kontrolle und 8.24 ± 0.26 bei Porph/Nanno. Der Kreislauf mit dem Futter Iso/Nanno lag mit mittleren pH-Werten von 8.13 ± 0.28 dazwischen (Abbildung 20).

Während des Versuchs wurden 9.15 m^3 Wasser im Kreislauf mit dem Kontrollfutter, 17.95 m^3 bei Porph/Nanno und 6.08 m^3 bei Iso/Nanno ausgetauscht. Der hohe Wert im Kreislauf mit dem Futter Porph/Nanno war auf ein Leck zurückzuführen, welches im Verlaufe des Versuchs auftrat. Die Menge des ausgetauschten Wassers hatte einen Einfluss auf die Menge des zugeführten Salzes: Während in der Kontrolle und bei Iso/Nanno 125 g resp. 100 g NaCl zugegeben wurde, musste im Kreislauf mit dem Futter Porph/Nanno 1300 g NaCl zugegeben werden. Das Auftreten des Lecks ist in der Grafik anhand der sinkenden Leitfähigkeit ersichtlich (Abbildung 20).

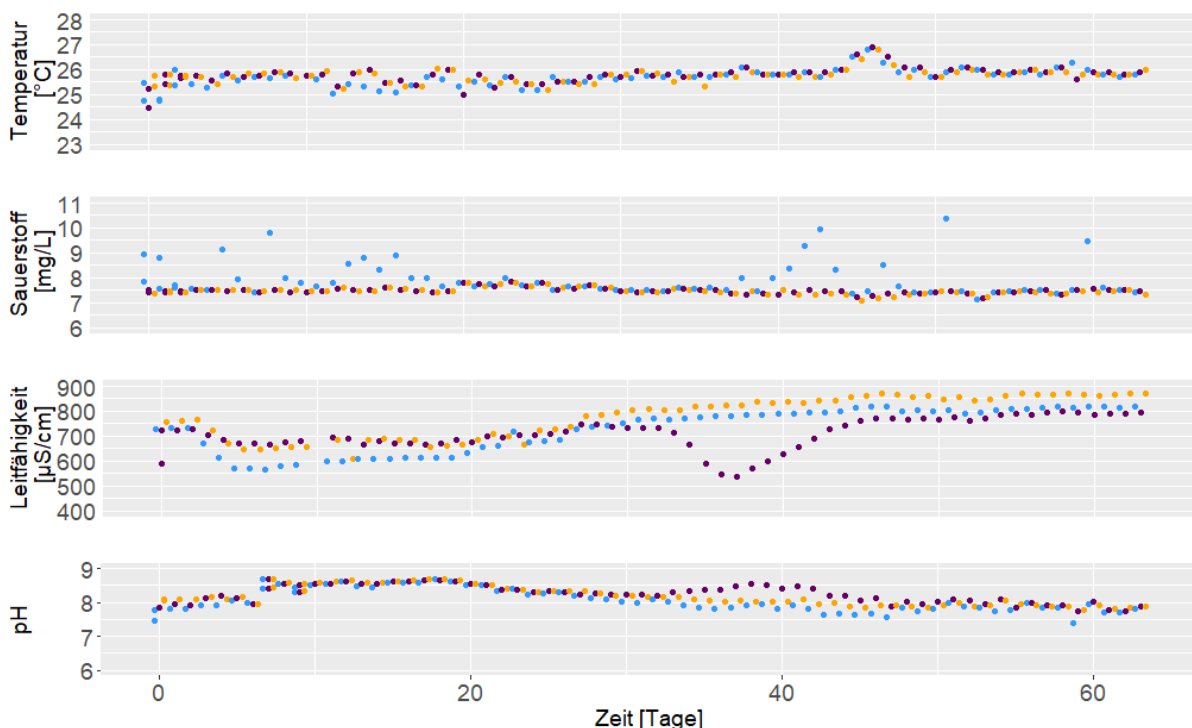


Abbildung 20: Die Wasserparameter Temperatur, Sauerstoffgehalt, Leitfähigkeit und pH dargestellt pro Kreislauf.

Die chemischen Parameter waren allgemein sehr niedrig. Der Ammoniumgehalt schwankte in den ersten drei Versuchswochen leicht über der Nachweisgrenze und erreichte im Kreislauf mit dem Kontrollfutter ein Maximum von $0.035 \text{ mg/L NH}_4\text{-N}$. Beim Kreislauf mit dem Futter Porph/Nanno betrug der höchste Wert $0.023 \text{ mg/L NH}_4\text{-N}$. Im Kreislauf mit dem Futter Iso/Nanno wurden $0.033 \text{ mg/L NH}_4\text{-N}$ erreicht. Während der

restlichen Versuchszeit lag der Ammoniumgehalt in allen Kreisläufen unter der Nachweisgrenze von 0.015 mg/L NH₄-N. Der Nitrit-Gehalt der Kontrolle war zu Beginn des Experiments bei 1.68 mg/L NO₂-N, sank danach während 4 Tagen bis unter die Nachweisgrenze von 0.015 mg/L NO₂-N und blieb für die gesamte Versuchsdauer so tief. In den anderen beiden Kreisläufen befand sich der Wert schon zu Beginn des Experimentes unter der Nachweisgrenze und blieb für den gesamten Versuch unter 0.015 mg/L NO₂-N. Der mittlere Gehalt an Nitrat im Wasser lag in der Kontrolle bei 4.03 ± 0.59 mg/L NO₃-N. Die Werte von Porph/Nanno lagen allgemein am tiefsten bei 2.86 ± 0.58 mg/L NO₃-N. Bei Iso/Nanno waren es 5.54 ± 0.77 mg/L NO₃-N. Gegen Ende des Versuchs stiegen die Werte in der Kontrolle bis auf 5.24 mg/L NO₃-N, bei Porph/Nanno auf 3.32 mg/L NO₃-N und bei Iso/Nanno auf 6.8 mg/L NO₃-N. Beim Nitratgehalt gab es signifikante Unterschiede ($\chi^2_2 = 24.89$, $p < 0.001$) zwischen allen drei Kreisläufen (Kontrolle-Porph/Nanno: $p < 0.001$, Kontrolle-Iso/Nanno: $p < 0.001$, Porph/Nanno-Iso/Nanno: $p < 0.001$).

4 Diskussion

In dieser Studie wurden verschiedene Mikroalgen teilweise selbst produziert, Futtermitteln beigemischt und anhand eines Fütterungsversuches bewertet.

Das verwendete Algen-Kultivierungssystem mit hängenden Säcken ermöglichte eine zufriedenstellende Produktion. Allerdings waren die Wachstumsraten vergleichsweise niedrig. Während das hier erreichte Wachstum von *N. gaditana* 8.5 mg/L pro Tag betrug, ermöglichten andere Kultivierungssysteme Produktivitäten 240 mg/L pro Tag (Richmond und Cheng-Wu, 2001) und 1450 mg/L pro Tag (Zittelli et al., 2000). Bei *P. sordidum* nahm die Biomasse in diesem Versuch pro Tag um 6 mg/L zu, was ebenfalls unter den Literaturangaben von 100-125 mg/L pro Tag (Cohen und Arad, 1989; Oh et al., 2009) liegt.

Für die Produktion von *Nannochloropsis* und *Isochrysis* wurden schon verschiedenste offene und geschlossene Reaktoren verwendet (Molina Grima et al., 1994; Zhang und Richmond, 2003; Zittelli et al., 2000). *Porphyridium* wurde auch schon erfolgreich in Hängesäcken kultiviert (Cohen und Arad, 1989). Daraus kann geschlossen werden, dass die gewählte Methode mit den Hängesäcken eine gute Wahl war, jedoch Optimierungsbedarf besteht. Es fällt auf, dass gute Wachstumsraten und hohe Biomasseerträge durch ein besseres Oberfläche/Volumenverhältnis der Reaktoren, eine stärkere Beleuchtung und durch CO₂-Begasung erzielt wurden (Cohen und Arad, 1989; Richmond und Cheng-Wu, 2001; Zittelli et al., 2000). Damit könnte auch hier eine Verbesserung erzielt werden.

Während die verwendeten Mikroalgen *Nannochloropsis* sp. und *Isochrysis* sp. in der Aquakultur schon bekannt sind (Hemaiswarya et al., 2011; Shields und Lupatsch, 2012), werden Rotalgen, zu denen *Porphyridium* gehört, selten verwendet. Ein Grund für die Unterlassung könnten die Polysaccharide sein, welche das Ernten der Algen erschweren: Rotalgenzellen sind in eine gelartige Polysaccharid-Hülle eingepackt und bilden je nach Art in wässrigen Lösungen durch die Ausscheidung von Polysacchariden viskose Gele aus (Arad et al., 1985; Usov, 2011). Des Weiteren ist noch nicht abschliessend geklärt, ob diese Polysaccharide zytotoxisch wirken können (Gardeva et al., 2008, 2012; Niccolai et al., 2017).

Die Resultate der Inhaltsstoffanalysen aller drei Arten entsprachen grösstenteils den Erwartungen: *N. gaditana* enthielt den grössten Anteil EPA und *Isochrysis* sp. wies viel DHA auf. Es konnte nicht bestätigt werden, dass *Porphyridium* viel ARA und EPA enthielt (Cohen, 1990). Der Aschegehalt von *P. sordidum* war auch im Vergleich mit der Literatur hoch (Matos et al., 2016; Reboloso Fuentes et al., 2000). *Isochrysis* sp. hatte von allen drei Arten den tiefsten Proteingehalt, ein Wert der allerdings in der Spanne von publizierten Messwerten liegt (Batista et al., 2013; Sánchez et al., 1999; Skrede et al., 2011). Da *Isochrysis* sp. als einzige Alge nicht selbst produziert wurde, waren möglicherweise die Kulturbedingungen unterschiedlich: Die Produktion der einzelnen Inhaltsstoffe und ihre Verhältnisse zueinander sind abhängig von verschiedenen Faktoren wie Medium, Licht oder Temperatur und schwanken auch natürlicherweise. Dies zeigt sich auch im Umfang möglicher Lipid- und Kohlenhydratgehalte aller drei Algen (Batista et al., 2013; Converti et al., 2009; Matos et al., 2016; Reboloso Fuentes et al., 2000; Skrede et al., 2011), wobei die hier gemessenen Lipidgehalte von *N. gaditana* und *P. sordidum* eher im oberen Bereich und der Gehalt von *Isochrysis* sp. im unteren Bereich der Vergleichswerte lag. Die gemessenen Kohlenhydratgehalte waren bei allen Algen vergleichsweise hoch.

Das Beifügen der Algen zum Futter ohne die Anteile der Hauptnährstoffe zu verändern war mit den gemessenen Inhaltsstoffen problemlos möglich und die Analyse der drei hier produzierten Fischfutter zeigte eine gute Übereinstimmung mit den für die Formulierung verwendeten Richtwerten (Anhang J, Anhang K). Unerwartet sind die Analysewerte der ungesättigten Fettsäuren im Kontrollfutter, die alle unter der Nachweisgrenze lagen. In den hier formulierten Futtern stammten diese grösstenteils aus dem verwendeten Fischöl, welches auch in den anderen beiden Futtern verwendet wurde. Da dort Fettsäuren nachgewiesen werden konnten, handelte es sich hier offensichtlich um einen Messfehler. Die essentiellen Aminosäurengehalte lagen alle über dem angegebenen Mindestgehalt für Tilapia (Santigo und Lovell, 1988). Cystein, welches beim Futter Porph/Nanno nicht nachgewiesen werden konnte, da es unter dem Messwert lag, ist

keine relevante Aminosäure. Cystein und Methionin sind jedoch die einzigen beiden Aminosäuren, die Schwefel enthalten. Den Bedarf an Schwefel können die Fische aus Methionin alleine oder aus einem Gemisch von Methionin und Cystein decken (Webster und Lim, 2002). Da in den vorliegenden Futtern überall genügend Methionin nachgewiesen werden konnte, wird davon ausgegangen, dass das Fehlen von Cystein beim Futter Porph/Nanno keinen entscheidenden Einfluss hatte.

Das hier produzierte Futter sank im Wasser, während viele Futter für Tilapia, welche auf dem Markt angeboten werden, schwimmen. Da Tilapia aber omnivor sind, stellt dies kein Problem dar (Fitzsimmons, 1997). Dies konnte hier bestätigt werden: Die Tiere gewöhnten sich schnell an das neue Futter und nahmen es auch vom Boden auf. Die Midi-Pellets wurden jeweils innerhalb von 10 min gefressen (unveröffentlichte Beobachtung). Bei den kleineren Futtergrößen war dies schwieriger zu beurteilen, da die Partikel im Wasser nicht sichtbar waren.

Im durchgeführten Experiment wuchsen die Fische, welche mit Algenfutter gefüttert wurden, besser als die in der Kontrolle. Dies kontrastiert mit anderen Studien, in welchen oft kein Unterschied zwischen Kontrolle und Algenfutter gefunden wurde oder wo ein erhöhter Anteil Algen im Futter einen negativen Effekt auf das Wachstum hatte (Azaza et al., 2008a; Fasakin et al., 1999; Olvera-Novoa et al., 1998). In dieser Studie wurde ein eher tiefer Anteil Algen im Futter verwendet. Daher wird davon ausgegangen, dass die Zugabe von Algen sowohl positive als auch negative Auswirkungen auf die Futterqualität hat, diese aber gegenläufig sind und je nach Algenanteil unterschiedlich wirken. Dass ein geringer Anteil Algen das Futter im Vergleich zur Kontrolle verbessern kann, konnte auch mit *Ulva* gezeigt werden (Ergün et al., 2009).

Bei den Endgewichten und den berechneten Wachstumsraten erreichten die Algenfutter deutlich höhere Werte als die Kontrollgruppe. Die vorliegenden Wachstumsraten von 4.4 bis 5.3 % pro Tag lagen jedoch allgemein eher über dem Durchschnitt anderer Fütterungsstudien, welche eine SWR zwischen 1 bis 5 % aufwiesen (Azaza et al., 2008a; Badwy et al., 2008; Ergün et al., 2009; Fasakin et al., 1999; Olvera-Novoa et al., 1998). Bei anderen Studien mit Tilapien, welche konventionelles Futter einsetzten, wurden leicht höhere Wachstumsraten zwischen 6 und 7 % pro Tag erreicht (Azaza et al., 2008b; El-Sayed und Kawanna, 2008).

Die Korpulenz der Fische nahm im Verlauf des Experiments zu, was auf eine gut verlaufende Mast (Azaza et al., 2008b; Likongwe et al., 1996) und allometrisches Wachstum hinweist (Nehemia et al., 2012; Shahabuddin et al., 2015). Es gab jedoch keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Futtern, obwohl die Gewichte der Fische unterschiedlich waren. Dieses Resultat fand sich in keiner anderen Studie, in einer Studie konnte bis 30 % des Proteins durch Baumwollsamens-Protein ersetzt werden, ohne dass es einen nachweisbaren Unterschied im k-Faktor gab, wobei jedoch auch die Gewichte der Fische nicht unterschiedlich waren (Yue und Zhou, 2008). Bei einer anderen Studie wurde nur der k-Faktor, jedoch nicht die Gewichte angegeben (Hough et al., 2015).

Die gemessenen FCR-Werte sind mit kommerziell erhältlichen Futtern vergleichbar (Azaza et al., 2008b; El-Sayed und Kawanna, 2008) und weisen darauf hin, dass das hier verwendete, selbstproduzierte Futter von guter Qualität war. Dies zeigte sich ebenfalls in der Proteineffizienz die mit kommerziellem Futter vergleichbar ist und im Bereich anderer publizierter Resultate liegt (El-Sayed, 1998; Fasakin et al., 1999). Fütterungsstudien welche *Chlorella*, *Scenedesmus* oder *Ulva*-Mehl im Fischfutter testeten, erreichten eher tiefere PER um 1-1.7 (Badwy et al., 2008; Ergün et al., 2009). Für die berechnete Energie- und Lipideffizienz konnten keine Vergleichswerte gefunden werden.

Mit einer Ausfallrate von rund 20 % lag das durchgeführte Experiment eher über dem Durchschnitt von Studien mit Tilapia- Larven oder -Fingerlingen, wo Ausfallraten von 0 (Coyle et al., 2004) bis 20% (El-Sayed und Kawanna, 2008) auftraten, wobei aber auch höhere Ausfälle durchaus vorkommen (Azaza et al., 2008b; Olvera-Novoa et al., 1998). Bei den Fütterungsstudien wurde, wie bei dem vorliegenden Experiment, nie einen Zusammenhang zwischen Ausfallrate und Algenanteil im Futter festgestellt. Es wird davon ausgegangen, dass die Ausfälle auf die Aggressionen in der Gruppe zurückzuführen sind. Eine Studie kam zum Schluss, dass die Aggressionen bei einer Biomassendichte von 8.1-12.1 kg/m³ am geringsten sind, wodurch

die Ausfallrate auf unter 7 % gesenkt werden konnte (Evans et al., 2008). Solch hohe Dichten wurden im vorliegenden Versuch nicht erreicht. Jedoch widerspricht die Zunahme der Anzahl Ausfälle während dem Versuch der These, dass eine Zunahme der Dichte die Aggressionen verringert hätten.

Im Vergleich zu anderen Studien waren die HSI eher hoch. Während hier Werte um 4 % erreicht wurden, lagen sie bei anderen Studien bei 1.5-2.9 % (Aiura und Barbieri de Carvalho, 2007; Azaza et al., 2008a; Chen et al., 2013; Yue und Zhou, 2008). Der HSI der Kontrollfische anderer Studien lag bei ungefähr 2 %, was darauf hinweist, dass die Werte der vorliegenden Studie erhöht waren. Das Lebergewicht kann einerseits die Energiereserven eines Tieres anzeigen, also auf ein Energiedefizit oder einen Überschuss hinweisen. Andererseits können höhere HSI auch auf ein erhöhtes Stresslevel aufgrund von Toxinen im Futter oder im Wasser hindeuten (Slooff et al., 1983). Da alle Fische des Versuchs erhöhte Lebergewichte hatten, können die Algen als mögliche Toxin-Quelle ausgeschlossen werden. Es wird davon ausgegangen, dass kein anderer Inhaltsstoff des Futters mit Toxinen belastet war. Des Weiteren wurde nur Salz und Frischwasser in die Systeme gegeben, bei welchen ebenfalls eine Belastung ausgeschlossen werden kann. Es wird daher vermutet, dass die hohen Werte auf einen Energieüberschuss hinweisen und die Fische verfettete Lebern hatten. Diese Vermutung konnte durch die Bachelorthesis von A. Seitz (2017b) bestätigt werden.

Die Werte des SSI waren ebenfalls eher hoch im Vergleich zu anderen Studien. Die Werte der Kontrollgruppen lagen bei der Mehrheit der Studien zwischen 0.1 und 0.25 % (Hough et al., 2016; Kareem et al., 2016; Tang et al., 2017), während sie in diesem Versuch zwischen 0.4 % und 0.8 % lagen. Ein erhöhter SSI wird ebenfalls als Index für ein gesteigertes Stresslevel betrachtet. Irritierend ist, dass die Gruppe Iso/Nanno, welche am besten wuchs, die höchsten SSI-Werte hatte. Weitere histologische Abklärungen wären nötig, um in dieser Hinsicht eine genauere Aussage machen zu können.

Die Algenfutter hatten keinen nachweisbaren Einfluss auf die Fleischfarbe. Grund dafür könnten die geringen Mengen Algen im Futter sein. Eine Studie, bei welcher Nil-Tilapia ausschliesslich mit *Arthrospira platensis* gefüttert wurden, berichtet über eine Verbesserung der Fleischfarbe, da *Spirulina* hohe Gehalte an verschiedenen Karotinoiden aufweist (Lu et al., 2003). In einer anderen Studie, in der dem Futter als Fischmehlersatz *Spirulina maxima* beigegeben wurde, konnte jedoch kein Einfluss auf die Fleischfarbe festgestellt werden. Dabei wurde diskutiert, dass eventuell die Versuchszeit (ebenfalls 9 Wochen) zu kurz war, um einen Einfluss auf die Fleischfarbe hervorzurufen (Olvera-Novoa et al., 1998). Dies könnte auch hier ein möglicher Grund gewesen sein.

Die Algenfutter hatten, ausser beim Lipidgehalt, keinen Einfluss auf die Nährstoffzusammensetzung der Fische. Die Werte der Trockensubstanz der Fische zeigten keine Unterschiede, was sich mit einer Studie deckt, welche tierisches Protein durch Algenprotein ersetzte (Olvera - Novoa et al., 1998). Zwei weitere Studien welche mit *Ulva*-Mehl Versuche machten, fanden beim Algenfutter eine höhere Trockensubstanz als bei der Kontrolle (Azaza et al., 2008a; Ergün et al., 2009). Die Lipidwerte waren in der vorliegenden Studie im Algenfutter höher als in der Kontrolle. Dieses Resultat ist gegenteilig zu zwei Studien, bei welchen der Lipidgehalt mit zunehmendem Algengehalt abnahm (Azaza et al., 2008a; Ergün et al., 2009). Der Aschegehalt veränderte sich durch die Zugabe der Algen nicht signifikant. Dieses Resultat deckt sich mit zwei anderen Studien (Azaza et al., 2008a; Yue und Zhou, 2008), während bei einer anderen Studie, der Aschegehalt mit zunehmendem Algengehalt abnahm (Olvera-Novoa et al., 1998). Auffällig war, dass die Trocken- und Lipidgehalte im Vergleich mit der Literatur hoch waren (Azaza et al., 2008b; Ergün et al., 2009; Olvera-Novoa et al., 1998; Yue und Zhou, 2008). Die Aschegehalte lagen im Bereich publizierter Werte (Azaza et al., 2009; Chen et al., 2013; Ergün et al., 2009).

Experimente mit Tilapia werden oft bei 27 ± 1 °C oder höheren Temperaturen durchgeführt (Abdel-Tawwab et al., 2010; Azaza et al., 2008a; Mamun et al., 2007), während hier eine Temperatur von 25.7 °C eingehalten wurde. Mehrere Studien belegen, dass Tilapia zwar bei höheren Temperaturen besser wachsen, jedoch bei Temperaturen zwischen 25 °C und 30 °C kein signifikanter Unterschied im Wachstum auftritt (Azaza et al.,

2008b; El-Sayed und Kawanna, 2008; El-Sherif und El-Feky, 2009). Zudem fand eine Studien heraus, dass Tilapien in Frischwasser (< 0.5 g/L NaCl) bei 24 °C am besten wuchsen (Likongwe et al., 1996).

Jedes Futter wurde in einem getrennten Kreislaufsystem eingesetzt. Dieses Design wurde gewählt, um zu verhindern, dass es zu einer gegenseitigen Beeinflussung der Futter über lösliche Inhaltstoffe kommt. Dieses Design hatte allerdings zur Folge, dass Unterschiede zwischen den Kreislaufsystemen nicht von futterbedingten Unterschieden getrennt werden konnten. Im Folgenden soll darauf eingegangen werden.

Die Wassertemperaturen in allen drei Systemen lagen eng beieinander und zeigten keine signifikanten Unterschiede, wodurch temperaturbedingte Effekte unwahrscheinlich sind.

Die berechneten Salz-Konzentrationen lagen im Bereich von 0.01 und 0.05 g/L NaCl, die Unterschiede, welche zwar signifikant waren, sind hier vernachlässigbar klein, da Tilapien in 4 g/L bis zu 12 g/L NaCl ein gutes Wachstum zeigen (Iqbal et al., 2012; Likongwe et al., 1996; Watanabe et al., 1989).

Die Werte des Sauerstoffs zeigten zwar signifikante Unterschiede zwischen den Systemen, allerdings sind diese kaum von biologischer Relevanz, da die Sättigung in keinem System je unter 99 % sank. Erst Sauerstoffsättigungen unter 40 % haben eine Gewichtsreduktion zur Folge (Papoutsoglou und Tziha, 1996; Tran-Duy et al., 2008).

Die pH-Werte waren mit bis zu 8.24 in einem Bereich in welchen ein negativer Effekt auf das Fischwachstum möglich ist (siehe El-Sherif und El-Feky, 2009), wo allerdings erst bei einem pH von 9 starke Effekte gezeigt wurden. Allerdings entspricht der erwartete Effekt nicht den beobachteten Wachstumsunterschieden, da im Kreislaufsystem in welchem mit Kontrollfutter gearbeitet wurde, die tiefsten Werte (8.05) gemessen wurden. Damit ist es eher unwahrscheinlich, dass der pH das gute Abschneiden der algenbasierten Futter erklärt, da wenn überhaupt der gegenteilige Effekt eintreten sollte.

Des Weiteren wird erwähnt, dass ein pH > 8 vor allem dann relevant für die Fische ist, wenn eine Ammoniumbelastung von 0.1 mg/L und höher vorliegt, da dann der Ammoniakgehalt den Grenzwert von 0.01 mg/L überschreitet (El-Shafai et al., 2004; El-Sherif und El-Feky, 2008). Ammoniumgehalte um 0.1 mg/L wurden während des gesamten Experiments nie erreicht.

Neben Ammonium ist auch Nitrit giftig für die Fische. Dieser Wert sollte unter 5 mg/L liegen (Losordo, 1997), obwohl Tilapien von 2 g kurzfristig Werte bis ungefähr 15 mg/L NO₂-N bei einer Chlorid-Konzentration von 35 g/L überleben (Yanbo et al., 2006). Solch hohe Nitrit-Belastungen wurden während dem Versuch nie erreicht. Ebenfalls waren die Nitratwerte zwar zwischen den Kreisläufen unterschiedlich, jedoch alle nicht in einem relevanten Bereich für Tilapia.

Zusammenfassend kann also mit grosser Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, dass die beobachteten Wachstumsunterschiede zwischen den Futtern durch Unterschiede in pH, Salinität, Sauerstoff oder den chemischen Wasserwerten erklärt werden können. Die beobachteten Unterschiede in den Parametern waren entweder zu klein (Salinität, Sauerstoff) würden einen gegenteiligen Effekt haben (pH) oder lagen nicht in einem für Tilapia relevanten Bereich (Ammonium, Nitrit und Nitrat).

Mit der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass sich die Algen *Nannochloropsis gaditana*, *Porphyridium sordidum* und *Isochrysis sp.* zur Futtermittelbeimischung eignen und die Qualität des Futters steigern können. Der Einsatz von Mikroalgen in Fischfutter ist eine vielversprechende Lösung um die gesamte Wertschöpfungskette der Fischproduktion nachhaltiger zu gestalten und damit die Zukunftsfähigkeit der Aquakultur weiter zu verbessern.

5 Literatur

- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Khattab, Y.A.E. und Shalaby, A.M.E. (2010). Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 298, 267–274.
- Aiura, F.S. und Barbieri de Carvalho, M.R.B. (2007). Body lipid deposition in Nile tilapia fed on rations containing tannin. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 42, 50–56.
- Arad, S.M., Adda, M. und Cohen, E. (1985). The potential of production of sulfated polysaccharides from *Porphyridium*. *Plant Soil* 89, 117–127.
- Azaza, M.S., Mensi, F., Ksouri, J., Dhraïef, M.N., Brini, B., Abdelmouleh, A. und Kraïem, M.M. (2008a). Growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed with diets containing graded levels of green algae ulva meal (*Ulva rigida*) reared in geothermal waters of southern Tunisia. *J. Appl. Ichthyol.* 24, 202–207.
- Azaza, M.S., Dhraïef, M.N. und Kraïem, M.M. (2008b). Effects of water temperature on growth and sex ratio of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) reared in geothermal waters in southern Tunisia. *J. Therm. Biol.* 33, 98–105.
- Azaza, M.S., Wassim, K., Mensi, F., Abdelmouleh, A., Brini, B. und Kraïem, M.M. (2009). Evaluation of faba beans (*Vicia faba* L. var. *minuta*) as a replacement for soybean meal in practical diets of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 287, 174–179.
- Badwy, T.M., Ibrahim, E.M. und Zeinhom, M.M. (2008). Partial replacement of fish meal with dried microalga (*Chlorella* spp and *Scenedesmus* spp) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. In *From the Pharaohs to the Future: Proceedings of the 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, (Egypt Ministry of Agriculture Cairo), pp. 801–810.
- Batista, A.P., Gouveia, L., Bandarra, N.M., Franco, J.M. und Raymundo, A. (2013). Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food products. *Algal Res.* 2, 164–173.
- Bischof, F. (2012). *Biogas aus Algenbiomasse* (Amberg: Hochschule Amberg-Weiden).
- Chen, M.-Y., Ye, J.-D., Yang, W. und Wang, K. (2013). Growth, Feed Utilization and Blood Metabolic Responses to Different Amylose-amylopectin Ratio Fed Diets in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26, 1160–1171.
- Cohen, Z. (1990). The production potential of eicosapentaenoic and arachidonic acids by the red alga *Porphyridium cruentum*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67, 916–920.
- Cohen, E. und Arad, S.M. (1989). A closed system for outdoor cultivation of *Porphyridium*. *Biomass* 18, 59–67.
- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P. und Del Borghi, M. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 48, 1146–1151.
- Coyle, S.D., Mengel, G.J., Tidwell, J.H. und Webster, C.D. (2004). Evaluation of growth, feed utilization, and economics of hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*, fed diets containing different protein sources in combination with distillers dried grains with solubles. *Aquac. Res.* 35, 365–370.
- El-Sayed, A.-F.M. (1998). Total replacement of fish meal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), feeds. *Aquac. Res.* 29, 275–280.

- El-Sayed, A.-F.M. und Kawanna, M. (2008). Optimum water temperature boosts the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fryreared in a recycling system. *Aquac. Res.* 39, 670–672.
- El-Shafai, S.A., El-Gohary, F.A., Nasr, F.A., van der Steen, N.P. und Gijzen, H.J. (2004). Chronic ammonia toxicity to duckweed-fed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 232, 117–127.
- El-Sherif, M.S. und El-Feky, A.M. (2008). Effect of ammonia on Nile tilapia (*O. nilotius*) performance and some hematological and histological measures. 8 Th Int. Symp. Tilapia Aquac. 513–530.
- El-Sherif, M.S. und El-Feky, A.M. (2009). Performance of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Fingerlings. *Int. J. Agric. Biol.* 11, 297–305.
- Ergün, S., Soyutürk, M., Güroy, B., Güroy, D. und Merrifield, D. (2009). Influence of Ulva meal on growth, feed utilization, and body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. *Aquac. Int.* 17, 355.
- Evans, J.J., Pasnik, D.J., Horley, P., Kraeer, K. und Klesius, P.H. (2008). Aggression and Mortality among Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Maintained in the Laboratory at Different Densities. *U. S. Departement Agric.* 2, 57–64.
- Fasakin, E.A., Balogun, A.M.v Fasuru, B.E. (1999). Use of duckweed, *Spirodela polyrrhiza* L. Schleiden, as a protein feedstuff in practical diets for tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquac. Res.* 30, 313–318.
- Fitzsimmons, K. (1997). Americas Tilapia Alliance – Introduction to Tilapia Nutrition.
- Gardeva, E., Toshkova, R., Toncheva-Panova, T., Georgieva, J. und Krasteva, I. (2008). Protective effect of *Dixonella grisea* (Rhodophyta) polysaccharide against myeloid graft tumor in hamsters. *Pharmacologyonline* 2, 22–40.
- Gardeva, E., Toshkova, R., Yossifova, L., Minkova, K. und Gigova, L. (2012). Cytotoxic and Apoptogenic Potential of Red Microalgal Polysaccharides. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 26, 3167–3172.
- Hasan, M.R. und Chakrabarti, R. (2009). Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture (Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations).
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Kumar, R.R., Ganesan, V. und Anbazhagan, C. (2011). Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World J Microbiol Biotechnol* 1737–1746.
- Holt, G.J. (1993). Feeding Larval Red Drum on Microparticulate Diets in a Closed Recirculating Water System1. *J. World Aquac. Soc.* 24, 225–230.
- Hough, T., Quasim, M., Glaze, C., Blumenthal, E. und Mustafa, A. (2015). Effects of Omega - 3 Fatty Acid Supplementation on Aquaponic System-raised Tilapia. *Bioeng. Biosci.* 3, 83–89.
- Hough, T., Glaze, C., Blumenthal, E. und Mustafa, A. (2016). Effects of omega-3 fatty acid supplementation on aquaponics system-raised tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) growth, physiology, and immunology. *J. Appl. Aquac.* 28, 119–130.
- Huonder, T. (2017). Verwendung von Mikroalgen für die Fischfutterherstellung - Ökotoxikologische Untersuchung der Mikroalgen. Semesterarbeit, unveröffentlicht. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften.
- Iqbal, K.J., Qureshi, N.A., Ashraf, M., Rehman, M.H.U., Khan, N., Javid, A., Abbas, F., Mushtaq, M.M.H., Rasool, F. und Majeed, H. (2012). Effect of different salinity levels on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *JAPS J. Anim. Plant Sci.* 22, 919–922.

- Jackson, A. (2012). Fishmeal and Fish oil and their role in Sustainable Aquaculture.
- Jackson, A. (2013). The future market for algae in aquaculture diets.
- Kareem, Z.H., Abdelhadi, Y.M., Christianus, A., Karim, M. und Romano, N. (2016). Effects of some dietary crude plant extracts on the growth and gonadal maturity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their resistance to *Streptococcus agalactiae* infection. *Fish Physiol. Biochem.* 42, 757–769.
- Lang, I., Hodac, L., Friedl, T. und Feussner, I. (2011). Fatty acid profiles and their distribution patterns in microalgae: a comprehensive analysis of more than 2000 strains from the SAG culture collection. *BMC Plant Biol.* 11, 1–16.
- Likongwe, J.S., Stecko, T.D., Stauffer Jr., J.R. und Carline, R.F. (1996). Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture* 146, 37–46.
- Losordo, T.M. (1997). Tilapia culture in intensive recirculating systems. *Tilapia Aquac. Am.* 1, 185–211.
- Lu, J., Takeuchi, T. und Ogawa, H. (2003). Flesh quality of tilapia *Oreochromis niloticus* fed solely on raw *Spirulina*. *Fish. Sci.* 69, 529–534.
- Mamun, S.M., Focken, U. und Becker, K. (2007). Comparative digestion efficiencies in conventional, genetically improved and genetically male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquac. Res.* 38, 381–387.
- Matos, Â.P., Feller, R., Moecke, E.H.S., Oliveira, J.V. de, Junior, A.F., Derner, R.B. und Sant'Anna, E.S. (2016). Chemical Characterization of Six Microalgae with Potential Utility for Food Application. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 93, 963–972.
- Molina Grima, E., Sánchez Pérez, J.A., García Camacho, F., García Sánchez, J.L., Acien Fernández, F.G. und López Alonso, D. (1994). Outdoor culture of *Isochrysis galbana* ALII-4 in a closed tubular photobioreactor. *J. Biotechnol.* 37, 159–166.
- Mustafa, M.G. und Nakagawa, H. (1995). A review: Dietary benefits of algae as an additive in fish feed. *J Aquacult Bamidgeh* 47, 155–162.
- Nehemia, A., Maganira, J.D. und Rumisha, C. (2012). Length-Weight relationship and condition factor of tilapia species grown in marine and fresh water ponds. *Agric. Biol. J. N. Am.* 3, 117–124.
- Niccolai, A., Bigagli, E., Biondi, N., Rodolfi, L., Cinci, L., Luceri, C. und Tredici, M.R. (2017). In vitro toxicity of microalgal and cyanobacterial strains of interest as food source. *J. Appl. Phycol.* 29, 199–209.
- Oh, S.H., Han, J.G., Kim, Y., Ha, J.H., Kim, S.S., Jeong, M.H., Jeong, H.S., Kim, N.Y., Cho, J.S., Yoon, W.B., et al. (2009). Lipid production in *Porphyridium cruentum* grown under different culture conditions. *J. Biosci. Bioeng.* 108, 429–434.
- Olvera-Novoa, M.A., Domínguez-Cen, L.J., Olivera-Castillo, L. und Martínez-Palacios, C.A. (1998). Effect of the use of the microalga *Spirulina maxima* as fish meal replacement in diets for tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters), fry. *Aquac. Res.* 29, 709–715.
- Papoutsoglou, S.E. und Tziha, G. (1996). Blue tilapia (*Oreochromis aureus*) growth rate in relation to dissolved oxygen concentration under recirculated water conditions. *Aquac. Eng.* 15, 181–192.
- People Le Ruyet, J., Alexandre, J.C., Thébaud, L. und Mugnier, C. (1993). Marine Fish Larvae Feeding: Formulated Diets or Live Prey? *J. World Aquac. Soc.* 24, 211–224.

- Reboloso Fuentes, M.M., Acien Fernández, G.G., Sánchez Pérez, J.A. und Guil Guerrero, J.L. (2000). Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chem.* 70, 345–353.
- Richmond, A. und Cheng-Wu, Z. (2001). Optimization of a flat plate glass reactor for mass production of *Nannochloropsis* sp. outdoors. *J. Biotechnol.* 85, 259–269.
- Rosenlund, G., Stoss, J. und Talbot, C. (1997). Co-feeding marine fish larvae with inert and live diets. *Aquaculture* 155, 183–191.
- Sánchez, S., Martínez, M.-E. und Espinola, F. (1999). Biomass production and biochemical variability of the marine microalga *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. *Biochem. Eng. J.* 6, 13–18.
- Santiago, C.B., Aldaba, M.B., Abuan, E.F. und Laron, M.A. (1985). The effects of artificial diets on fry production and growth of *Oreochromis niloticus* breeders. *Aquaculture* 47, 193–203.
- Santiago, C.B., Aldaba, M.B. und Reyes, O.S. (1987). Influence of feeding rate and diet form on growth and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry. *Aquaculture* 64, 277–282.
- Santiago, C.B. und Lovell, R.T. (1988). Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *J. Nutr.* 118, 1540–1546.
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D. und Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture* 177, 191–199.
- Sargent, J.R., McEvoy, L.A. und Bell, J.G. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture* 155, 117–127.
- Seitz, A. (2017a). Verwendung von Mikroalgen für die Fischfutterherstellung – Nährstoffzusammensetzung und Analyse von drei verschiedenen Mikroalgen (*Nannochloropsis gaditana*, *Isochrysis galbana*, *Porphyridium sordidum*). Semesterarbeit, unveröffentlicht. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften.
- Seitz, A. (2017b). Einfluss von Mikroalgen-Fütterung auf das Wachstum und die Gesundheit von Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Bachelorthesis, unveröffentlicht. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften.
- Shahabuddin, A.M., Khan, N.M.D., Shaha, D., Ayna, E., Wonkwon, K., Murray, W.W., Yoshimatsu, T. und Araki, T. (2015). Length-weight Relationship and Condition Factor of Juvenile Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) Fed Diets with *Pyropia* spheroplasts in Closed Recirculating System. *Asian Fish. Sci.* 28, 117–129.
- Shields, R.J. und Lupatsch, I. (2012). Algae for aquaculture and animal feeds. *J Anim Sci* 21, 23–37.
- Skrede, A., Mydland, L.T., Ahlstrøm, Ø., Reitan, K.I., Gislerød, H.R. und Øverland, M. (2011). Evaluation of microalgae as sources of digestible nutrients for monogastric animals. *J. Anim. Feed Sci.* 20, 131–142.
- Slooff, W., Van Kreijl, C.F. und Baars, A.J. (1983). Relative liver weights and xenobiotic-metabolizing enzymes of fish from polluted surface waters in the Netherlands. *Aquat. Toxicol.* 4, 1–14.
- Tacon, A.G. und Metian, M. (2008). Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* 285, 146–158.
- Tang, L., Huang, K., Xie, J., Yu, D., Sun, L., Huang, Q. und Bi, Y. (2017). Dietary copper affects antioxidant and immune activity in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*). *Aquac. Nutr.* 1–13.

- Tran-Duy, A., Schrama, J.W., van Dam, A.A. und Verreth, J.A.J. (2008). Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 275, 152–162.
- Tzovenis, I., Pauw, N.D. und Sorgeloos, P. (1997). Effect of different light regimes on the docosahexaenoic acid (DHA) content of *Isochrysis aff. galbana* (clone T-ISO). *Aquac. Int.* 5, 489–507.
- Usov, A.I. (2011). Polysaccharides of the red algae. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 65, 115–217.
- Valente, L.M.P., Gouveia, A., Rema, P., Matos, J., Gomes, E.F. und Pinto, I.S. (2006). Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 252, 85–91.
- Walford, J., Lim, T.M. und Lam, T.J. (1991). Replacing live foods with microencapsulated diets in the rearing of seabass (*Lates calcarifer*) larvae: do the larvae ingest and digest protein-membrane microcapsules? *Aquaculture* 92, 225–235.
- Walker, A.B. und Berlinsky, D.L. (2011). Effects of Partial Replacement of Fish Meal Protein by Microalgae on Growth, Feed Intake and Body Composition of Atlantic Cod. *North Am. J. Aquac.* 73, 76–83.
- Walker, A.B., Fournier, H.R., Neefus, C.D., Nardi, G.C. und Berlinsky, D.L. (2009). Partial Replacement of Fish Meal with Laver *Porphyra* spp. in Diets for Atlantic Cod. *North Am. J. Aquac.* 71, 39–45.
- Wassef, E.A., El Masry, M.H. und Mikhail, F.R. (2001). Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L., fingerlings by feeding algal meal-based diets. *Aquac. Res.* 32, 315–322.
- Wassef, E.A., El-Sayed, A.F.M., Kandeel, K.M. und Sakr, E.M. (2005). Evaluation of *Pterocladia* (Rhodophyta) and *Ulva* (Chlorophyta) meals as additives to gilthead seabream *Sparus aurata* diets. *Egypt. J. Aquat. Res.* 31, 321–332.
- Watanabe, W.O., French, K.E., Ernst, D.H., Olla, B.L. und Wicklund, R.I. (1989). Salinity During Early Development Influences Growth and Survival of Florida Red Tilapia in Brackish and Seawater. *J. World Aquac. Soc.* 20, 134–142.
- Webster, C.D. und Lim, C. (2002). *Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture* (Cabi Publishing).
- Woche, H. (2010). Überprüfung der Fischart Rutte (*Lota lota* L.) für Zwecke der Speisefischproduktion (Bayern: Landesanstalt für Landwirtschaft, Abt. Förderwesen und Fachrecht).
- Yanbo, W., Wenju, Z., Weifen, L. und Zirong, X. (2006). Acute toxicity of nitrite on tilapia (*Oreochromis niloticus*) at different external chloride concentrations. *Fish Physiol. Biochem.* 32, 49.
- Yone, Y., Furuichi, M. und Urano, K. (1986). Effects of Dietary Wakame *Undaria penatifida* and *Ascophyllum nodosum* Supplements on Growth, Feed Efficiency and Proximate Compositions of Liver and Muscle of Red Sea Bream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 52, 1465–1468.
- Yue, Y.-R. und Zhou, Q.-C. (2008). Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture* 284, 185–189.
- Zhang, C.W. und Richmond, A. (2003). Sustainable, High-Yielding Outdoor Mass Cultures of *Chaetoceros muelleri* var. *subsalsum* and *Isochrysis galbana* in Vertical Plate Reactors. *Mar. Biotechnol.* 5, 302–310.

Zittelli, G.C., Pastorelli, R. und Tredici, M.R. (2000). A Modular Flat Panel Photobioreactor (MFPP) for indoor mass cultivation of *Nannochloropsis* sp. under artificial illumination. J. Appl. Phycol. 12, 521–526.

Anhangsverzeichnis

Anhang A: Algenmedien F/2 und L1

Anhang B: Anleitung Bau Bioreaktor

Anhang C: Kontamination von *N. gaditana* in den Kulturen von *P. sordidum*

Anhang D: Herkunft der Fischfutterzutaten

Anhang E: Rezepte der drei selbsthergestellten Fischfutter

Anhang F: Tierversuchsantrag

Anhang G: Schematischer Aufbau der verwendeten Kreislaufanlagen

Anhang H: Berechnete Korrelation zwischen Standardlänge und Gewicht der Fische

Anhang I: Analysebericht der Algen

Anhang J: Mit dem Futterberechnungsprogramm errechnete Inhaltsstoffe der drei Fischfutter

Anhang K: Analysebericht der Fischfutter

Anhang L: Analysebericht des Kots

Anhang M: Aufgabenstellung

Anhang N: Pagiatserklärung und Einverständnis zur Digitalcollection

Anhang A Algenmedien F/2 und L1

F/2 Medium (Anleitung in Englisch)

Directions

For marine algae that require salinities at 48 ppt.

For 1 L Total

1. Dissolve 15 g of natural sea-salt in approximately 900 mL of non-pasteurized seawater (30-35 ppt).
 2. Add each of the components in the order specified (except vitamins) while stirring continuously.
 3. Bring total volume to 1 L with non-pasteurized seawater.
- *For 1.5% agar medium add 15 g of agar into the flask; do not mix.
4. Cover and autoclave medium.
 5. Store at refrigerator temperature.

	Component	Amount	Stock Solution Concentration	Final Concentration
1	Seawater (non-sterilized)	1 L		
2	Natural sea-salt	15 g/L		
3	NaNO ₃ (Fisher BP360-500)	1 mL → 0.075g pro Liter	7.5 g/100 mL dH ₂ O	880 μM
4	NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O(MCIB 742)	1 mL → 0.005 g pro Liter	0.5 g/100 mL dH ₂ O	36 μM
5	Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O (Sigma-Aldrich 307815)	1 mL → 0.02g pro Liter	2 g/100 mL dH ₂ O 20g/L	70 μM
6	Trace Metals Solution	1 mL/L		
7	Vitamin B ₁₂	1 mL/L		
8	Biotin Vitamin Solution	1 mL/L		
9	Thiamine Vitamin Solution	1 mL/L		

Trace Metals Solution

Directions

For 1 L Total

1. Begin stirring and heating approximately 950 mL of dH₂O.
2. When the stirring water approaches the boiling point, add the following components in the order listed.
3. Bring the volume to 1 L with dH₂O.
4. Store at refrigerator temperature.

#	Component	Amount	Final Concentration
1	ZnSO ₄ ·7H ₂ O (Sigma-Aldrich Z 0251)	23 mg/L	0.08 μM
2	MnSO ₄ ·H ₂ O (Sigma-Aldrich M8179)	152 mg/L	0.9 μM
3	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O (J.T. Baker 3764)	7.3 mg/L	0.03 μM
4	CoSO ₄ ·7H ₂ O (Baker 1696)	14 mg/L	0.05 μM
5	CuCl ₂ ·2H ₂ O (Fisher C-455)	6.8 mg/L	0.04 μM

6	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ·6H ₂ O (Sigma-Aldrich F-1513)	4.6 g/L	11.7 μM
7	Na ₂ EDTA·2H ₂ O (Sigma-Aldrich ED255)	4.4 g/L	11.7 μM

Vitamin B₁₂

Directions

For 200 mL Total

1. Prepare 200 mL of HEPES buffer (50 mM).
2. Adjust the pH to 7.8.
3. Add Vitamin B₁₂ (0.1 mM) wait until fully dissolved.
4. Sterilize by 0.45 μm Millipore filter. Store in dark at freezer temperature.

** The amount of vitamins added can vary from medium to medium so the final concentration is not listed.

#	Component	Amount
1	HEPES buffer pH 7.8 (Sigma-Aldrich H-3375)	2.4 g/200 mL dH ₂ O
2	Vitamin B ₁₂ (cyanocobalamin, (Sigma-Aldrich V-6629)	0.027 g/200 mL dH ₂ O

Biotin Vitamin Solution

Directions

For 200 mL Total

1. Prepare 200 mL of HEPES buffer (50 mM).
2. Adjust the pH to 7.8.
3. Add biotin (0.1 mM) wait until fully dissolved.
4. Sterilize by 0.45 μm Millipore filter. Store in dark at freezer temperature.

** The amount of vitamins added can vary from medium to medium so the final concentration is not listed.

#	Component	Amount
1	HEPES buffer pH 7.8 (Sigma-Aldrich H-3375)	2.4 g/200 mL dH ₂ O
2	Biotin (Sigma-Aldrich B-4639)	0.005 g/200 mL dH ₂ O

Thiamine Vitamin Solution

Directions

For 50 mL Total

1. Prepare 50 mL of HEPES buffer (50 mM).
2. Adjust the pH to 7.8.
3. Add Thiamine (1 mM) wait until fully dissolved.

4. Sterilize by 0.45 μm Millipore filter. Store in dark at freezer temperature.

** The amount of vitamins added can vary from medium to medium so the final concentration is not listed.

#	Component	Amount
1	HEPES buffer pH 7.8 (Sigma-Aldrich H-3375)	2.4 g/200 mL dH ₂ O
2	Thiamine (Sigma-Aldrich T-1270)	0.067 g/200 mL dH ₂ O

L1 Medium

(Marine dinoflagellates)

Stocks (1) Trace elements (from CCMP) **per litre**

Quantity	Compound	Stock Solution	Molar Concentration in Final Medium
3.15 g	FeCl ₃ · 6H ₂ O	-	1.17 × 10 ⁻⁵ M
4.36 g	Na ₂ EDTA · 2H ₂ O	-	1.17 × 10 ⁻⁵ M
0.25 mL	CuSO ₄ · 5H ₂ O	2.45 g/L dH ₂ O	1 × 10 ⁻⁸ M
3 mL	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	19.9 g/L dH ₂ O	9 × 10 ⁻⁸ M
1 mL	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	22 g/L dH ₂ O	8 × 10 ⁻⁸ M
1 mL	CoCl ₂ · 6H ₂ O	10 g/L dH ₂ O	5 × 10 ⁻⁸ M
1 mL	MnCl ₂ · 4 H ₂ O	180 g/L dH ₂ O	9 × 10 ⁻⁷ M
1 mL	H ₂ SeO ₃	1.3 g/L dH ₂ O	1 × 10 ⁻⁸ M
1 mL	NiSO ₄ · 6H ₂ O	2.7 g/L dH ₂ O	1 × 10 ⁻⁸ M
1 mL	Na ₃ VO ₄	1.84 g/L dH ₂ O	1 × 10 ⁻⁸ M
1 mL	K ₂ CrO ₄	1.94 g/L dH ₂ O	1 × 10 ⁻⁹ M

(2) Vitamin mix
 Cyanocobalamin (Vitamin B₁₂) 0.0005 g
 Thiamine HCl (Vitamin B₁) 0.1 g
 Biotin 0.0005 g

Medium **per litre**

NaNO₃ 0.075 g
 NaH₂PO₄ · 2H₂O 0.00565 g
 Trace elements stock solution (1) 1.0 ml
 Vitamin mix stock solution (2) 1.0 ml

Make up to 1 litre with filtered natural seawater. Adjust pH to 8.0 with 1M NaOH or HCl. Sterilise by autoclaving for 15 minutes at 15 psi and use when cooled to room temperature.

Reference

Guillard and Hargraves (1993)

17 Oct 2006

Benötigtes Werkzeug

Schere
 Hobel
 Permanentmarker
 Stichsäge / Fräse
 Stecknadel
 Wasserwaage
 Akkubohrer
 Zange
 Bunsenbrenner
 Schlauchkupplung
 Karton
 Schnur und Perle

Material	Spezifikation	Firma	Artikelnr.	Anzahl
Palettengestell	Rahmen H= 2476 mm, T= 1000 mm, TK=7500 kg Träger L=2700 mm, H= 80 mm, TK=960 kg/Pr.	Primus	AKA2510 N2708-RAL 3000 SB	2 Rahmen, 4 Träger, 8 Sicherungsbolzen
Luftpumpe	AL -80 Alita Air Compressors		110303628	
Endlosschlauch	50 cm, 200 µm, 100 m	Innopack	701.878.01	5.8 m
Halbrundlatten	Imprägniert 300/8 cm	z.B. Hortima	-	1 x 0.7 m 1x 0.5 m
Schrauben				10 Stück
Dreischichtplatten	Kreuzverleimt	Schreinerei	-	4 Stück à 8 x 15 cm
Kabel				0.5 m
Klebeband		Baumarkt		
Luftschlauch	Cristall Extra 4 x 6 mm	Koi-breeder	107.035	Ein Stück 10 m, 1 Stück 2.6 m
Sechskantmuttern	M6 und M8	Baumarkt		2 Stück



1. Mit der Stichsäge oder Fräse zwei Halbrundlatten zuschneiden. Die eine Latte auf 70 cm zuschneiden, die andere auf 50 cm.
2. Dreischichtplatten zuschneiden (4 Stück; 9 cm x 15 cm)



3. Mit dem Hobel die eckigen Seiten der beiden Halbrundlatten abhobeln.



4. Mit dem Akkubohrer die beiden Holzplatten auf die längere Halbrundlatte schrauben. Pro Platte 4 Schrauben verwenden. Darauf achten, dass die Holzplatten nicht mittig, sondern an der einen Kante liegend, angeschraubt werden müssen.

5. 5.8 m Endlosschlauch zuschneiden. Markierungen auf beiden Seiten bei 60 cm, 90 cm und 110 cm anbringen. Bei 110 cm ebenfalls die Mitte der Breite markieren (25 cm).

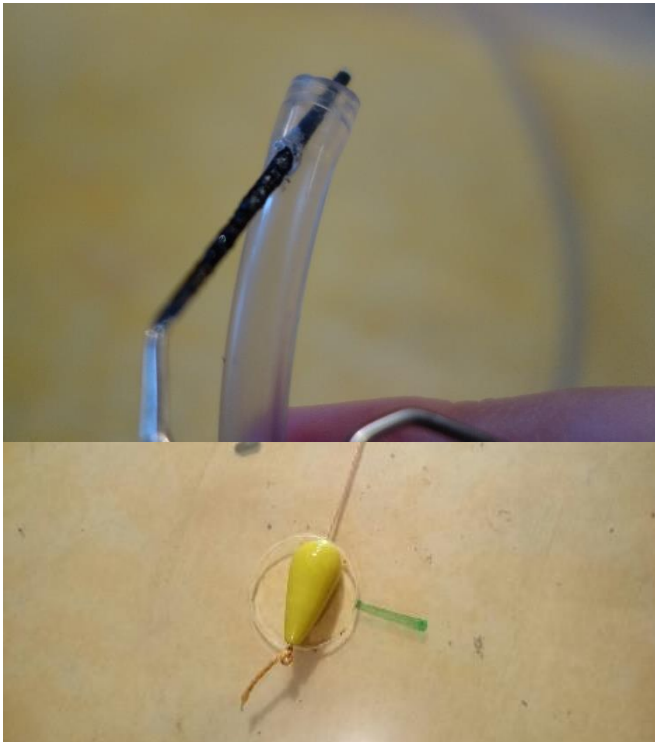


6. Karton in den Endlosschlauch zur 110 cm Markierung schieben. Mit dem Bunsenbrenner die Schlauchkupplung erwärmen und damit bei der 110 cm Markierung ein Loch in den Plastik brennen. Darauf achten, dass der Karton ZWISCHEN den beiden Folien liegt. Diesen Schritt für beide Seiten wiederholen.

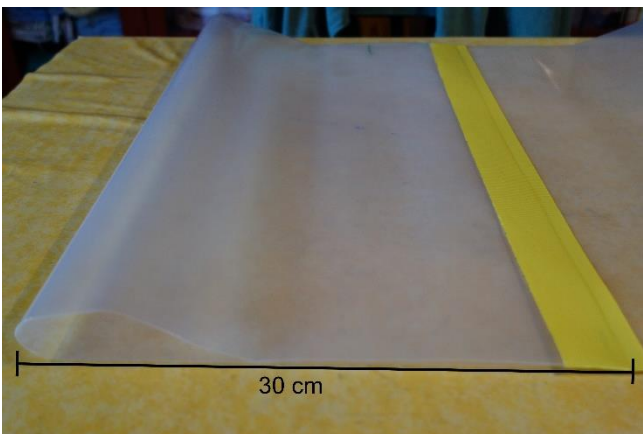
7. Mit der Schere 10 m Luftschlauch zuschneiden. Die Mitte des Schlauches mit einem Klebeband markieren. Von der Mitte des Schlauches je 5 Markierungen im Abstand von 1 cm anbringen, neben dem Klebeband je 1 cm frei lassen.



8. Mit dem Bunsenbrenner die Büroklammer erhitzt und damit bei den Markierungen Löcher in den Schlauch brennen. Die Büroklammer durch beide Seiten des Schlauches drücken.
Muttern auf den Schlauch aufziehen und auf das Klebeband schieben.



9. Ebenfalls am einen Ende des Luftschlauches mit der Büroklammer ein Loch brennen. Die Schnur durch dieses Loch an den Luftschlauch binden. Die Perle durch das eine Loch im Endlosschlauch schieben und vorsichtig durch den Endlosschlauch drücken. Damit kann der Luftschlauch in den Endlosschlauch gezogen werden.



10. Die beiden Enden des Endlosschlaches falten (60 cm Markierung) und mit dem Klebeband festkleben.

11. Mit der Zange 2 mal 0.5 m Kabel zuschneiden.



12. Das Kabel durch die entstandene Öse im Endlosschlauch schieben. Beides so zwischen die Halbrundlatten legen, dass nur der Endlosschlauch, nicht aber das Kabel zwischen den beiden Latten klemmt. Das Kabel sollte so gut wie möglich auf den angehobelten Seiten der Latten aufliegen. Die Latten nun mit den beiden restlichen Schrauben festschrauben. Dies auf beiden Seiten wiederholen.

13. Nun den Endlosschlauch 2-mal auf die Latten rollen. Es muss so gerollt werden, dass der Endlosschlauch danach auf der Seite, auf der die Holzplatten länger sind, fällt. Für beide Seiten wiederholen. Dies ist wichtig, damit sich der Schlauch beim Hängen nicht abwickeln kann.



14. Den Schlauch ins Palletten-Gestell hängen. Je zwei Säcke können verschoben auf einer Querstrebe zu liegen. Luftschläuche an der Luftpumpe anschliessen.

15. Nun kann der Sack mit Medium und Algen gefüllt werden 😊

Anhang C Kontamination von *N. gaditana* in den Kulturen von *P. sordidum*

Die aufgetretene Kontamination von *N. gaditana* in den Säcken von *P. sordidum* wurde durch Zählen der *Nannochloropsis*-Zellen verfolgt (Abbildung 21 und Abbildung 22).

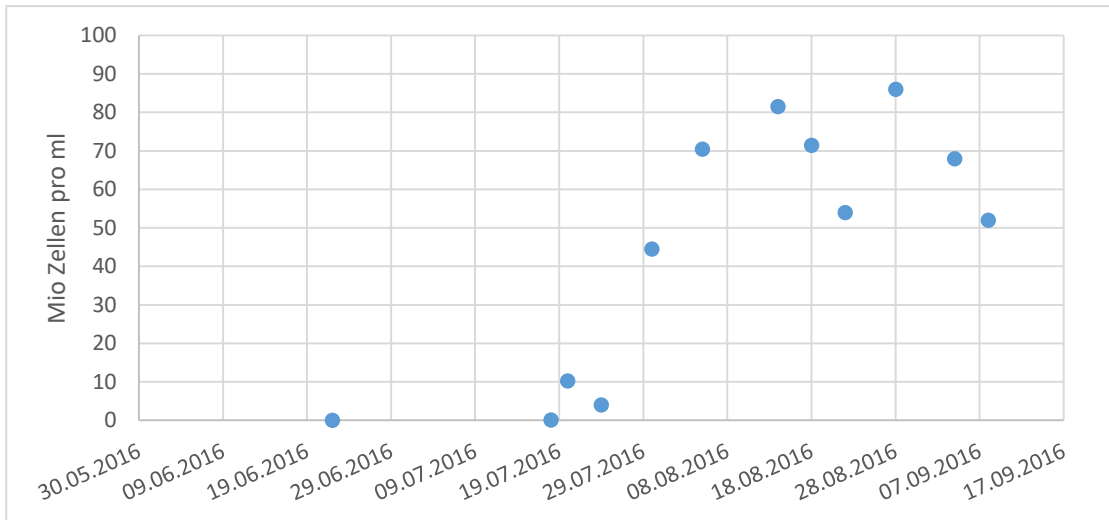


Abbildung 21: *N. gaditana* Kontamination im Sack Nr. 1 von *P. sordidum*.

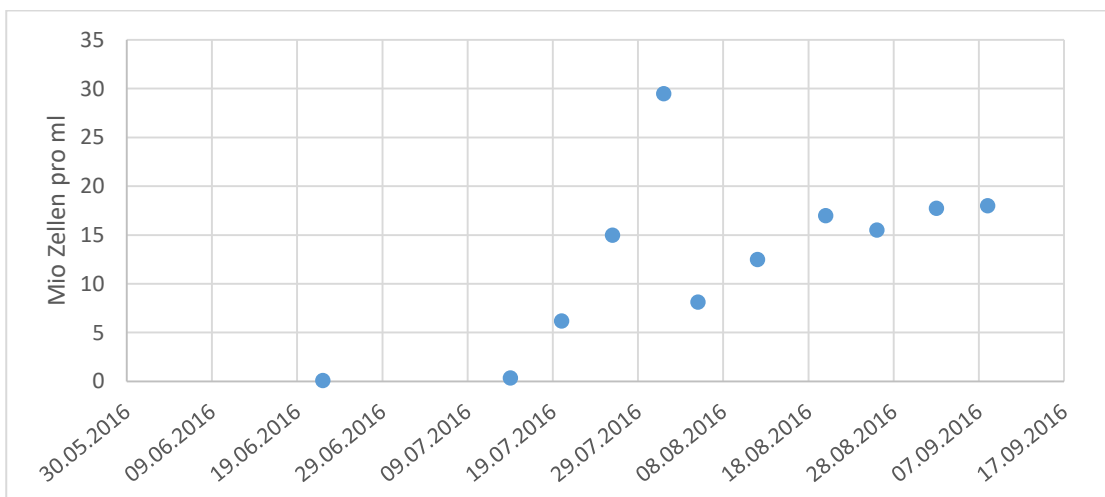


Abbildung 22: *N. gaditana* Kontamination im Sack Nr. 2 von *P. sordidum*.

Anhang D Herkunft der Fischfutter-Zutaten

Tabelle 7: Bezugsquelle und Spezifikation der Zutaten für das Fischfutter.

Zutat	Spezifikation	Firma	Artikelnummer
Fischmehl		Provimi Kliba AG	
Fischöl	Fish liver oil from <i>Gadus morrhua</i>	Sigma-Aldrich	74380
Weizenmehl	Weissmehl	Migros	
Casein	Casein from bovine milk	Sigma-Aldrich	C7078
Titaniumoxid	Titanium(IV) oxide	Sigma-Aldrich	14027
Maisstärke		Migros	
Vitaminmix			
Blutmehl	Haemoglobin from bovine blood	Sigma-Aldrich	084449
Reismehl	Demeter Weissreismehl	Vanadis	

Anhang E Rezepte der drei selbsthergestellten Fischfutter

Tabelle 8: Rezeptur für die drei Futter.

Zutat [g]	Kontrolle	Porph/Nanno	Iso/Nanno
Casein	19.9	19.2	19.6
Fischmehl	25.0	23.8	24.0
Weizenmehl	14.9	13.0	12.5
Fischöl	7.7	7.5	7.4
Maisstärke	24.9	24.9	24.9
Vitaminmix	0.4	0.4	0.4
Blutmehl	2.4	2.4	2.4
Reismehl (polished)	3.9	3.9	3.9
Titaniumoxid	1	1	1
<i>N. gaditana</i>	0	2	2
<i>P. sordidum</i>	0	2	0
<i>Isochrysis sp.</i>	0	0	2

Anhang F Tierversuchsantrag

Der Tierversuchsantrag zh213/16 und das Score Sheet mit den Abbruchkriterien des Versuchs.

Tierversuche Formular A

28378

Gesuch für Tierversuche

Art.18 Tierschutzgesetz(TSchG), Art.141 Tierschutzverordnung(TSchV),Art.30 Tierversuchsverordnung(TVV)

1 Adresse der Bereichsleiterin/des Bereichsleiters (Institut, Firma)

Ranka Junge
jura@zhaw.ch
+41589345922
ZHAW Wädenswil
Grüntal
CH - 8820
Wädenswil

2 Adresse der kantonalen Behörde

ZH Veterinäramt Zürich
Zollstrasse 20
CH - 8090 Zürich

3 TITEL DES PROJEKTS

Fütterung von Tilapia (*Oreochromis niloticus*) mit Mikroalgen-haltigem Futter zur Evaluation von nachhaltigen
Futterinhaltsstoffen in der Fischernährung
Subtitle of experiment/project_ge

31 Fachgebiet bzw. Anwendungsbereich:

Tierzucht

32 Gesuchstyp

[N] neues Gesuch

33 Tierart

TIERART Fish / Poissons	Gesamtzahl pro Gesuch 360	Herkunft/n (a-c) <i>Andere Herkunft, welche: Til-Aqua International, Zandstraat 86 5712XZ Someren, Niederlande, Import zusammen mit UrbanFarmers AG Basel</i>
Namen und Adressen der Lieferanten: Til Aqua International Zandstraat 86 5712 5712XZ Someren Netherlands		

34.1 Tierhaltungsort

-

TIERART Fish / Poissons	Adresse Tierhaltungsort: Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften Fischzuchtanlage 8820 Wädenswil Switzerland
-----------------------------------	---

34.2 Adresse Durchführungsort:

ZHAW Wädenswil,
 8820 Wädenswil
 Raumnr. GC185

34.3 Interkantonaler Versuch: **No**







34.4 Verwendung von gentechnisch veränderten Tieren:
No

35 Maximaler prospektiver Schweregrad: (Details: siehe unter Ziff. 56.4)
 0

36 Dauer des Projekts
 Jahre: 0 / Monate: 6 / Tage: 0

Datum des geplanten Beginns
 10.01.2017

37 Liste der Personen, die Massnahmen und Eingriffe im Rahmen des Versuches durchführen oder leiten:

Name der Person	Aus-/Weiterbildungsstand	Rolle im Versuch	Eingriff
Ranka Junge	 (Grün)	Deputy Study Director	Stellvertretende Versuchsleiterin
Constanze Pietsch	 (Grün)	Study director	Leitung der Versuche
Fridolin Tschudi	 (Orange)	Involved person	Versuchsdurchführender
Zala Schmutz	 (Grün)	Involved person	Versuchsdurchführende
Mathias Sigrist	 (Rot)	Involved person	Versuchsdurchführender (beginnt derzeit seine Ausbildung dazu)
Sophia Egloff	 (Rot)	Involved person	Versuchsdurchführende (beginnt derzeit seine

Ausbildung dazu)

38	Unterzeichnende/r Bereichsleiter/in	Last Submitted_ge
	Ranka Junge	28.09.2016

39	Unterzeichnende/r Versuchsleiter/in	Last Submitted_ge
	Constanze Pietsch	28.09.2016

Stellvertretende/r Versuchsleiter/in
Ranka Junge

4 ANGABEN ZUR ZIELSETZUNG DES PROJEKTES (für die Statistik Art. 147 TSchV); Ziff. 41-43 ausschliesslich je einmal ankreuzen und ggf. bei den Detailfragen eine weitere Marke sowie Ergänzungen anbringen.

41 Das Vorhaben/ der Versuch steht in Zusammenhang mit
 biologischen (einschliesslich medizinischen) Untersuchungen im Bereich der Grundlagenforschung

42 Das Vorhaben steht in Zusammenhang mit
 kein Zusammenhang mit Krankheiten bei Mensch und Tier.

43 Das Vorhaben steht in Zusammenhang mit gesetzlich vorgesehenen Verfahren (Registrierungs- und Zulassungsvorschriften):
 Das Vorhaben/ der Versuch hat keinen Zusammenhang mit gesetzlich vorgesehenen Verfahren.

44.1 Allgemeine Beschreibung des Versuchsziels, Stand der Forschung, Darlegung, was noch nicht hinreichend bekannt ist (beispielsweise Zusammenfassung des NF -Gesuchs, maximal eine Seite):

Ziel der Versuche ist, zu ermitteln welche einzelligen Mikroalgen für die Ernährung von Nil-Tilapia (*Oreochromis niloticus*) verwendet werden können und wieviel der konventionellen Futterinhaltsstoffe in der Tilapiaernährung durch Mikroalgen ersetzt werden können. In dem vorliegenden Versuchsantrag ist es vorgesehen maximal 4% des Futters durch Mikroalgen zu ersetzen.

Stand der Forschung

Algen werden bereits jetzt schon regelmässig in der Produktion von Biokraftstoff und in der Aquakultur verwendet (Priyadarshani und Rath, 2012; Cheng und He, 2014). In der Aquakultur werden beispielsweise Mikroalgen Hälterungstanks zugegeben um das Fischverhalten positiv zu beeinflussen, das Zooplankton und dessen Nährstoffzusammensetzung zu fördern und die Verdauung und die Immunfunktionen von Fischlarven zu verbessern (Cahu et al., 1998; Spolaore et al., 2006; Battaglene und Cobcroft, 2007; Van der Meeren et al., 2007; Rocha et al., 2008). Fischlarven können jedoch auch direkt von der Fütterung mit Mikroalgen profitieren (Reitan et al., 1997). Diese Erkenntnis ist wichtig, da die Fütterung von Fischlarven in der Fischzucht ein wichtiger Grundstein ist für die Produktion eines gesunden Fischbestandes. Verschiedene Makroalgen und Mikroalgen wurden bereits für die erfolgreiche Herstellung von Futter für Fischlarven verwendet (Yone et al., 1986; Mustafa und Nagawa, 1995; Bai et al., 2001; Wassef et al., 2005; Valente et al., 2006; Hasan und Chakrabarti, 2009). *Chlorella* und *Scenedesmus* wurden bereits in der Fütterung von Tilapia verwendet (Tartiel

et al., 2008). *Porphyra* und eine Kombination aus *Nannochloropsis* und *Isochrysis* wurde in der Ernährung des Atlantischen Dorschs verwendet (Walker et al., 2009/2010). Zusammenfassend konnte geschlussfolgert werden, dass etwa 50% des Fischmehls in Fischfutterm durch Mikroalgen, wie z.B. *Chlorella* und *Scenedesmus* ersetzt werden konnte (Badwyet al., 2008). Jedoch zeigten die bisher durchgeführten Studien kaum einen Zusammenhang von bestimmten Nährstoffen und den förderlichen Effekten auf die Jungfische. Dies erfordert eine intensive Charakterisierung der Futtermittel und der entsprechenden Effekte in den Fischen.

Ein grosser Anteil des Fischfutters beruht auf Fischmehl, welches häufig wenig nachhaltig hergestellt werden kann und ausserdem ein zunehmend teurer Ausgangsstoff für die Futterherstellung ist, da seine Verfügbarkeit global sinkt. Die zunehmende Ausschöpfung der Fischressourcen zur Fischmehlherstellung stellt somit ökologisch und ökonomisch eine wenig nachhaltige Praxis zur Herstellung von Tierfuttermitteln dar. Daher gibt es grosse Bestrebungen das Fischmehl in Fischfuttermitteln durch stärker nachhaltig produzierbare Proteinquellen zu ersetzen mit möglichst vergleichbaren Kosten. Konventionell wird dies versucht durch den Einsatz von Agrarprodukten, wie Getreide oder Ölsaaten, die recht kostengünstig produziert werden können. Aber deren Nährstoffzusammensetzung ist oft unzureichend für Fische. Ein typisches Beispiel dafür ist der zunehmende Einsatz von Soja in der Fischernährung, was die globalen Preise für Soja ansteigen liess (Jackson, 2012). Jedoch ist Soja oft nur bekömmlich bis zu einem bestimmten Prozentsatz im Futter für Fische und einige Fischarten reagieren recht empfindlich auf Sojabestandteile im Futter (Woche, 2007). Die Qualität und Quantität der Nährstoffe in Futterzutaten wird meist nur als Rohstoffmenge an Proteinen und Fetten angegeben. In konventionellen Futtermitteln ermöglicht meist die Zugabe grosser Mengen Fischmehl einen substantiellen Gehalt an qualitativ hochwertigen Proteinen einschliesslich essentieller Aminosäuren. Werden zu viele Proteine durch Einsatz von Pflanzen aus der Agrarwirtschaft ersetzt, sind in Fischfuttermitteln häufig die Fisch-wichtigen Aminosäuren Lysin, Methionine, Threonin und Tryptophan in zu geringen Mengen vorhanden (Li et al., 2009). Meeresalgen und deren Produkte enthalten jedoch alle notwendigen Aminosäuren (Rosell und Srivastava, 1985; Wong und Peter, 2000; Lourenco et al., 2002; Ortiz et al., 2006). Dementsprechend wurden ebenfalls mehr als 40 verschiedene Arten von Mikroalgen untersucht und es zeigte sich, dass sie einen hohen Gehalt an essentiellen Aminosäuren vorweisen können (Brown et al., 1997). Abgesehen von wichtigen Makronährstoffen können Mikroalgen jedoch auch Mikronährstoffe, Pigmente und Fettsäuren enthalten, die für die Fischentwicklung vorteilhaft sein können, wenn sie in Futtermittel eingebracht werden (Priyadarshani und Rath, 2012).

Die zu den essentiellen Fettsäuren in Fischen zählenden omega-3 und omega-6 Fettsäuren werden häufig als mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) zusammengefasst. In natürlichen Gewässern stammen diese Fettsäuren tatsächlich vor allem aus Algen, die über die Nahrungskette bei den Fischen angelangen. Algen enthalten häufig PUFAs, wie z.B. die Eicosapentaensäure (EPA), die Docosahexaensäure (DHA), und die Arachidonsäure (ARA) (Miller et al., 2008). Mikroalgenöl wird daher als Ersatz für Fischöl in kommerziellen Fischfutterm angesehen (Ryckebosch et al., 2014). Es wurde aber auch vermutet, dass nicht der Gesamtgehalt an PUFA entscheidend ist, sondern das Verhältnis der Fettsäuren zueinander (Apt and Behrens, 1999; Spolaore et al., 2006). Der Bedarf an essentiellen Fettsäuren ist vor allem in Jungfischen gross, da deren Wachstum sehr hoch sein kann.

Mikroalgen, wie beispielsweise *Isochrysis galbana*, die bis zu 22 mg DHA pro g Trockenmasse enthalten kann, wurde bereits verwendet um Lebendfutter für Fischlarven anzureichern (Tzovenis et al., 1997). Andere Mikroalgen mit hohem DHA-Gehalt stammen aus den Algengenera *Dinophyta*, *Haptophyta* and *Euglenoida*

(Lang et al., 2011). Algen mit hohem EPA-Gehalt konnten in den Gruppen *Eustigmatophyceae*, *Glaucophyta*, *Xanthophyceae* und *Rhodophyta* gefunden werden und einige dieser Gruppen enthalten ebenfalls ARA (Zook and Schenk, 1986; Lang et al., 2011). Erhöhte Gehalte an ARA konnten in Algen gefunden werden, die zu den *Phaeophyceae* gehören (Lang et al., 2011). Entsprechend dieser Untersuchungen wurden die Algenarten für die geplanten Fütterungsversuche ausgewählt.

Jedoch ist der Gehalt vieler Inhaltsstoffe in Mikroalgen mitunter sehr variabel, z.B. in Abhängigkeit von der Jahreszeit (Brown et al., 1997; Nelson et al. 2002; Olofsson et al., 2014). Eine Produktion unter konstanteren Bedingungen im Bioreaktor könnte dem entgegenwirken. Nichtsdestotrotz ist es notwendig, die zu verwendenden Algen und Algenprodukte zu charakterisieren, um eine stabile Algenproduktion zu garantieren.

Unsere Arbeitsgruppe an der ZHAW hat eine langjährige Erfahrung mit Aquakultur und Fragen der Fischernährung. Die Fettsäurezusammensetzung im Futter für juvenile Zander wird bereits im TVZH014-15 untersucht. Der Einsatz von Algen im Futter für Tilapia wurde bereits im TV 85/2009 (intern 4090) untersucht. Pelletierte Futtermittel für die experimentelle Fütterung von Karpfen wurden bereits in früheren Forschungsarbeiten verwendet (TV 2410 in Basel-Stadt).

Die Verfügbarkeit von Nährstoffen und die Wachstumsleistung der Tilapia bei Verwendung unterschiedlicher Futtermittel mit Mikroalgengehalt sollen untersucht werden. Dies stellt einen Beitrag dar zur Evaluierung von stärker nachhaltig produzierbaren Rohstoffen für die Fischproduktion innerhalb der Aquakultur. Die zentrale Frage dieses Antrages ist daher: Welches ist die optimale Mikroalgenzusammensetzung für Futtermittel für Tilapia wenn 4% des Futters aus Algen bestehen?

Der Vorteil einer Verwendung von Algen im Futter wäre deren Position in der Nahrungskette und ihr ausreichender Gehalt an wichtigen Nährstoffen für Fische, die eine konventionelle Agrarproduktion höherer Pflanzen nicht bieten kann. Obwohl der Einsatz von Mikroalgen in der Fischernährung noch nicht sofort dazu führen kann, dass Fischmehl vollständig ersetzt werden kann, ist die Verwendung von Mikroalgen bereits ein wertvoller Beitrag zur Steigerung der Nachhaltigkeit in der Fischproduktion.

Wichtig für die geplanten Versuche ist die Auswahl der geeigneten Mikroalgen für die Fischfutterproduktion. Derzeit ist es unmöglich die Nährstoffqualität von Mikroalgen zu verallgemeinern, weil eine Vielzahl von Algenarten aus mehr als 8 Algenklassen für eine Produktion in Frage kommen. Daher war es notwendig eine Auswahl an Mikroalgen zu treffen, die einerseits keine bekannten Toxine produzieren können und andererseits eine möglichst vorteilhafte Zusammensetzung an Nährstoffen und insbesondere dort an essentiellen Fettsäuren haben.

Versuchsziel:

Durch Verwendung unterschiedlicher Mikroalgen soll durch Messung der spezifischen Wachstumsrate (SWR), der Futterverwertung (FQ), eventueller Mortalität, einiger Immunparameter und der Fischgesundheit ermittelt

werden, ob diese bei einer maximalen Menge von 4% im Futter für die Ernährung von Tilapia geeignet sind.

44.2 Konkrete Erkenntnis, die angestrebt wird

Welche Mikroalgen sind geeignet um das Futter für Tilapia mit benötigten Nährstoffen und essentiellen Fettsäuren anzureichern?

5 ANGABEN ZUR METHODE (Beschreibungen und Anmerkung zu den Ziff. 51-58)

51.1 Überblick über das Projekt (Versuchsordnung, Übersicht über die Methode, ggf. Name des Tiermodells, Ablauf des Versuchsvorhabens, ggf. Ablaufdiagramm, Biometrische Planung) (Details zur Methode unter Ziffer 54)

Bevor die geplanten Fütterungsversuche durchgeführt werden können, ist es notwendig die Algen für die Futterherstellung auszuwählen. Die Auswahl erfolgte aufgrund der Angaben in der Literatur zu möglicher Toxinproduktion durch die Algen, die vermieden werden muss, und eine möglichst vorteilhafte Zusammensetzung an essentiellen Fettsäuren (Droop 1985, Durand-Clement 1987, Gardeva et al. 2008, Langet al. 2011). Die drei vielversprechendsten Kandidaten für die Algenkultur sind in Tabelle 1 dargestellt und werden innerhalb der kommenden Monate zunächst im Labor an der ZHAW aufgezogen beziehungsweise aus kommerzieller Quelle bezogen (VariconAqua Solutions Ltd, Worcs, UK). Gelingt ihre Produktion auch in Bioreaktoren, und ermöglicht so die Herstellung einer ausreichend grossen Algenbiomasse, so wird die Verwendung für die geplanten Tilapiafutter möglich. In einigen Fällen kann auch Algenmaterial in getrockneter Form zugekauft werden, um eine Futtermittelherstellung im Versuch zu erlauben. Da nicht erwartet werden kann, dass eine einzige Algenart eine ausreichende Menge an den verschiedenen essentiellen Fettsäuren produziert (Becker, 2004), ist es vorgesehen die zwei geplanten Futtermittel mit Mikroalgen-Zusatz aus mindestens zwei verschiedenen Algenarten zusammensetzen, um sicher zu stellen, dass sowohl omega-3 Fettsäuren (DHA und EPA) und omega-6 Fettsäuren (ARA) im Futter ausreichend vorhanden sein können (Tabelle 1). Futtermittel 1 soll daher *Porphyridium sordidum* und *Nannochloropsis gaditana*. enthalten und Futtermittel 2 dementsprechend *Isochrysis galbana* und *Nannochloropsis gaditana*, welche beide mit einer Kontrollfütterung mit einem Futtermittel ohne Algenzusatz verglichen werden sollen.

Um auszuschliessen, dass die ausgewählten Algen Toxine oder andere Inhaltsstoffe enthalten, die dem Fischwohl nicht zuträglich wären, soll vor Beginn des Fütterungsversuches der early life stage test mit Zebraabürblingseiern entsprechend der OECD Guideline 201 durchgeführt werden. Dieses Testsystem ist an der ZHAW bereits etabliert und evaluiert die Effekte der Algenextrakte in verschiedenen Verdünnungsstufen auf die larvale Entwicklung von Zebraabürblingen über 96h. Algenextrakte, die die Fischentwicklung des Zebraabürblings beeinträchtigen werden vom weiteren Versuch ausgeschlossen. Die Verwendung von Eiern des Zebraabürblings für einen early life stage test bis 96h Testdauer ab Eiablage ist bereits etabliert an der ZHAW.

Alle produzierten, nicht-toxischen Algenbiomassen werden vor der Futtermittelherstellung gefriergetrocknet und auf Makronährstoffe und essentielle Aminosäuren und Fettsäuren hin untersucht. Daraufhin kann die optimale Futterrezeptur berechnet werden für Tilapia und die Futterherstellung kann erfolgen. Tilapia zeigen optimales

Wachstum bei einem Proteinbedarf, der mit Grösse und Alter der Fische und mit der Wassertemperatur variiert. So zeigte sich für juvenile Tilapia ein Proteinbedarf von 32 bis 50 % in der Nahrung, während grössere Tiere etwas weniger Protein benötigen (Nguyen et al., 2009). Optimale Lipidgehalte für Tilapia reichen von 5 bis 12% (Lim et al., 2011), wobei essentielle Fettsäuren der omega-6 Serie (18:2 oder 20:4) das Wachstum mehr verstärken als die Fettsäuren der omega-3 Serie (18:3, 20:5 oder 22:6) (Lim et al., 2011). Tilapia können jedoch auch recht gut Stärke nutzen bei Gehalten in der Nahrung zwischen 22 und 46% (Wang et al., 2005). Diese Studien führten zu der Schlussfolgerung, dass das Wachstum von Tilapia verbessert werden kann, wenn optimale Mengen an Protein, Lipid und Kohlenhydraten in der Nahrung enthalten sind. Daher ist es vorgesehen, für alle drei Fütterungsgruppen ähnliche und optimal zusammengesetzte Futtermittel für die geplanten Fütterungsversuche zu verwenden (Tabelle 2). Essentielle Aminosäuren und Vitamine sollen bei Futterherstellung in ausreichender Menge zugegeben werden (Tabelle 3). Für die Futterherstellung ist eine Extrudierung bei etwa 60°C geplant, da eine höhere Temperatur die Rohstoffe zu stark erhitzen würde und wichtige Inhaltsstoffe, die hitzelabil sind, zerstört werden würden. Nach Trocknung der Futtermittel, werden diese gekühlt gelagert bis zur Durchführung der Fütterungsversuche.

Um die theoretisch berechneten Verdaulichkeiten der Futtermittel mit tatsächlich auftretender Verdaulichkeit der Futtermittel zu vergleichen ist es notwendig einen inerten Marker in das Futter zu mischen. Als ein solcher Marker hat sich Chromoxid bewährt. Dieser wird zu 1% allen Futtermitteln beigemischt. Während des Versuches wird dann regelmässig Kot der Fische aus dem Haltungsbecken gesammelt und die verbleibenden Nährstoffmengen im Kot sowie die Menge an Chromoxid vor und nach der Verdauung nach der Methode von Maynard und Loosli (1969) und Atkinson et al., (1984) bestimmt.

Da im Laufe der Versuche die Grösse der Fische zunimmt, ist es erforderlich die Fische mit dem entsprechend zunehmenden Pelletgrössen der jeweiligen Futtermittel zu füttern und die täglichen Futterrationen dem Bedarf der Fische anzupassen. Die vorgesehenen Pelletgrössen und täglichen Futterrationen sind in Tabelle 4 dargestellt.

Versuchsanlage

Der Versuch soll im Aquakulturlabor der ZHAW in Wädenswil durchgeführt werden. Die Anlage wurde 2012 erstellt und 2016 noch einmal vollständig umgebaut. Das System hat sich seither im normalen Fischzuchtbetrieb bewährt. Die Anlage besteht aus vier eigenständigen Systemen mit je drei runden, isolierten Fischbecken (mit einem Volumen von jeweils 1'700 L, bereits verwendet für die Haltung von Tilapia, Zander, Trübschen und Kirschenlachsen), einem Trommelfilter zur Feststoffabscheidung (HydroTech, 40 m), einem geschlossenen Biofilter, einer Sauerstoffbegasung, sowie Kühl- und Heizsystemen. Die Anlage steht im Gewächshaus GC185 und ist permanent schattiert. Von den vier Kreisläufen werden drei für die geplanten Versuche verwendet.

Fischbetreuung

Die Tilapia werden via Futterautomat gefüttert. Das Verhalten der Fische wird täglich beobachtet und die Becken kontrolliert. Auffällige Fische, die ein Abbruchkriterium erfüllen, werden abgesondert und gepflegt.

Kontrolle der Wasserqualität

Die Wasserqualität entspricht den optimalen Haltungsbedingungen. Das Wasser wird geheizt und permanent auf der definierten Wassertemperatur 25 ± 0.1 °C gehalten. Täglich wird 5-20 % des Wasservolumens durch Frischwasser ersetzt und somit eine eventuelle Kühlung des Wassers erreicht. Sauerstoff wird als Reingas zugegeben und ein Sauerstoffgehalt von minimal 7 mg/l eingehalten. Das Beckenwasser wird mittels Belüftung von CO₂ entgast. Die Parameter Temperatur, Sauerstoff, pH und Salzgehalt werden permanent überwacht (SMS-Alarmierung) und alle 15 min gespeichert. Wöchentlich wird der Betrieb des Biofilters kontrolliert anhand von Messungen des Ammonium- und Nitritgehalts des Wassers.

Geplante Versuche

Fischbesatz: Die Jungfische werden mit einer Grösse von etwa durchschnittlich 0.5 g pro Fisch importiert und nach einer Woche Eingewöhnung an der ZHAW auf 9 der 12 zur Verfügungstehenden Becken verteilt. Dabei wird darauf geachtet, dass in den Replikaten dieselbe Grössenverteilung und Biomasse herrscht. Da die Jungfische noch sehr klein sind, wird in den ersten Wochen des Versuches ein Hälterungskorb aus PE mit einem Volumen von 170 L zur Haltung verwendet. Ab einem Gewicht von 10 –100 g werden Hälterungskörbe von 400 L Volumen zur Haltung verwendet. Anschliessend werden die Fische in den Haltungsbecken ohne Einsatzkörbegehalten. Die Besatzdichten werden so am Ende des Versuches maximal 20 kg pro Kreislauf, also höchstens 5 kg pro m³ betragen.

Dauer: Insgesamt soll der Versuch 12 Wochen durchgeführt werden, wobei nach 6 Wochen eine erste Probennahme zeigen soll, ob bereits signifikante Unterschiede im Wachstum der Fische festzustellen sind.

Gesamtanzahl der Tiere in diesem Versuchsteil:

360 Tiere bei Versuchsstart

51.2 Begründung für die Wahl der Methode oder des Modells unter Darstellung der Besonderheiten/Vorteile (Art. 137 Abs. 3 TSchV)

Die nötigen Beeinflussungen der Haltungsparameter entsprechen den üblichen in jeder Fischproduktion und erfolgen möglichst sorgfältig.

51.3 Begründung für die Wahl der Tierarten und falls zutreffend für das Verwenden von Tieren, die nicht zu Versuchszwecken gezüchtet wurden

Die Tilapia wurde gewählt, da sie grosses Potenzial zur Haltung in der Aquakultur zeigt und bereits gezeigt werden konnte, dass diese Fischart vegetarisch ernährt werden kann (Tjahjo and Purnomo 1998, Mjoun et al. 2010).

52 Vorbereitung d. Tiere auf den Versuch (Eingangunt. Art.135 Abs.3, Angewöhnung Art.119 Abs.1 TSchV, Markierungsart Art. 120 TSchV und Art.5 Abs.2 TVV, Konditionierung, Futter-/Wasserentzug, Vorbehandlung etc.)

Die Fische werden vor Versuchsbeginn für mindestens eine Woche in einer Gruppe zusammen gehalten, damit sie sich vom Transport erholen können und sich an die Haltungsbedingungen an der ZHAW gewöhnen können. Anschliessend werden sie zufällig auf die Versuchsgruppen verteilt und der Versuch gestartet.

Es erfolgt keine anderweitige Konditionierung und die Fische werden nicht markiert.

53.1 Anästhesie und/oder weitere Schmerzbekämpfung (Mittel, Dosen, Applikationsweg und -häufigkeit, Zeitdauer etc.) (Art. 135 Abs. 5 TSchV)

Es werden keine Medikamente eingesetzt.

53.2 Begründung für die Wahl der Anästhesie und/oder Analgesie sowie ggf. Begründung für den Verzicht auf belastungsmindernde Massnahmen

Die Fische werden schonend gewogen und sollen möglichst stressfrei aufwachsen. Die Erfahrung zeigt, dass eine Betäubung vor der Vermessung unnötig ist resp. diese vermutlich einen höheren Zusatzstress verursachen würde, als sie verhindern würde.

Sollte dennoch eine Tötung von Tieren notwendig sein, so wird diese fachgerecht durch einen Kopfschlag erfolgen und zur Sicherstellung des Todes ein anschliessender Kiemenschnitt durchgeführt.

Vor Blut- und Organentnahmen werden die Tiere unter 300 g fachgerecht durch eine Überdosis an Betäubungsmittel (MS222) getötet und nach Sicherstellung des Todes Blut-, Leber- und Muskelproben entnommen und sofort eingefroren. Da die Fische noch sehr klein sind, ist dieses Verfahren als sicherer und schonender einzustufen als eine Elektronarkose mit anschliessendem Kiemenschnitt. Tiere über 300 g werden mit Betäubungsmittel (MS222) betäubt, und mit einem Kiemenschnitt getötet.

54.1 Art der Eingriffe/Manipulationen und Erheben von Parametern am Tier (Ablaufschema für das einzelne Tier/für die Tiergruppe angeben): operative Eingriffe (Ablauf), Substanzapplikation (Art und Ort, Menge und Häufigkeit), Infizierung, physikalische Einwirkungen (Bestrahlungen etc.), Verkaufskontrollen, Probenerhebung, Reaktionstest etc. Angaben mittels Standard Operation möglich (SOP)

Monitoring Alle Fische werden zu Beginn, in der Mitte und am Ende der Versuchsperiode gewogen, um Wachstumsrate und Futterquotient zu bestimmen und um die benötigten Futtermengen anzupassen.

Vorgehen bei einer Fischmessung Die Fische werden einzeln aus dem Hälterungskorb bzw. -becken gefischt, während 2 s abtropfen gelassen und in eine vortarierte Wägetonne mit 5 l Wasser gesetzt (Gewichtsmessung). Anschliessend werden immer maximal 3 Tiere mit einem Netz aus der Wägetonne entnommen um die Fische zählen zu können und in einen neuen Hälterungskorb im ursprünglichen Haltungsbecken gesetzt, wenn die Fische noch weniger als 100 g pro Stück wiegen. Ist das individuelle Gewicht grösser als 100g werden nach der Fischmessung alle Tiere aus dem Hälterungskorb direkt in das ursprüngliche Haltungsbecken entlassen. Mit dieser Methode werden die Fische nie direkt von Hand angefasst, und lediglich zweimal kurz mit dem Netz aus dem Wasser gehoben.

54.2 Dauer der Versuchsserie (falls sinnvoll in geeigneter tabellarischer Darstellung): gesamte Versuchsdauer für jede einzelne Gruppe oder jedes Tier, inkl. Zeitdauer, während der das Tier Substanzen oder anderen Noxen ausgesetzt ist. Bei wiederholter Verwendung der Tiere den Abstand zwischen den Versuchen angeben.

Versuch :

1 Woche Eingewöhnung an der ZHAW: 12.Jan 2017 – 18.Jan 2017

Zwischenmessung nach 6 Wochen: Entnahme von 90 Tieren

Schlussmessung nach 12 Wochen: Entnahme von 90 Tieren

Gesamte Dauer: 12 Wochen. voraussichtlich 19.Jan 2017 – 13.April 2017

54.3 Anzahl Tiere pro Versuch/Versuchsserie: Anzahl Gruppen (inkl. alle Variablen, z.B. Dosen, Zeitdauer, Kontrollen und Angaben zur zeitlichen Staffelung der Versuche gemäss Art. 137 Abs. 4 Bst.c TSchV) und Anzahl Tiere pro Tierlinie, pro Gruppe, Geschlecht der Tiere

Ein Teil der Fische wird beprobt.

Entsprechend dem Versuchsschema in Abbildung 1-3 werden 360 Tilapia in dem Versuch eingesetzt.

Danach werden wöchentlich 5 Tiere pro Replikat gewogen und wieder in die entsprechende Haltungseinrichtung zurückgesetzt, um die Gewichtsentwicklung pro Gruppe verfolgen zu können und die Futtermengen regelmässig anpassen zu können.

Nach 6 Wochen werden alle Fische gewogen und 10 Fische pro Replikat für Beprobungen entnommen (insgesamt 90 Tiere).

Die verbleibenden Fische werden weitere 6 Wochen mit den jeweiligen Versuchsfuttern gefüttert und wöchentlich 5 Tiere pro Replikat gewogen, um die Gewichtsentwicklung verfolgen zu können und die Futtermengen regelmässig anpassen zu können.

Nach insgesamt 12 Wochen werden alle Fische gewogen und 10 Fische pro Replikat für Beprobungen (nochmals 90 Tiere insgesamt) entnommen.

Die übrigen Fische (max. 20 pro Replikat falls keine Mortalität auftritt, also insgesamt maximal 180 Tiere) werden nach Versuchsbeendigung in der Aquakulturanlage an der ZHAW weiter aufgezogen und für weitere Tierversuche verwendet, die noch in separaten Gesuchen beantragt werden sollen.

54.4 Begründung für die vorgesehenen Tierzahlen pro Versuch/Versuchsserie inkl. Der statistischen Behandlung der Daten (Art. 137 Abs. 4 TSchV)

Die genannten Tierzahlen sind nötig, um gute Haltungsbedingungen für Tilapia zu erreichen. Bei zu geringer Besatzdichte kann es zu Stress in der Gruppe durch dominante Tiere kommen. Ausserdem wurde die Anzahl der Proben von Tiere so gering wie möglich gehalten um einerseits die Anzahl an Versuchstieren zu reduzieren und andererseits Futtermengen und damit auch die benötigten Algenmengen zu reduzieren.

55 Beurteilung der Methode (137 Abs. 3 TSchV)

Die gewählten Methoden sind unerlässlich um die gewünschten Ergebnisse zu erzielen.

56.1 Erwartete Auswirkungen auf die Gesundheit und das Wohlbefinden der Tiere (Allgemeinzustand, Aktivität, Futter- und Wasseraufnahme, Schmerzreaktionen, Dauer und Verlauf der Beeinträchtigungen, weitere Verhaltensparameter, Wachstum, erwartete Todesfälle, etc.)

Durch die vorgängige Durchführung des early life stage Tests mit Zebrabärblingen wird ausgeschlossen, dass toxische Algen für die Futtermittelherstellung verwendet werden. Die Tilapia sollten ohne Beeinträchtigung wachsen. Die tägliche Kontrolle der Tiere und der Wasserqualität werden dokumentiert in den beigelegten Protokollen.

56.2 Überwachung des Wohlbefindens der Tiere (Art.135 Abs.4 TSchV): durch welche Person(en) Häufigkeit, Beurteilungskriterien, Dokumentation (z.B. score sheet gemäss Art. 144 Abs. 1 TSchV) entsprechend der Versuchsphase

Täglich: Reaktion der Fische bei der Fütterung, Mortalität, Wassertrübung, Luftzufuhr, Wasserzirkulation, Wassertemperatur, Frischwasserzufuhr. Abbruchkriterien sind im beigelegten score sheet zur Beurteilung von Fischen beschrieben. Auffällige Fische werden gemäss diesem score sheet protokolliert, und wenn nötig in separate Becken gesetzt mit Frischwasser oder getötet. Die Sauerstoffkonzentrationen und der pH-Wert werden permanent überwacht, alle 15 min gespeichert und Reinsauerstoff kann den Becken zugegeben werden, sollten die Sollwerte unterschritten werden.

Wöchentlich: Wasserwerte (Ammonium, Nitrit, Nitrat, pH), Wasseraustauschrate

56.3 Kriterien/Angaben für belastungsmindernde Massnahmen und (vorzeitigen) Versuchsabbruch (Abbruchkriterien; Art. 135 Abs. 1 und 8 TSchV) und für Verzicht auf Wiederverwendung der Tiere

Die Einstellung der Haltungparameter über den gesamten Versuchsverlauf wurde so gewählt, dass keinerlei Belastung für die Fische verursacht wird. Sämtliche verbleibenden Fische werden nach Versuchsende in der Aquakulturanlage an der ZHAW weiter aufgezogen. Die Ebene des Einzeltieres ist erwähnt unter den Ziffern 51.1 (Rubrik Fischbetreuung) und 56.2. Gemäss beigelegtem Score sheet scheiden Einzeltiere aus dem Versuch aus (Versuchsabbruch), wenn sie in zwei der fünf Kriterien eine 3 erfüllen, oder in einer der fünf Kriterien eine 4.

56.4 Verteilung der Tiere pro Schweregrad (Art. 30 Bst. J TVV)

. Schweregrad 0: 360 Tiere

57.1 Nummer oder Name der Versuchstierhaltung-Bewilligung angeben (falls keine bewilligte Versuchstierhaltung, Angabe von: Haltung und Pflege der Tiere vor, während, zwischen und nach Einzelversuchen; Platzangebot, Käfigtyp inkl. Anzahl Tiere, Strukturierung, Auslauf, Einzel- oder Gruppenhaltung, Fütterung und Beschäftigung, Routinekontrollen durch Tierpfleger/innen, etc.)

155

57.2 Begründung für allfällige Abweichungen von den Haltungsbedingungen gemäss Tierschutzverordnung resp. der oben erwähnten Bewilligung für Versuchstierhaltung (Beispiele: Futterentzug, Immobilisation, Einzelhaltung für soziale Tierarten)

Es sind keine Abweichungen vorgesehen.

- 58 Tötungsmethode (Mittel, Dosen, Applikationsweg, etc.), Verwendung der Tiere nach Abschluss des (Einzel-) Versuchs (wiederholter Einsatz im gleichen bzw. in anderem Versuch)

Alle Versuchsfische für die Abbruchkriterien erreicht werden getötet. Dafür werden die Tiere > 300g Gewicht mittels Kopfschlag betäubt und anschliessend durch Durchführung eines Kiemenschnitts der Tod sichergestellt.

Tiere unter 300 g fachgerecht durch eine Überdosis an Betäubungsmittel (mindestens 150 mg MS222/L) getötet und zur Sicherstellung des Todes anschliessend ein Kiemenschnitt durchgeführt.

6 ANGABEN ZUR BEGRÜNDUNG DES TIERVERSUCHS

- 61 Welche anderen Versuchsmethoden sind (z. B. aus der Literatur) bekannt, die es ermöglichen, entsprechende Information zu erhalten (In-vitro oder In-vivo Methoden angeben Art. 137 Abs. 2 und 3 TSchV)

Keine. Ziel ist, die Erkenntnisse in der kommerziellen Fischproduktion anzuwenden. Die Versuchsbedingungen entsprechen denen, wie sie später auch in der Fischzuchtpraxis vorkommen können und angewendet werden.

- 62 Angabe, ob das Vorhaben begutachtet wurde/wird, und wenn ja, von welcher Institution/Organisation

Ja, das Projekt wird vom Swiss Food Research (Grant No. 1607) unterstützt und wurde bei Auswahl des Projektes durch Angehörige der KTI begutachtet.

- 63 Beurteilung d. Bedeutung d. erwart. Ergebnis. im Vgl. zu den d. Tieren entstehenden Leiden&d. Verletzung d. Würde d. Tieres(Art.3/19 Abs.4TSchG). Abwägen des angestrebten Nutzen ggü Belastung des Tieres (44/56)
Im Rahmen dieser Güterabwägung (Art. 26 TVV) sind insbesondere der angestrebte Nutzen gemäss Ziffern 44.1 und 44.2 und die Belastungen der Tiere gemäss Ziffern 56.1-56.4 zu würdigen und einander gegenüber zu stellen.

Die Fische werden unter optimalen Bedingungen gehalten und möglichst alle Stressfaktoren ausgeschaltet. Wir erwarten, dass pro Versuchsteil mehr als 90% der Fische stressfrei aufwachsen und weiter aufgezogen werden können für spätere Versuche.

Angehängte Dateien

Titel des Dokuments	Dateiname	Grösse
Abbildungen und Tabellen	Abbildungen-TV-Tilapia-Algen_final.docx	258 KB
Literaturangaben	Literatur zum Gesuch_final.docx	21 KB
Abbruchkriterien	Score Sheet zum Befinden der Fische.pdf	18 KB

Score sheet zum Befinden der Fische Antrag „Kleine Systeme“ (SG0)

Becken-Nr.	Körperteil	Aspekt	Schädigungsgrad			
			perfekt (0)	leicht (1)	mittel (2)	schwer (3)
Augen	Pupille	klar	verkleinert (bestehender Defekt)	-	-	-
	Hornhaut	glatt	weisse Trübung	hervorstehender, milchiger Buckel	offen, Auge durchstochen	Auge ausgebissen, offene Augenhöhle
	Verhalten	Fisch beobachtet (dreht die Augen zum Futter)	Fisch findet Futter nicht sofort, geht nach Tast- statt Sehsinn	Augen sind starr, Fisch sieht aber noch	Fisch ist blind	-
Haut		hell, Querstreifen kaum sichtbar, Hautoberfläche glatt	dunkle Querstreifen, einzelne Schuppen verletzt (fehlend)	flächige Hautverfärbungen, gerötete Stellen (Infektionsverdacht)	offene Wunde, erkennbare Parasiten, rasche Heilung erwartet	offene Wunde, die nicht innert weniger Tage verheilen kann
Flossen	Flossenränder	unbeschädigt	leicht ausgefranst, aber Flossenstrahlen nicht verletzt	stark ausgefranst, Flossenstrahlen verletzt, Rand verdickt mit rötlichen Punkten (Infektionsverdacht)	Flosse bis Fleischansatz fehlend offene Wunde, die nicht innert weniger Tage verheilen kann	ganze Flosse fehlend, offene Wunde, die nicht innert weniger Tage verheilen kann
	Verhalten	Flossen gestellt	Flossen an Körper angeklemt	Flossenzucken	-	-
Schwimmverhalten		ruhig, kommt sofort ans Futter	nervös, scheu, sucht Deckung	Fische reiben sich an rauhen Oberflächen, schwimmen ruckartig	Seitenlage am Boden, orientierungsloses umhertaumeln	Bauchseite nach oben, nur Atembewegung
Verletzungen und Krankheiten ¹		keine	-	-	behandelbare Krankheit oder Parasit	unheilbare Verletzung

¹: soweit nicht schon in obigen drei Kategorien erfasst

-: diese Kategorie wird nicht vergeben, da alleine kein ausreichender Grund für Versuchsabbruch

Es wird immer der höhere Schädigungsgrad zugeordnet, auch wenn nur eine Körperseite das Kriterium erfüllt.

Ein Fisch wird durch Töten aus dem Versuch ausgeschlossen (Versuchsabbruch): wenn er in zwei der fünf Kriterien eine 1 erfüllt, oder in einer der fünf Kriterien eine 2 erfüllt.

Die Fresslust (FL) wird in einer vierstufigen Skala beurteilt: 0 kein Fisch frisst, 1 weniger als üblich, 2 normal, 3 aggressiv & hungrig

Anhang G Schematischer Aufbau der verwendeten Kreislaufanlagen

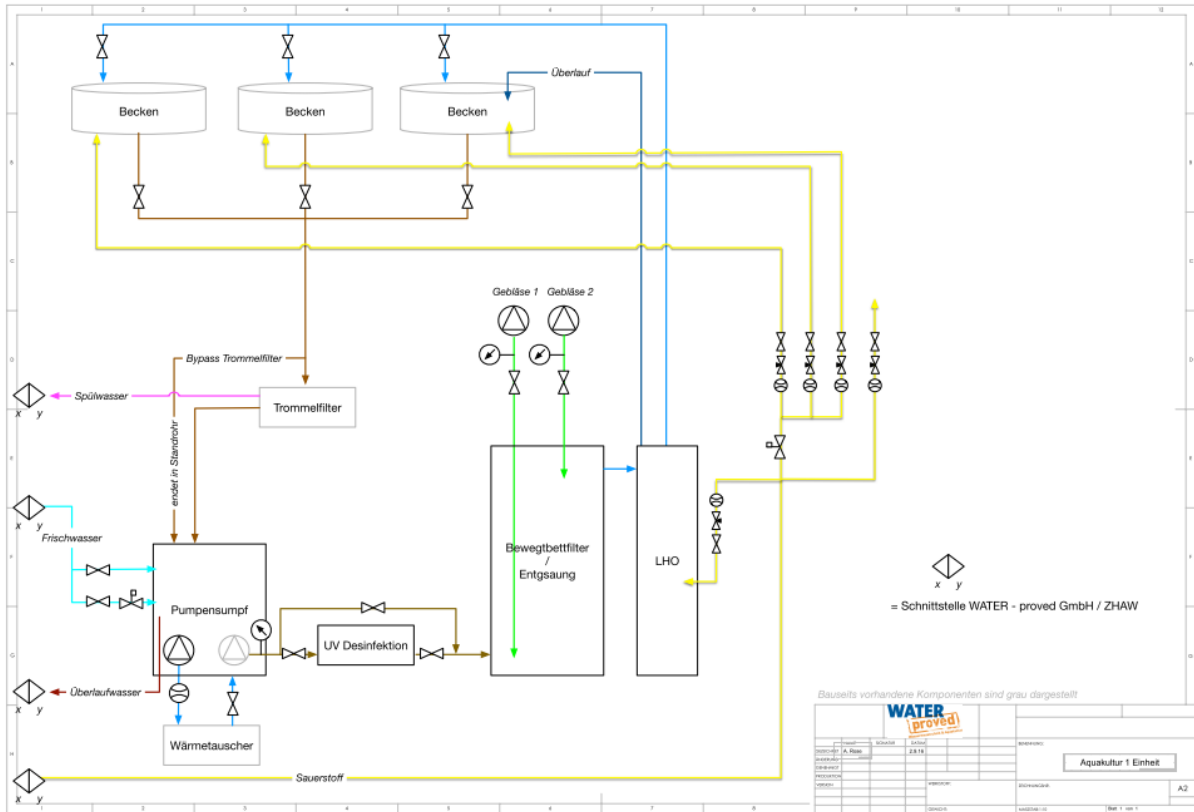


Abbildung 23: Schematische Darstellung einer der vier Kreisläufe in der Fischhaltungsanlage. Drei der vier Systeme wurden für das Experiment belegt.

Anhang H Berechnete Korrelation zwischen Standardlänge und Gewicht der Fische

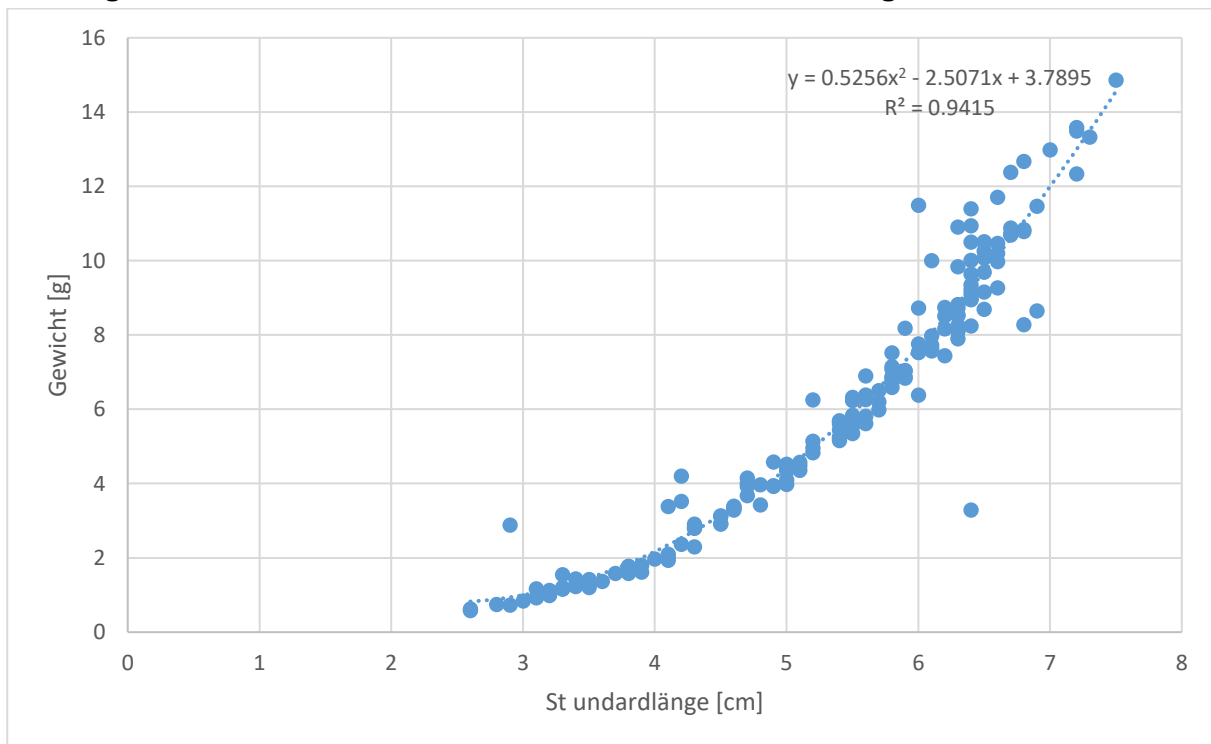


Abbildung 24: Korrelation zwischen der Standardlänge und dem Gewicht der Fische. Die Daten stammen von den gesampelten Fischen. Aus der resultierenden Formel konnte bei den beschädigten, toten Fischen das Gewicht berechnet werden.

Anhang I Analysebericht der Algen

Tabelle 9: Übersicht über die Analyseberichte der drei Algen, analysiert von Biolytix AG, Witterswil. Alle Werte beziehen sich auf 100 g Algenpulver. Die mit * gekennzeichneten Werte stammen nicht von Biolytix sondern wurden an der ZHAW mittels Bombenkalorimeter gemessen.

Gemessener Parameter	Einheit	<i>Nannochloropsis gaditana</i>	<i>Porphyridium sordidum</i>	<i>Isochrysis sp.</i>
Wassergehalt (§64LFGB L17.00-1, mod.)	[%]	2.8	4.1	5.3
Asche (§ 64 LFGB L 17.00-3, mod.)	[%]	12.9	13.3	37.4
Fett	[%]	14.5	9.5	11.3
Fettsäure, gesättigt	[%]	3.6	2.0	5.4
Fettsäure, ungesättigt	[%]	7	4.1	2.4
Fettsäure, mehrfach ungesättigt	[%]	3.9	3.4	3.6
Gesamtprotein Nx6.25	[%]	41.7	41.2	20.1
Kohlenhydrate (berechnet)	[%]	28.1	31.9	25.8
Energiewert, kJ (berechnet)	[kJ/100g]	1723	1595	1200
Energiewert, kcal (berechnet)	[kcal/100g]	410	378	286
Energiewert (Kalorimeter)	[J/g]	21341*	19493*	13159*
Zucker, gesamt	[%]	3.4	4.7	<0.5
Fructose	[%]	< 0.2	0.55	0.28
Glucose	[%]	3.4	0.71	<0.5
Saccharose	[%]	< 0.5	3.50	<0.5
Maltose	[%]	< 0.5	<0.5	<0.5
Lactose	[%]	< 0.5	<0.5	<0.5
Natrium (DIN EN ISO 11885-E22)	[%]	0.046	2.5	2.2
NaCl (berechnet aus Natrium)	[%]	0.11	6.4	5.4
Summe Aminosäuren	[%]	35.3	36.51	18.79
Asparaginsäure	[%]	3.7	5.06	1.91
Threonin	[%]	1.66	1.8	0.71
Serin	[%]	1.48	1.68	0.61
Glutaminsäure	[%]	5.03	4.54	2.18
Prolin	[%]	2.03	1.57	0.94
Glycin	[%]	2.25	2.34	1.34
Alanin	[%]	2.61	3.17	2.33
Valin	[%]	2.35	2.35	1.45
Methionin	[%]	0.82	0.81	0.44
Isoleucin	[%]	1.57	1.46	1.09
Leucin	[%]	3.11	2.94	1.79
Tyrosin	[%]	1.23	1.87	0.72
Phenylalanin	[%]	2.04	1.78	1.22
Ornithin	[%]	<0.05	<0.05	<0.05
Gamma Aminobuttersäure	[%]	<0.05	<0.05	0.26
Lysin	[%]	2.06	1.87	0.91
Histidin	[%]	0.74	0.5	0.36
Arginin	[%]	2.43	3.36	0.53
Taurin	[%]	<0.05	<0.05	<0.05
Hydroxyprolin	[%]	<0.05	<0.05	<0.05

Cystein	[%]	0.2	0.2	<0.05
Hydroxylysin	[%]	<0.05	<0.05	<0.05
Fettsäuren, trans-	[%]	0.1	< 0.1	< 0.1
Fettsäuren, omega-3	[%]	3.2	1.7	2.8
Fettsäuren, omega-6	[%]	0.4	1.7	0.8
Fettsäuren, omega-9	[%]	2.8	3.3	1.7
C 4:0 Buttersäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 6:0 Capronsäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 8:0 Caprylsäure	[%]	< 0.1	< 0.1	0.2
C 10:0 Caprinsäure	[%]	< 0.1	< 0.1	0.2
C 11:0 Undecansäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 12:0 Laurinsäure	[%]	< 0.1	0.1	1.5
C 13:0 Tridecansäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 14:0 Myristinsäure	[%]	0.7	< 0.1	1.3
C 14:1 Myristoleinsäure	[%]	< 0.1	0.1	< 0.1
C 15:0 Pentadecansäure	[%]	0.1	< 0.1	< 0.1
C 15:1 cis 10-Pentadecensäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 16:0 Palmitinsäure	[%]	2.6	1.5	1.5
C 16:1 Palmitoleinsäure	[%]	4.1	0.1	0.5
C 16:2 Hexadecadiensäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 16:3 Hexadecatriensäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 16:4 Hexadecatetraensäure	[%]	0.1	< 0.1	< 0.1
C 17:0 Heptadecansäure	[%]	0.1	< 0.1	< 0.1
C 17:1 Heptadecensäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 18:0 Stearinsäure	[%]	0.1	0.2	0.6
C 18:1 Ölsäure	[%]	2.8	3.3	1.7
C 18:1 Petroselinsäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 18:1 cis 11-Octadecensäure	[%]	0.1	0.6	0.1
C 18:2 Linolsäure (o-6)	[%]	0.3	1.5	0.6
C 18:3 α -Linolensäure (o-3)	[%]	< 0.1	1.3	0.4
C 18:3 Linolensäure (o-4)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 18:3 Linolensäure (o-6)	[%]	< 0.1	0.2	0.1
C 18:4 Stearidonsäure	[%]	< 0.1	0.3	1.1
C 20:0 Arachinsäure	[%]	< 0.1	0.1	< 0.1
C 20:1 Eicosensäure	[%]	< 0.1	0.1	< 0.1
C 20:2 Eicosadiensäure (o-6)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 20:3 Eicosatriensäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 20:3 Eicosatriensäure (o-3)	[%]	0.5	< 0.1	< 0.1
C 20:4 Eicosatetraensäure (o-3)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 20:4 Arachidonsäure (o-6)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 20:5 Eicosapentaensäure (o-3)	[%]	2.6	< 0.1	0.4
C 21:0 Heneicosansäure	[%]	0.2	< 0.1	< 0.1
C 22:0 Behensäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 22:1 Erucasäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 22:2 Docosadiensäure (o-6)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 22:4 Docosatetraensäure (o-6)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 22:5 Docosapentaensäure (o-3)	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1

C 22:6 Docosahexaensäure (o-3)	[%]	< 0.1	< 0.1	0.9
C 23:0 Tricosansäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 24:0 Lignocerinsäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1
C 24:1 Nervonsäure	[%]	< 0.1	< 0.1	< 0.1

Anhang J Mit dem Futterberechnungsprogramm errechnete Inhaltsstoffe der drei Fischfutter

Tabelle 10: Geplante Inhaltsstoffe der drei Futter, berechnet mit dem Futterberechnungsprogramm.

Nährstoffparameter	Einheit	Futter Kontrolle	Futter Porph/Nanno	Futter Iso/Nanno
Wassergehalt	[%]	9.54	9.3	9.32
Aschegehalt	[%]	4.16	4.5	5.02
Bruttoenergie	[MJ/kg]	19.83	19.7	19.63
Verwertbare Energie	[MJ/kg]	15.32	14.69	14.7
Rohprotein	[%]	39.48	39.46	39.47
Verwertbares Protein	[%]	35.52	34.00	34.39
Fett	[%]	11.4	11.41	11.37
Rohfaser	[%]	1.19	1.14	1.15
18:2 Linolsäure (n-6) (LOA)	[%]	0.36	0.34	0.34
18:3 α -Linolensäure (n-3) (LNA)	[%]	0.09	0.08	0.08
20:4 Arachidonsäure (n-6) (ARA)	[%]	0.1	0.09	0.09
20:5 Eicosapentaensäure (n-3) (EPA)	[%]	0.73	0.7	0.69
22:6 Docosahexaensäure (n-3) (DHA)	[%]	1.27	1.22	1.22
Σ n-3	[%]	2.09	2.01	1.99
Σ n-6	[%]	0.45	0.43	0.43
n3:n6	[%]	4.59	4.61	4.63
Total Phospholipide	[%]	2.27	2.16	2.16
Cholesterol	[%]	0.07	0.06	0.06
Astaxantin	[mg/kg]	0	0	0
Arginin	[%]	2.33	2.23	2.25
Histidin	[%]	1.16	1.12	1.13
Isoleucin	[%]	1.88	1.8	1.83
Leucin	[%]	3.52	3.38	3.43
Lysin	[%]	3.31	3.18	3.22
Methionin	[%]	1.04	0.99	1.00
Methionin + Cystein	[%]	1.36	1.3	1.31
Phenylalanin	[%]	1.92	1.84	1.87
Phenylalanin + Threonin	[%]	3.63	3.48	3.53
Threonin	[%]	1.81	1.73	1.75
Tryptophan	[%]	0.52	0.49	0.5
Valin	[%]	2.35	2.26	2.29
Calcium	[%]	1.1	1.04	1.05
Verfügbarer Phosphor	[%]	0.9	0.86	0.87

Anhang K Analysebericht der Fischfutter

Table 11: Übersicht über die Analyseberichte der drei Futter, analysiert von Biolytix AG, Witterswil. Alle Werte beziehen sich auf 100 g Futtermenge. Die mit * gekennzeichneten Werte stammen nicht von Biolytix sondern wurden an der ZHAW mittels Bombenkalorimeter gemessen.

Gemessener Parameter	Einheit	Futter Kontrolle	Futter Porph/Nanno	Futter Iso/Nanno
Wassergehalt (§64LFGB L17.00-1,mod)	[%]	4.7	5.5	5.1
Asche (§ 64 LFGB L 17.00-3, mod.)	[%]	5.3	5.7	6.2
Fett	[%]	11.2	11.2	11.1
Fettsäure, gesättigt	[%]	<0.1	2.4	2.3
Fettsäure, ungesättigt	[%]	0.3	4.4	4.4
Fettsäure, mehrfach ungesättigt	[%]	<0.1	3.5	3.4
Gesamtprotein Nx6.25	[%]	38.3	37.8	38.2
Kohlenhydrate (berechnet)	[%]	37.7	36.5	37
Energiewert, kJ (berechnet)	[kJ/100g]	1730	1704	1709
Energiewert, kcal (berechnet)	[kcal/100g]	411	405	406
Energiewert (Kalorimeter)*	[J/g]	20378*	20214.5*	20283.5*
Zucker, gesamt	[%]	0.71	0.51	<0.50
Fructose	[%]	<0.50	<0.50	<0.50
Glucose	[%]	<0.50	<0.50	<0.50
Saccharose	[%]	<0.50	<0.50	<0.50
Maltose	[%]	0.71	0.51	<0.50
Lactose	[%]	<0.50	<0.50	<0.50
Natrium (DIN EN ISO 11885-E22)	[%]	0.39	0.47	0.78
NaCl (berechnet aus Natrium)	[%]	0.97	1.2	1.9
Rohfaser (VDLUF 6.1.1)	[%]	2.8	3.3	2.4
Titan (EN ISO 17294-2)	[%]	0.68	0.64	0.62
Summe Aminosäuren	[%]	47.42	47.27	48.07
Asparaginsäure	[%]	4.22	4.32	4.28
Threonin	[%]	1.92	1.99	1.87
Serin	[%]	1.86	1.99	1.63
Glutaminsäure	[%]	8.83	8.5	8.51
Prolin	[%]	3.75	3.75	3.73
Glycin	[%]	2	2.09	1.83
Alanin	[%]	2.45	2.57	2.29
Valin	[%]	3.57	3.31	3.73
Methionin	[%]	1.39	1.44	1.59
Isoleucin	[%]	2.46	2.4	2.61
Leucin	[%]	4.13	4.37	4.76
Tyrosin	[%]	1.28	1.18	1.43
Phenylalanin	[%]	2.25	2.23	2.39
Ornithin	[%]	<0.05	<0.05	<0.05
Gamma Aminobuttersäure	[%]	<0.05	<0.05	<0.05
Lysin	[%]	3.92	3.96	4.06
Histidin	[%]	1.17	1.13	1.19
Arginin	[%]	1.86	1.89	1.89
Taurin	[%]	0.19	0.15	0.16

Cystein	[%]	0.17	<0.05	0.12
Fettsäuren, trans-	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
Fettsäuren, omega-3	[%]	<0.1	2.9	2.9
Fettsäuren, omega-6	[%]	<0.1	0.4	0.4
Fettsäuren, omega-9	[%]	0.1	3	3
C 4:0 Buttersäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 6:0 Capronsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 8:0 Caprylsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 10:0 Caprinsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 11:0 Undecansäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 12:0 Laurinsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 13:0 Tridecansäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 14:0 Myristinsäure	[%]	<0.1	0.5	0.5
C 14:1 Myristoleinsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 15:0 Pentadecansäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 15:1 cis 10-Pentadecensäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 16:0 Palmitinsäure	[%]	<0.1	1.4	1.4
C 16:1 Palmitoleinsäure	[%]	0.1	0.7	0.7
C 16:2 Hexadecadiensäure	[%]	<0.1	0.1	0.1
C 16:3 Hexadecatriensäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 16:4 Hexadecatetraensäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 17:0 Heptadecansäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 17:1 Heptadecensäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 18:0 Stearinsäure	[%]	<0.1	0.3	0.3
C 18:1 Ölsäure	[%]	0.1	1.7	1.8
C 18:1 Petroselinensäure	[%]	<0.1	0.2	0.2
C 18:1 cis 11-Octadecensäure	[%]	0.1	0.4	0.4
C 18:2 Linolsäure (o-6)	[%]	<0.1	0.3	0.3
C 18:3 α -Linolensäure (o-3)	[%]	<0.1	0.1	0.1
C 18:3 Linolensäure (o-4)	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 18:3 Linolensäure (o-6)	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 18:4 Stearidonsäure	[%]	<0.1	0.2	0.2
C 20:0 Arachinsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 20:1 Eicosensäure	[%]	<0.1	1.1	1.1
C 20:2 Eicosadiensäure (o-6)	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 20:3 Eicosatriensäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 20:3 Eicosatriensäure (o-3)	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 20:4 Eicosatetraensäure (o-3)	[%]	<0.1	0.1	0.1
C 20:4 Arachidonsäure (o-6)	[%]	<0.1	0.1	<0.1
C 20:5 Eicosapentaensäure (o-3)	[%]	<0.1	1.1	1.1
C 21:0 Heneicosansäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 22:0 Behensäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 22:1 Erucasäure	[%]	<0.1	0.1	0.1
C 22:2 Docosadiensäure (o-6)	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 22:4 Docosatetraensäure (o-6)	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 22:5 Docosapentaensäure (o-3)	[%]	<0.1	0.1	0.1
C 22:6 Docosahexaensäure (o-3)	[%]	<0.1	1.3	1.3
C 23:0 Tricosansäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1

C 24:0 Lignocerinsäure	[%]	<0.1	<0.1	<0.1
C 24:1 Nervonsäure	[%]	<0.1	0.1	0.1

Anhang L Analysebericht des Kots

Tabelle 12: Übersicht über die Analyseberichte der Kotproben, analysiert von Biolytix AG, Witterswil. Alle Werte beziehen sich auf g/100 g trockener Kot.

Gemessener Parameter	Einheit	Kot Kontrolle	Kot Porph/Nanno	Kot Iso/Nanno
Rohprotein (VDLUFA 4.1.1)	[%]	25.4	24.3	21.8
Titan (EN ISO 17294-2)	[%]	1.9	8.3	11.0



N-FO-Aufgabenstellung für die Masterarbeit

**Life Sciences und
Facility Management**

Stabsbereich Studium

Allgemeine Informationen	
Name StudentIn	Sophia Egloff
Studienbeginn	Februar 2014
Pensum	Teilzeit
Vertiefung in	V4: Natural Resource Sciences
Institut / Arbeitsort	IUNR / Forschungsgruppe Ökotechnologie
Titel der Masterarbeit	Algenbasiertes Fischfutter – Kultivierung von Mikroalgen und Fütterungsversuche mit juvenilen Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)
Fachstelle/-gruppe	Forschungsgruppe Ökotechnologie
Vertraulich	Vertrauliche Aufbewahrung/Korrektur <input type="checkbox"/> ja <input checked="" type="checkbox"/> nein Geheimhaltungsvereinbarung <input type="checkbox"/> ja <input checked="" type="checkbox"/> nein Poster vertraulich* <input type="checkbox"/> ja <input checked="" type="checkbox"/> nein *Sofern das Poster nicht vertraulich ist, wird es an Ihrer Diplomfeier aufgehängt.
Beginn der Masterarbeit	Jan 2016
Abgabetermin Masterarbeit	KW 7 / KW 35 , Jahr: 2017 Freitag um 12:00 Uhr (Studiensekretariat Campus Grüental) <i>Achtung: der Abgabetermin kann nur in begründeten Fällen verschoben werden. Die Verlängerung muss mit einem schriftlichen Antrag bei der Studiengangleitung eingehen und von dieser bewilligt werden. Es können Kosten bis zu einer Semestergebühr erhoben werden (vgl. Weisungen zur Masterarbeit W235-12).</i>
KorrektorInnen	1. Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften Name: Dominik Refardt Adresse: Campus Grüental Postfach, 8820 Wädenswil Tel.Nr.: 058 934 53 65 E-Mail: refa@zhaw.ch 2. Name: Constanze Pietsch Adresse: Campus Grüental Postfach, 8820 Wädenswil Tel.Nr.: 058 934 56 13 E-Mail: pies@zhaw.ch
Entschädigung des 2. Korrektors, falls extern	Nein

Version:

1.0.0
14.11.2016

gültig ab:
Seite 1
von 3

N-FO-Aufgabenstellung für die Masterarbeit

**Life Sciences und
Facility Management**

Stabsbereich Studium

Aufgabenstellung	
<p>Aufgabenstellung</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ausgangslage • Zielsetzung (z.B. geplante Experimente, Untersuchungen) • Ausstattung 	<p>Die Fischproduktion in Aquakulturen nimmt zu, da Fische einerseits in Kreislaufanlagen (recirculating aquaculture systems, RAS) lokal unabhängig produziert werden können und andererseits deren Nachfrage steigt. Ein Großteil der Speisefische sind Raubfische und müssen mit Fischen oder Fischabfällen aus der Hochseefischerei gefüttert werden. Es wird angenommen, dass 2030 mehr als die Hälfte der verkauften Fische aus Aquakulturen stammen werden, während die Fischfänge in den Meeren durch Überfischung weiter sinken. Die Nachfrage nach einer gleichwertigen Alternative für Fischmehl und Fischöl steigt.</p> <p>Mikroalgen sind eine interessante Ressource, da sie in der natürlichen Nahrungskette der Fische vorkommen. Algen enthalten viele ungesättigte Fettsäuren, welche ebenfalls in Fischmehl und -öl vorkommen. Hohe Gehalte an Proteinen und Lipiden erhöhen ihren Nährwert zusätzlich.</p> <p>In folgender Arbeit soll ein Futtermittel produziert werden, welches 4% Mikroalgen enthält und damit einen entsprechenden Teil des Fischmehls und -öls ersetzt. Dieses Futter soll in Fütterungsversuchen mit Tilapia-Larven getestet werden.</p> <p>Arbeitsschritte sind:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Auswahl von geeigneten Algen: Kriterien sind die Inhaltsstoffe, die Kultivierungsbedingungen und die Giftigkeit. Mehrere geeignete Algen werden bestellt und im kleinen Maßstab kultiviert. Die am besten wachsenden Algen werden dann in grösserem Massstab produziert. Ebenso werden ökotoxikologische Tests mit Zebraquarienfischlarven durchgeführt um eine mögliche Giftigkeit der Algen abzuschätzen. 2. Produktion der Algen in einem dafür geeigneten Photobioreaktor. Entweder im bestehenden Reaktor an der ZHAW oder in einem eigens dafür gebauten Modell. 3. Verarbeitung der Algen und Herstellung des Futtermittels. Dies beinhaltet Entwässerung und Trocknung der Algen, Formulierung der Futtermittelrezeptur und Futterherstellung mittels Extruder. Ebenfalls wird ein Kontrollfutter hergestellt um vergleichende Versuche durchführen zu können. 4. Fütterungsversuch mit Tilapia-Larven: Die Larven werden importiert, in mehreren Replikaten in geeigneten Gehegen gehalten und über zwölf Wochen mit den verschiedenen Futtern gemästet. Verschiedene Messwerte zur Verdaulichkeit des Futters und zum Wachstum der Fische werden regelmässig erhoben. 5. Analyse der Ergebnisse und deren Präsentation in der Masterarbeit.
<p>Bemerkungen (z.B. notwendige Anschaffungen, Budgetplan, zusätzliche Rahmenbedingungen)</p>	<p>keine</p>

Version:

1.0.0
14.11.2016

gültig ab:
Seite 2
von 3

N-FO-Aufgabenstellung für die Masterarbeit

Life Sciences und Facility Management

Stabsbereich Studium

Allgemeine Bedingungen	
Formale Anforderungen	Zusätzlich zur schriftlichen Abfassung gelten gemäss <i>Weisungen zur Masterarbeit (W235-12)</i> folgende Anforderungen: <ul style="list-style-type: none"> • Poster: als Alternative (mit den Korrektoren schriftlich vereinbaren) kann auch eine Website oder Publikation erstellt werden. • Mündliche Prüfung in Form einer Präsentation der Arbeit in einem Kolloquium oder vor einem Gremium der beteiligten Partner: <ul style="list-style-type: none"> ○ das Format wird durch die Korrektor/innen festgelegt; ○ die Prüfung soll innert 6 resp. 8 Wochen (12.10. resp. 12.04.) erfolgen; ○ die mündliche Prüfung wird nicht gewichtet und nicht benotet, sie wird mit „erfüllt“ / „nicht erfüllt“ bewertet.
Wichtige Hinweise und Richtlinien	Das Dokument Anleitung für die Abfassung von Semester-, Bachelor- und Masterarbeiten (W235-08) muss gelesen werden. Die Weisungen zur Masterarbeit (W235-12) müssen erfüllt werden. (vgl. www.lsfm.zhaw.ch/wichtige-dokumente) Plagiate verstossen gegen die Urheberrechte. Eine Verletzung dieser Rechte wird gemäss der Rahmenprüfungsordnung für Bachelor- und Masterstudiengänge an der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften vom 29. Januar 2008 in § 39 geregelt.
Abgabetermin Note	Jeweils 6 Wochen (FS) resp. 8 Wochen (HS) nach der effektiven Abgabe der Masterarbeit; wenn termingerecht an das Studiensekretariat Master abgegeben gilt 12.10. (FS) / 12.04. (HS)

Die Aufgabenstellung ist jeweils zwei Wochen vor Semesterbeginn, in welchem die Masterarbeit abgegeben wird, an das Studiensekretariat einzureichen.

Unterschrift Korrektor 1  Ort, Datum: Wädenswil, 30. Januar 2017	Unterschrift Studentin  Ort, Datum: Wädenswil, 30. Januar 2017
--	--

(ersetzt Vorgängerdokument F235-02)

Erlassverantwortliche/-r	Leiter/in Stabsbereich Studium	Ablageort	2.05.00 Erlasse Lehre Studium
Beschlussinstanz	Leiter/in Stab	Publikationsort	Public

Version:

1.0.0
14.11.2016

gültig ab:
Seite 3
von 3