

Mikroalger og akvakultur

Av Kjell Inge Reitan

Forfatteren er forsker ved Norges teknisk naturvitenskapelige universitet, Botanisk institutt

Sammendrag

Mikroalger anvendes som førkomponent i skjellproduksjon (østers og kamskjell) og i marin fiskeyngelproduksjon (kveite, piggvar og torsk). I produksjon av skjell dyrkes mikroalger for å kondisjonere stamskjell før gyting og i yngelproduksjonen før skjellene kan settes ut i sjøen. I produksjon av fiskeyngel brukes alger i produksjon av zooplankton og som førkomponent til fiskelarvene.

Alger kan dyrkes i forskjellige systemer, fra intensiv monokultur av bestemte algearter i relativt små volum, gjødsling av sjøvann (naturlige alger) som dyrkes i kar på land, og gjødsling av begrensede fjordområder for å øke primærproduksjonen. Ved dyrking av mikroalger er betydelig oppmerksomhet viet innhold av lipid og n-3 fettsyrer (spesielt 20:5 n-3 og 22:6 n-3) samt ernæringseffekten på skjell og fiskeyngel. Innholdet av n-3 fettsyrer varierer mellom algearter, med en viss likhet innenfor de ulike algeklassene. Imidlertid er algenes biokjemiske sam-

menstning avhengig av dyrkingsbetingelsene ved at økt næringsbegrensning gir redusert relativt innhold av n-3 fettsyrer, samt økt lipidinnhold i lipidproduserende alger

Bruk av alger i produksjon av marin fiskeyngel har gitt bedret overlevelse og vekst sammenlignet med ingen bruk av alger. Dette skyldes at alger gir stabil god næringsverdi og mikroflora av zooplanktonet. I tillegg blir algene spist av marine fiskelarver i tidlig startfôring fase, og algene i tarmen vil stimulere sekresjon av fordøyelsesenzymer, modifisere bakteriesammensetningen, samt bidra med næringsstoffer til fiskelarvene.

Innledning

Marine mikroalger blir brukt som fôr i produksjon av skjell, spesielt østers og kamskjell, og som førkomponent i produksjon av marin fiskeyngel. I produksjon av østers og kamskjell brukes alger som fôr ved kondisjonering av stamskjell før gyting og i fôring av lar-

ver og yngel fram til de kan settes ut i sjøen. Fôring av yngel fram til de kan settes ut i sjøen krever betydelig volum av alger, og pr. i dag er det ikke utviklet alternative teknologier som kan erstatte bruken av alger som fôr.

Yngelproduksjonen av marin fisk som kveite, piggvar, torsk og seabream/bass krever bruk av zooplankton som fôr i den første perioden. I intensive systemer produseres vanligvis hjuldyret *Brachionus plicatilis* og krepsdyret *Artemia franciscana* som fôr til larvene, og disse to organismene kan dyrkes i nødvendige tettheter og volum for fiskelarvene (Reitan et al. 1997). Næringsverdien av disse to organismene blir optimalisert ved bruk av bestemte mikroalger, enten ved at de føres med alger gjennom hele produksjonsfasen eller at de blir slutfôret med alger en kort tid før de gis til fiskelarvene. Alger blir også brukt som et førsupplement til fiskelarvene ved at de gis direkte til larvetankene sammen med zooplanktonet.

Alger har forskjellig ernæringsverdi i fôring av både skjell og fiskelarver, og betydelig oppmerksomhet er viet effekten av n-3 flerumettede fettsyrer (n-3 PUFA) på vekst og overlevelse av larver og yngel, spesielt 20:5 n-3 og 22:6 n-3 (Sargent et al. 1989). I tillegg bidrar algene med protein, lipid, karbohydrater og vitaminer. Det er videre vist at ulike alger påvirker bakterieinnholdet i zooplankton og fiskelarver, samt at algene ved sine pigmenter vil modifisere lysmiljøet i fiskekarene.

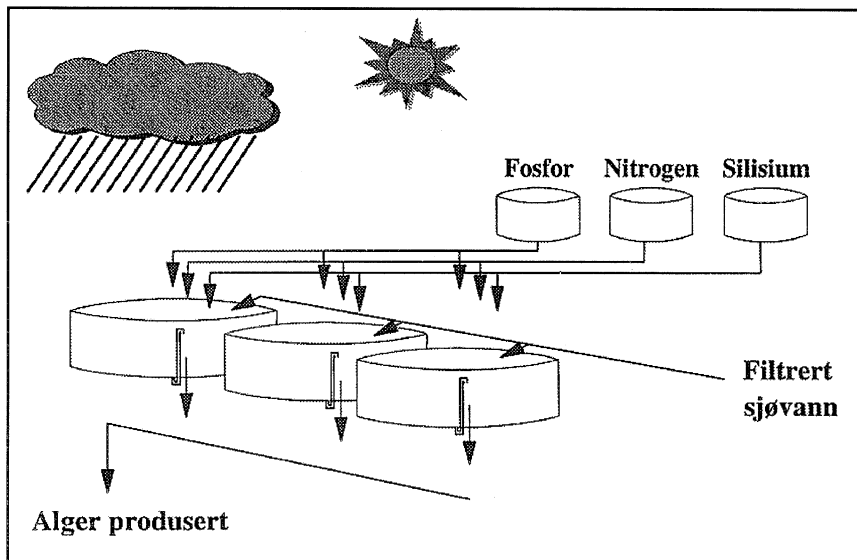
I denne presentasjonen skal ulike metoder for å produsere alger beskrives,

samt hvordan næringsverdien av alger, spesielt innhold av lipid og fettsyrer, varierer med art og dyrkingsbetingelser. Videre skal aktuelle anvendelser av mikroalger i marin akvakultur diskuteres, med hovedvekt på yngelproduksjon av marinfisk.

Algeproduksjon

Alger kan dyrkes i ulike systemer og volum, avhengig av om algene som skal produseres må være i monokultur, hvilken tetthet algene skal ha, og hvor stort volum som skal produseres. I forbindelse med produksjon av marin fiskeyngel (kveite og torsk) og østers har alger blitt produsert ved å gjødsle poll. I en slik produksjon blir de naturlige algene i sjøen tilført næring, og primærproduksjonen i et avgrenset område vil øke. Erfaringene så langt med produksjon av alger i poll for skjellproduksjon, har vist at algeproduksjonen kan være vanskelig å forutsi. Imidlertid vil algetettheten i en slik produksjon aldri bli stor, og hvis større tettheter og forutsigbar artssammensetning ønskes må produksjonen skje ved større kontroll.

Lokale alger fra sjøen kan produseres i kar på land ved at sjøvann filtreres og pumpes inn i store flate kar, som vist i Figur 1. Prinsippet for denne type algeproduksjon er at alger skal produseres utendørs ved hjelp av naturlig sollys og for å få nok lys per volum må det brukes relativt store kar med lav dybde (50-100 cm). Algetankene tilsettes næringsmedium og høsting av kulturene kan starte når ønsket tetthet er oppnådd. Kulturene kan kjøres som batch kultur eller som kontinuerlig kultur. Algene



Figur 1. Prinsippskisse for produksjon av alger i store kar på land.

som produseres vil alltid være polykultur, og artssammensetningen og tettheten av algene som produseres kan påvirkes av faktorer som type filtrering av vannet inn til dyrkingstankene, forhold mellom næringsstoffene, nitrogen, fosfor og silisium, temperatur, og fortynningsrate av kulturene. Fortynningsraten av kulturene vil påvirke artssammensetningen av kulturene ved at høy fortynningsrate vil favorisere rasktvoksende alger, mens lav fortynningsrate vil favorisere alger som er best i stand til å utnytte de tilgjengelige næringsstoffene. Et slikt produksjonsanlegg er testet ut ved NTNU og Taroskjell AS i Trøndelag, og ved å styre tilførselen av næring kan det produseres kiselalger gjennom hele året fram til lysintensiteten avtar sent på høsten. Gjennomgående tettheter ved

20-100% fortynning har vært 200-800 celler/ μ l.

For å forlengje produksjonssesongen er det nødvendig å ha en viss temperaturkontroll i form av plastoverbygg og tilføre ekstra belysning i perioden november-februar.

Ofte er det behov for å produsere monokulturer av bestemte alger, hvor næringsverdien kan kontrolleres. I slike tilfeller er intensive kulturer, hvor algene dyrkes i spesielle algetanker, som reduserer faren for infisering av andre alger, best egnet. Dette er egnet for alger som tolererer intensiv kultivering og som kan dyrkes i store volum. Algene kan dyrkes i volum fra 100 ml for stamkulturer til 1000 liters algetanker for produksjonskulturer (Guillard 1975). For å kunne holde rene kulturer, uten innblanding av fremmede alger

eller mikro-zooplankton, blir sjøvannet som algene skal dyrkes i desinfisert ved hjelp av ulike prosedyrer som mikrofiltrering (0,5 µm), UV-behandling, klorering eller temperaturbehandling. Sjøvannet blir så tilsatt bestemt næringsmedium, som er tilpasset algeartenes krav. Kulturene blir oftest belyst med kunstig lys, men forsøk gjennomføres også med å dyrke algene i naturlig lys under spesielle drivhus.

Slike kulturer dyrkes enten som batch kultur eller som kontinuerlig kultur. Og ved kontinuerlig kultur er det vanligst å bruke kjemostat eller semi-kontinuerlig kultur. I begge disse tilfellene blir et bestemt volum høstet hver dag, og algene blir produsert ved stabile betin-

gelser (lys, næringsstatus i mediet) og produsert biomasse og sammensetning av algene kan forutses.

Lipid og fettsyreinhold i marine mikroalger

Lipidinnholdet i marine mikroalger varierer mellom arter og med hvordan algene dyrkes. Normalt er lipidinnholdet 8 - 32% av tørrvekt, hvor alger som *Isochrysis galbana* og *Pavlova lutheri* har høyt lipidinnhold og *Tetraselmis* sp. har lavt lipidinnhold (Reitan et al. 1997). Fettsyresammensetningen av algene varierer mellom artene, men viser relativt nær slektskap sammenheng (Tabell 1). Kiselalger har høyt innhold av 14:0, 16:0, 16:1 og 20:5n-3. I

Tabell 1. Dominerende fettsyrer innenfor noen algegrupper.

Algegrupper	Dominerende fettsyrer	Referanse
Bacillariophyceae	14:0, 16:0, 16:1, 18:1n-9, 16-PUFA, 20:5n-3	1, 2, 3, 6, 8, 9
Prymnesiophyceae	14:0, 16:0, 16:1 eller 18:1, 18:4n-3 eller 20:5n-3, 22:6n-3	1, 5, 8, 9
Chlorophyceae og Prasinophyceae	høy variasjon 18:1n-9, 18-PUFA, 20:5n-3	1, 5, 7
Cryptophyceae	18:3n-3, 18:4n-3, 20:5n-3, 22:6n-3	4, 8
Dinophyceae	16:0, 18:4n-3, 20:5n-3, 22:6n-3	4, 7, 9

1: Ackman et al. (1968), 2: Chuechas & Riely (1969), 3: Waldoch & Nascimento (1979), 4: Pohl (1980), 5: Ben Amotz et al. (1985), 6: Mortensen et al. (1988), 7: Olsen (1989), 8: Volkman et al. (1989), 9: Reitan et al. (1994b), alle sitert i Reitan et al. (1994b).

Prymnesiophyceae er 14:0, 16:0, 16:1 eller 18:1 og 22:6 n-3 dominerende, samt at noen arter har høyt innhold av 18:4 n-3 eller 20:5 n-3. Grønnalger (Chlorophyceae) har større artsvariasjon i dominerende fettsyrer, men ofte mye 18-flerumettede fettsyrer. Dinoflagellaler har svært høyt innhold av 22:6 n-3 og noe lavere innhold av 16:0, 18.4 n-3 og 20:5n-3.

I tillegg til å være avhengig av arts-tilhørighet er lipidinnholdet og fettsyresammensetningen i mikroalger også påvirket av kulturbetingelser som temperatur, lysbetingelser og næringsstatus i dyrkingsmediet. Vekstraten hos alger avtar når tettheten i kulturene øker, og veksthastigheten kan bli begrenset av næringstilførsel til cellene eller lys, som et resultat av økt celledetthet. Endret vekstbetingelser for algecellene vil påvirke kjemisk sammensetning av algene, og da spesielt innhold av lipid og fettsyrer:

Lysbetingelsene ved dyrking av alger følger en skala fra begrensende lysnivå for veksten, gjennom nivåer som tilfredsstillende vekst, og til lysinhiberende nivåer. Effekten av lysnivå på lipid og fettsyrer er artsavhengig, men hos enkelte arter det vist økende andel n-3 PUFA ved avtagende lysintensitet. Videre er PUFA produksjonen koblet til døgnsyklus, ved at høyeste PUFA er rapportert i tidlig kveldsperiode.

Økning i temperaturen, innenfor algartenes temperaturintervall, har vist både avtagende og økt lipidinnhold. Det er videre i ulike alger vist forskjellig effekt på innhold av de ulike fettsyrene, men en generell trend tilsier at det

skjer en nedgang i innhold av n-3 PUFA ved økt temperatur.

Økt grad av næringsbegrensning (både fosfor og nitrogen) gir økt innhold av lipid i de fleste lipidrike artene (Reitan et al. 1994b). Lipidakkumuleringen er delvis et resultat av en løpende lipidsyntese kombinert med redusert celledeling og proteinsyntese, som skyldes redusert tilgjengelighet av næringsstoff. Økningen i lipid ved næringsbegrensning antas å være forårsaket av økt fraksjon av nøytral lipid, som triglyserider og hydrokarboner. De artene som ikke lagrer lipid ved næringsbegrensning har ofte et lavere lipidinnhold og vil heller lagre fotosynteseprodukter som karbohydrat enn lipid. Imidlertid er det flere arter som akkumulerer både lipid og karbohydrat ved næringsbegrensning.

Økt næringsbegrensning av algeceller har i de fleste undersøkte arter gitt økt relativ andel av de enumettede fettsyrene, spesielt 18:1 n-9, og de mettede fettsyrene, spesielt 16:0, og redusert innhold av flerumettede fettsyrer. (Reitan et al. 1994b). Alger syntetiserer alle deres fettsyrer *de novo* som vist i Figur 2. Fettsyrer opp til 18:1 n-9 blir syntetisert i kloroplastene og blir så transportert til cytosol og inkorporert i fosfatidylcholin, hvor den videre syntesen av fettsyrer skjer. Det er videre antatt at de ferdig syntetiserte fettsyrene er transportert tilbake til galaktolipid og tilbake til kloroplastene igjen. To viktige steg i fettsyresyntesen i algeceller er at 18:1 n-9 blir desaturert til 18:2 n-6, ved hjelp av $\Delta 12$ desaturase, og 18:2 n-6 til 18:3 n-3 ved hjelp av

ulike alger (*Skeletonema costatum*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, totalt 10 celler μl for å modnes til gyting i klekkeri. Forsøk som er gjennomført i løpet av de siste 3 årene viser at skjellene kan kondisjoneres hele året når de får stabil fôring med alger. Imidlertid varierer kondisjoneringstiden betydelig gjennom året, fra 3-4 uker til flere måneder.

Etter gyting utvikles eggene til larver, som ved et visst stadium begynner å spise alger. Også her brukes en blanding av algearter. Mest vanlig brukt er en blanding av *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana* og *Pavlova lutheri*. I denne fasen er stabil tilførsel av alger til skjellarvene avgjørende for overlevelse og vekst. Imidlertid tilsier resultater oppnådd i løpet av de senere årene at bakteriefloraen som følger med algene har betydning for resultatet av produksjonen. Ved en størrelse på 1-2 mm endrer kamskjell filtreringsadferd og får en adferd som er lik den til voksne. De selekterer for partikler som er større enn 2 μm , og blir fôret med algeblandinger som har ønsket størrelse. Så langt er det antatt at skjellene selekterer for ulike kiselalger, og det er derfor ønskelig å produsere slike alger. Inntil skjellene er store nok til å settes ut i sjøen (15-20 mm) må de fôres i landbaserte systemer, og i denne perioden trengs store mengder alger for å tilfredsstille skjellenes behov for mat.

Produksjon av fôrdyr til marine fiskelarver

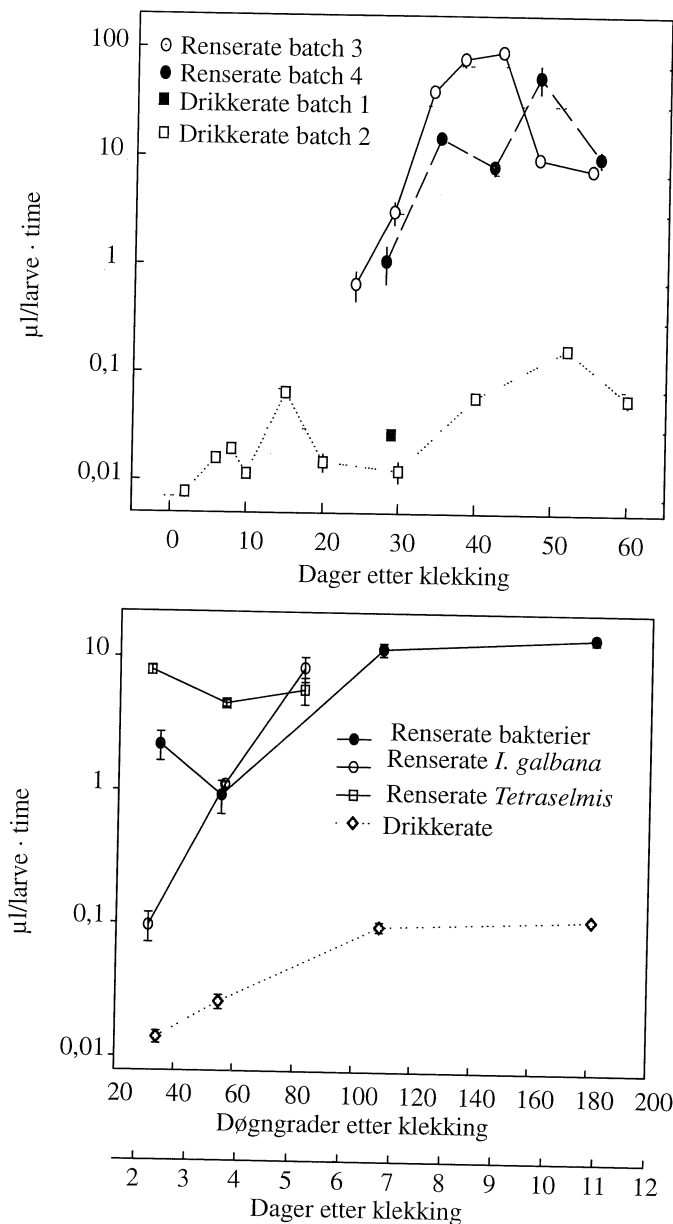
Fiskelarver blir fôret med fôrdyr (zooplankton som *Brachionus plicatilis* og

Artemia franciscana). Disse fôrdyrene kan produseres i høye tettheter, og næringsverdien av dyrene avhenger av dietten som brukes til fôrdyrene. Produksjonsforsøk av *B. plicatilis* har vist bedre kvalitet når alger brukes som diett under produksjonen (*I. galbana*, *P. lutheri* og *Tetraselmis* sp., Reitan et al. 1997). Spesielt er næringsverdien, totalt energiinnhold, proteininnhold og balansert fettresammensetning, samt bakterieinnholdet av *B. plicatilis*, bedre når de blir fôret med alger i stedet for gjær eller formulert fôr.

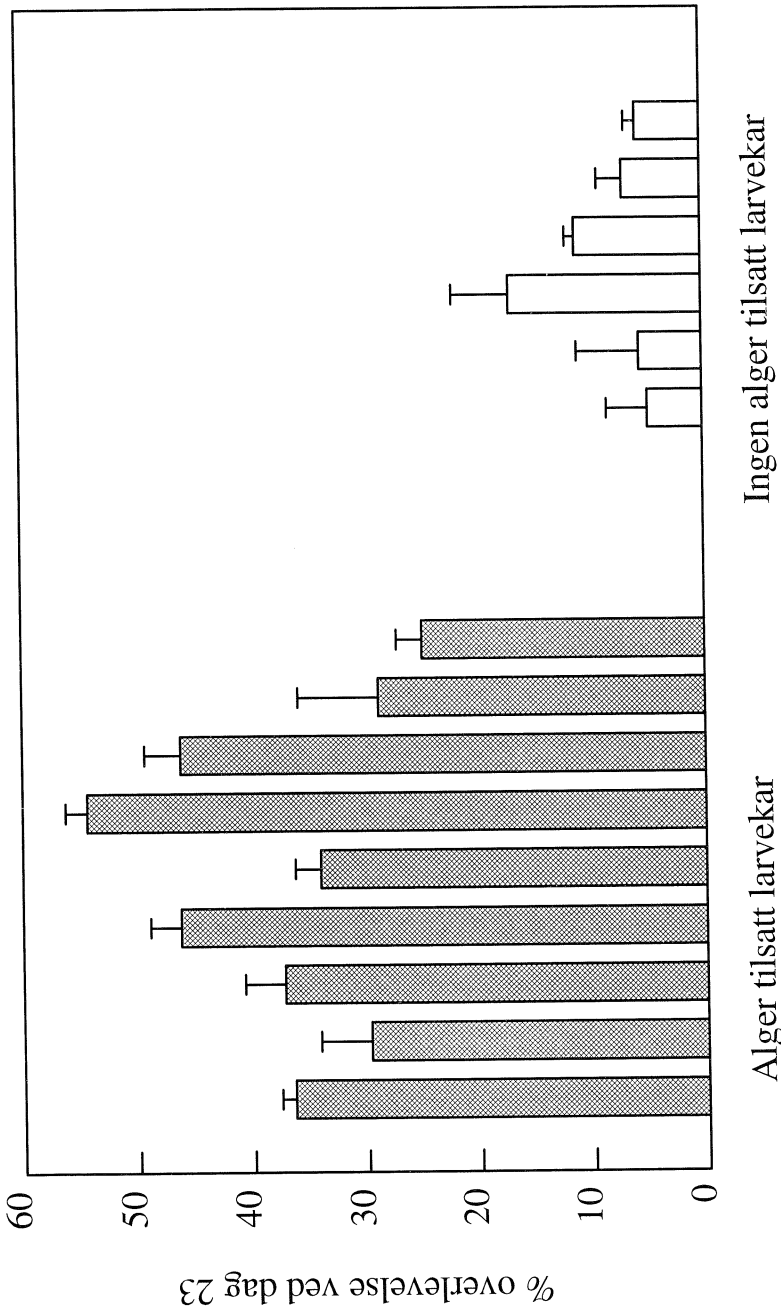
Imidlertid er kun bruk av alger som forkilde til zooplankton dyrt, og de blir derfor ofte dyrket på billigere forkilder som gjær eller spesielle oljeemulsjoner. Før overføring til fiskelarvene blir fôrdyrene ofte tilført alger i relativt høye tettheter en kort tid, for å øke næringsverdien (Reitan et al. 1997). I løpet av en slik kort foringsperiode (under 24 timer) vil næringsverdien og bakteriefloraen påvirkes i positiv retning for fiskelarvene.

Effekt av alger i fôring av marin fiskeyngel

Alger tilsettes ofte sammen med fôrdyrene til fiskelarvene. Dette blir kalt "grøntvannsteknikk". Algene vil både være tilgjengelige som mat til fôrdyrene og til fiskelarvene. Forsøk med både piggvar og kveite har vist at fiskelarvene i tidlig fase tar opp algeceller 100-1000 ganger mer enn det som kan forklares med ren drikking (Figur 3). Enkelte alger, spesielt *Tetraselmis* sp. blir dårlig assimilert i kveite- og piggvarlarver (Reitan et al. 1997). Det



Figur 3. Renserate (O og ●) av *Tetrasselmis* sp. og drikkerate (□) i kveitelarver (øverst, Reitan et al. 1994a), og renserate av *Tetrasselmis* sp. (□), *I. galbana* (O) og bakterier (●) samt drikkerate (◆) i pigglarver (nederst, Reitan et al. 1998).



Figur 4. Overlevelse ved dag 23 etter klekking av piggvar føret med og uten alger tilstede i startføringskar.

kan likevel antas at algecellene som blir tatt opp av fiskelarvene er viktig for fiskelarvene ved at de kan stimulere fordøyelsesprosessen i larvene, bidra med mikronæringsstoffer og påvirke tarmfloraen i fiskelarvene i positiv retning.

Tilsetning av *I. galbana* eller *Tetraselmis* sp. sammen med fôdyrene til startfôringskar med piggvar har gitt overlevelse på 28-55% ved dag 23 etter klekking, sammenlignet med 4-18% når alger ikke var tilsatt (Reitan et al. 1997). Samtidig gir algetilsats til startfôringskarene bedre vekst i den første fasen enn ingen algetilsats. Den positive effekten av alger i startfôring av marine fiskelarver tilskrives en generell forbedret verdi av fôrorganismene når de har mulighet til å spise alger. I tillegg blir alger spist direkte av fiskelarvene, og algene vil bidra med næringskomponenter, stimulere fordøyelsesprosessene i tarmen og trolig påvirke tarmfloraen i fiskelarvene.

Referanser:

Guillard, R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Smith, W.L & Chanley, M.H. (red.): Culture of Marine

Invertebrate Animals. Plenum, New York, 29-60.

Kilham, S., 1978. Nutrient kinetics of freshwater planktonic algae using batch a semicontinuous methods. Int. Ver. Theor. Angew. Limnol., 21: 147-157.

Reitan, K.I., Bolla, S. & Olsen, Y., 1994a. A study of the mechanism of algal uptake in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). J. Fish Biol., 44: 303-310.

Reitan, K.I., Rainuzzo, J.R. & Olsen, Y., 1994b. Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae. J. Phycol. 30: 972-979.

Reitan, K.I., Rainuzzo, J.R., Øie, G. & Olsen, Y., 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. Aquaculture, 155: 207-221.

Reitan, K.I., Natvik, C.M. & Vadstein, O., 1998. Drinking rate, uptake of bacteria and microlagae in turbot larvae. J. Fish Biol., 53, in press.

Sargent, J.R., Henderson, R.J. & Tocher, D.R., 1989. The lipids. I Halver, J. (red.): Fish Nutrition, 2nd ed., Academic Press, 153-217.