

Bæredygtig akvakulturudvikling i fremtiden

01-11-2021

Karolin Janina Demtröder

Risskov Gymnasium

Projekt Forskerspirer 2021 / NAT

Forskerkontakt: Peter Grønkjær

- Professor på Institut for Biologi, afdelingen for Akvatisk Biologi på Aarhus Universitet

Indholdsfortegnelse

1. Indledning	1
2. Relevans og formål.....	1
3. Afgrænsning	2
4. Metoder	3
4.1 Prøveudtagning og DNA-ekstraktion.....	3
4.2 PCR amplifikation og sekventering til identifikation af arter	3
4.3 Fremgangsmåde	4
5. Projektrealisering	5
5.1 Omfang – Budget og tidsramme	5
6. Diskussion og perspektivering	5
Taksigelse.....	6
Litteraturliste	7

1. Indledning

Det skønnes, at den globale fiskeproduktion i 2018 nåede 179 millioner tons. Heraf blev 156 millioner tons brugt til konsum, svarende til en gennemsnitlig årlig forsyning på 20,5 kg pr. indbygger. De resterende 23 millioner tons var hovedsageligt afsat til fremstilling af fiskemel og fiskeolie. (FAO, 2020). Over tre milliarder menneskers levebrød afhænger af biodiversiteten i hav- og kystområder, da fiskeri er en vigtig levevej og primær næringskilde for kystsamfund i de fattigste dele af verden. Men i dag bliver der overfisket med omkring 30%, hvilket er langt over det niveau, hvor fiskebestandene kan reproducere sig bæredygtigt. (FAO, 2014). Overfiskeri henviser til det at fjerne mere af en naturlig akvatisk art, end hvad naturlig reproduktion kan understøtte og anses i dag i stigende grad som én af de vigtigste processer, der fører til den globale biodiversitetskrise. På verdensplan er overfiskeri en af de største trusler mod havene og frem for alt for udviklingslandene. Hvis vi altså vil bevare havets økosystemer, er der behov for forandring, hvorfor effektive og innovative forvaltningsløsninger kræves.

Dette forskningsprojekt vil således tage udgangspunkt i denne undren om, hvordan der kan gøres bæredygtigt brug af havets ressourcer, herunder bæredygtig forvaltning af fiskeri og akvakultur. Derfor vil jeg undersøge, hvordan vi med mindst miljøpåvirkning udnytter havets udbytte i udviklingen af et effektivt og bæredygtigt havbrug, der skal bidrage til en bæredygtig udvikling af akvakultursektoren i Danmark.

2. Relevans og formål

Akvakultur har en lang historie i dele af verden. Omkring 500 f.v.t opdrættede romerne østers og fisk i middelhavslaguner og allerede omkring 1000 år tidligere udvikledes ferskvandsakvakulturer sig i Kina. (Nestlé foundation). Mens opdrættet tidligere er blevet drevet på en omfattende måde, forsøger moderne metoder at intensivere produktionen på grund af stigende efterspørgsel efter fiskevarer. I udviklingslande dyrkes akvakultur ofte på subsistensniveau, hvorimod den i industrialiserede lande nærmere drives for økonomisk overskud. Opdrætsanlæg kan enten sættes op på land i form af dambrug eller i havet som havbrug.

Fiskeri spiller en vigtig rolle for at nå FN's verdensmål for bæredygtig udvikling, herunder især det maritime mål om at bevare og bruge marine ressourcer på en måde, der fremmer bæredygtig udvikling. Biologisk er det fordelagtigt at dyrke akvatiske organismer, idet fisk og andre havdyr er mere effektive i at omdanne foder til næring end landdyr og fiskeri spiller således en stor rolle for målet om at udrydde sult, opnå fødevarer sikkerhed samt bedre ernæring samt for klimamålet. Men fiskefangst kan ikke alene være løsningen, fordi havets sensible økosystemer vil bryde sammen, hvis der overfiskes yderligere. Et alternativt løsningsforslag kan derfor være de omtalte akvakulturer, der dækker over kontrolleret

dyrkning eller opdræt af vandlevende organismer såsom fisk, krebsdyr, snegle og vandplanter og omfatter diverse populationer i fersk-, brak-, og saltvand.

3. Afgrænsning

Kompleksiteten af det blandede fiskeri i Nordsøen og Østersøen samt biodiversiteten gør det umuligt at målrette fangsterne mod en enkelt art. Mit projekt er derfor, så vidt muligt, skræddersyet til at reflektere dette, til dels ved at dække forskellige bestande og til dels ved at kombinere opdræt og bevarelse. Akvakulturer til lakseopdræt benyttes med stor effekt i Norge. Kina gør brug af moderne industrielle recirkulerende akvakultursystemer (RAS-teknologier), hvor man langs kysten har oprettet fem anlæg. I Danmark er der 19 havbrug, der primært anvendes til opdræt af regnbueørreder (*Oncorhynchus mykiss*). I dag produceres udelukkende konsumfisk i akvakulturer, hvorimod traditionelt fiskeri både indebærer fiskeri efter pelagiske fiskearter beregnet til konsum og industrielle fiskearter, der i høj grad anvendes til fremstilling af fiskemel, som anvendes i foder til fiskeopdræt og andet dyrefoder. (Skov, 2019)

Projektets fokus afgrænses deraf mod udviklingen af akvakultursystemer, hvori forskellige organismer lever i symbiose, hvoraf problemstilling fremkommer: ”Hvordan kan der udvikles symbiotiske flerartsakvakulturer, hvori organismer som eksempelvis muslinger, alger og opdrætsfisk lever som i naturligt forekommende økosystemer som alternativ til den traditionelle fiskefangst, og hvordan kan den vedvarende effekt af opdrætsanlæggene monitoreres?”

Ud fra teori om akvatiske organismers biologi og økologi, eksperimentel bestemmelse af artsammensætningen i bestemte biotoper ved brug af metagenomisk eDNA (environmental DNA), vil jeg ved brug af 16S rDNA og 18S rDNA sekventering undersøge, hvordan teknologier til at dyrke fisk og planter i det samme system symbiotisk kan sammensættes ved efterligning af naturlige biotoper. eDNA er defineret som genetisk materiale hentet direkte fra miljøprøver som for eksempel vand. Dette er et effektivt biomonitoreringsværktøj, som gør det muligt at kontrollere, at anlæggene opfylder miljømål samt, at biodiversiteten opretholdes, så fremtidige akvakulturer følger princippet om langsigtet, bæredygtig udnyttelse, som skal sikre fiskebestandene. Målet er maksimeret bæredygtighed, herunder ingen brug af kemikaliet ethoxyquin i foderets forarbejdning og opbevaring, ingen brug af sprøjtegifte, ingen kunstige tilsætningsstoffer samt bedre pladsforhold for organismerne. Disse krav skal sikre, at systemet belaster naturen omkring akvakulturerne mindst muligt.

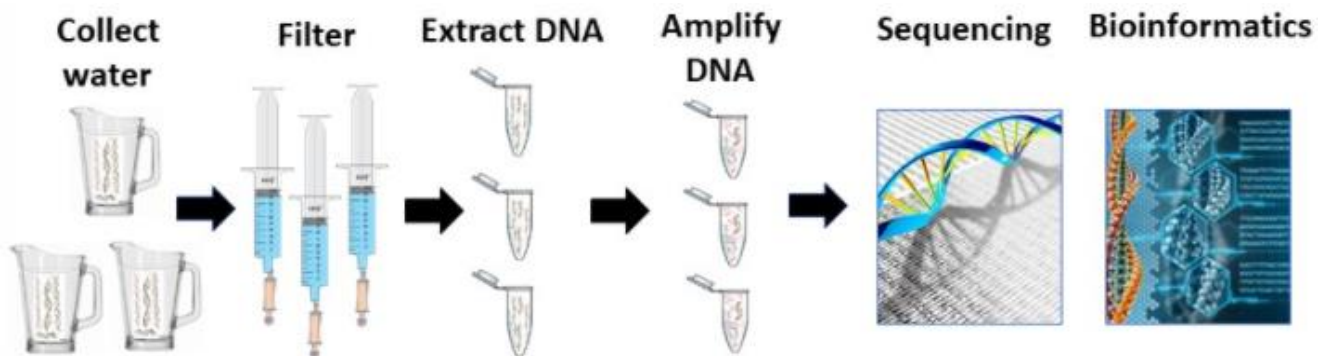
4. Metoder

Forskningsprojektet tager udgangspunkt i den deduktive metode, hvormed det undersøges, om den teoretiske viden om akvatiske organismers biologi og økologi kan anvendes til at opbygge en flerartet akvakultur som alternativ til opdrætsanlæg. Kvantitative data anvendes til udvikling af akvakulturerne ved brug af metagenomisk eDNA, hvorved det bliver muligt at sammenligne den geografiske repræsentation af tidligere artsrigdomsundersøgelser i marine økosystemer. Projektet beror således på kombinationsanvendelse af en række kvantitative metoder, hvormed det først og fremmest kan undersøges, under hvilke forhold forskellige organismer lever, samt hvordan de tilpasser sig hinanden i de pågældende økosystemer. Hver organisme har en unik DNA-sekvens eller en 'stregkode', der er forbundet med den. Denne DNA-stregkode er en meget variabel region spredt mellem bevarede genomiske områder. eDNA metabarcoding involverer målspecifik amplifikation og sekventering af disse stregkoder. Metoden er relevant til at skelne mellem højere ordener af eukaryoter.

4.1 Prøveudtagning og DNA-ekstraktion

Velfungerende økosystemer i kystnære områder ved Nordsøen og Østersøen undersøges ved at indsamle 0,5-1 liter vandprøver, som filtreres for at koncentrere environmental DNA (eDNA) fra filteret (*Figur 1*). Til isolation af genomisk DNA fra filtrerede vandprøver bruges DNeasy PowerWater Kit.

I laboratoriet pulveriseres filteret, ekstraktionspufferen fra DNeasy PowerWater kittet tilsættes og DNA ekstraheres, som det foreskrives.

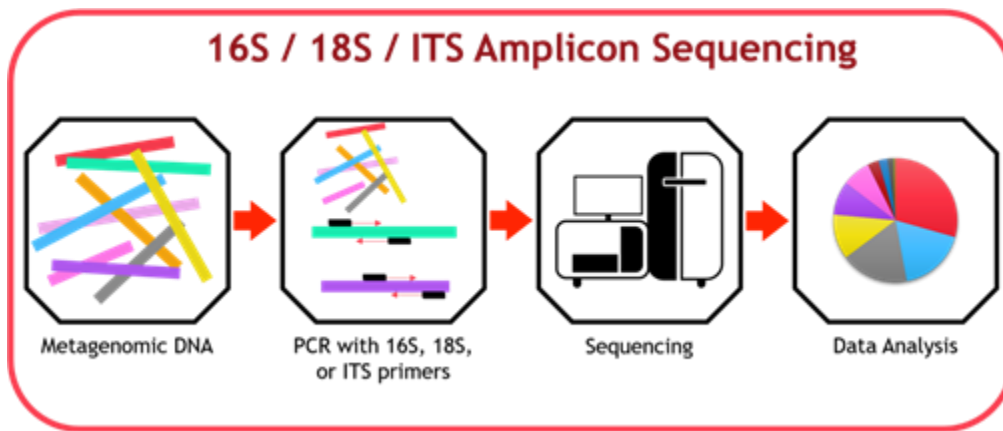


Figur 1: eDNA prøvetagning og processering. Figurens ophav: AquaBiota.se

4.2 PCR amplifikation og sekventering til identifikation af arter

Til vurdering af biodiversiteten kan Metagenomics NGS (Next-Generation Sequencing) anvendes. Herved bestemmes den genetiske sammensætning af en bestand ved hjælp af eDNA-analyse. eDNA sekventering muliggør simultan analyse af tusinde af arter fra den samme vandprøve. Variable regioner i prokaryotisk 16S ribosomal RNA (rRNA) gen og eukaryotisk 18S rRNA gen fra eDNA opformeres ved hjælp af specifikke primere. Til fremstilling af sekventeringsbiblioteker anvendes "16S and 18S Library

Preparation Kit” og biblioteker sekventeres på en sekventeringsmaskine, som for eksempel kan være MiSeq, Illumina for at holde omkostningerne lave. Sekventering er en tre-trins metode bestående af biblioteks konstruktion, sekventering på en specifik NGS-platform samt bioinformatisk analyse. Den metodiske gennemgang af sekventeringen er vist ved figur 2.



Figur 2: 16S, 18S sekventering. Figurens ophav: biobasic-asia.com

Til identifikation af arter og deres fylogenetiske klassifikation bruges bioinformatiske metoder, som gør det muligt at sammenligne sekvenser med referencegenomer, altså identificerede 16S og 18S rRNA-gen sekvenser, hvilke er tilgængelige i databaser, som for eksempel; ”Excavata EukRef databaser”. (Kolisko, 2020). I databaserne findes et stort antal gener fra organismer, som man tidligere i andre bestemte miljøer har dundet deres DNA i.

4.3 Fremgangsmåde

Først vil jeg undersøge de vigtigste vandkvalitetsparametre, der er relevante for fiskeopdræt. Disse omfatter salinitets-, temperatur-, ilt- og pH-målinger samt niveauer af organisk stof og måles ved brug af marine biologiske feltteknikker vha. af en CTD-sonde, som typisk er udstyret til at måle temperatur, ledningsevne, opløst ilt, pH, turbiditet (vandets uklarhed) og dybde. En sådan CTD-sonde er tilgængelig på AU’s forskningsskib Aurora, hvorfor det gennem min forskerkontakt, Peter Grønkjær, er blevet mig muligt at kunne indsamle vandprøver. Ved fem forskellige steder med udgangspunkt i velvalgte kystnære områder i Nordsøen og Østersøen indsamles derfor hhv. fire vandprøver (biologiske replikater). Det indsamlede data analyseres med computerprogrammer og bruges til at bestemme forekomsten af visse biologiske processer såsom alge- og plantevækst, artsfordelingen i vandsøjlen samt abiotiske faktorer. Dernæst bestemmes artssammensætningen ved brug af eDNA-metabarcoding, hvorved DNA fra visse organismegrupper opformes ved hjælp af specifikke primere, som ved brug af NGS-sekventering og bioinformatiske analyser leder frem til en artsliste over arter fra den udvalgte organismegruppe, hvis DNA er fundet i prøverne. Herved bliver det altså muligt at oprette akvakulturerne, så de efterligner de biotoper, hvor arterne oprindeligt hører til.

5. Projektrealisering

Akvakultursektoren er verdens hurtigst voksende animalske fødevarerproduktion. Desuden er de danske producenter af fiskefoder og recirkuleringsteknologier til fiskeopdræt blandt verdens førende i eksport til hele verden. (Brogaard, 2017), (NaturErhvervstyrelsen). Derfor har dette projekt stort potentiale for at bidrage til en bæredygtig udvidelse af akvakulturproduktionen i Danmark, samt styrke dansk eksport. Projektet har deraf stort fremtidspotentiale, men en realisering ville kræve samarbejde med større virksomheder, fonde, organisationer eller andre investorer.

5.1 Omfang – Budget og tidsramme

Budgettet angiver en oversigt over udgifter i de beskrevne processer i udførelsen af ekstraktion og sekventering af eDNA. Udstyr og materialer mm., i forbindelse med prøveudtagning og undersøgelse af vandkvalitetsparametre, er der ikke redegjort for i budgettet, da disse vil være til rådighed på Aurora.

Ekstraktion og NGS sekventering af eDNA				
Materiale	Pris per unit (kr)	Pris pr. prøve (kr)	Antal (behov)	I alt for 20 prøver
Sterivex GP millipore express + Polyethersulfone (PES) membrane filters, 0.22 micron	15 stk. à 1400 kr	93 kr.	20	1.860 kr.
DNeasy PowerWater Kit, Qiagen	100 stk. à 6400 kr	64 kr.	20	1.280 kr.
Primere til 16S rRNA gen, ITS og 18S rRNA gen, Sigma	300 kr			300 kr.
Twist Library Preparation Kit, Mechanical Fragmentation, 96 Samples; Enzymes, Buffers, Primers	96 stk. 9582 kr	100 kr.	20	2.000 kr.
Adatorer Xgen IDT og beads		50 kr.	20	1.000 kr.
Library QC (konc måling på QUBIT, profil på TapeStation)		35 kr.	20	700 kr.
Flow cell (20 samples) MiSeq v2, Nano 300 mb, 1 M reads, Illumina	1 stk 2038 kr	102 kr.	20	2.038 kr.
I alt				9.178 kr.

	Estimeret tid
Prøveindsamling og filtrering	2-3 uger
Ekstraktion af DNA	1-2 uger
Biblioteks fremstilling QC	1 uge
Sekventering	1 uge
Bioinformatisk dataanalyse	4 uger
Forventet tid i alt	9-11 uger

6. Diskussion og perspektivering

Uanset hvilke resultater, der fremkommer ved projektet, er der lagt op til yderligere forskning. Hvis projektet viser ønskede virkninger, ses der potentiale indenfor videreudvikling af systemerne. Her bliver det interessant at undersøge, hvordan en fortsat lav miljøpåvirkning fra opdræt sikres, og hvilke tiltag skal der gøres for at sikre ressourceeffektiviteten yderligere? Desuden kan det være af interesse at undersøge, hvordan indvirkningen af flerartsmodellerne på marine økosystemer måles eller behandles, hvilket værktøj eDNA kan bruges til. Anvendelsen af eDNA kan netop bruges til fremtidig biologisk overvågning og dermed til vurdering af akvakulturernes indvirkning på den omkringliggende biota.

Anvendelsen af eDNA kan derudover også bruges til evaluering af effektiviteten af konstruerede anlæg. På den anden side, hvis projektet ikke har ønskede virkninger, bliver det essentielt at kigge på, hvorfor effekten udebliver, og hvad der i stedet kan gøres, udvikles eller andet for, at vækst og udvikling går hånd i hånd med beskyttelse af miljøet og naturen.

Ved anvendelse af akvakulturer er det tænkeligt, at vi kan sikre nærende fødevarer til det stigende befolkningstal, idet det globale fødevareudbud øges. Ved nøjagtig udvælgelse af akvatiske organismer kontrolleres organismernes behov løbende justeres. For både landbaserede og havbaserede akvakulturanlæg gælder den optimale placering af anlæggene i forhold til produktionsforhold som centralt område for fortsat forskning.

Taksigelse

En stor tak skal lyde til min forskerkontakt Peter Grønkjær professor på Institut for Biologi, afdelingen for Akvatisk Biologi på Aarhus Universitet for at muliggøre prøveudtagning ombord på Aurora samt inspiration til at kunne realisere projektet i forhold til dets målsætninger. Desuden tak til mine to koordinatore Signe Koch Klavsén og Benjamin Kristensen fra Risskov Gymnasium for deres vejledning og støtte gennem forløbet. Slutteligt også tak til KU, AU og alle andre bag Projekt Forskerspirer for denne enestående mulighed.

Litteraturliste

- Agius, D. C. (u.d.). *FUNDAMENTALS OF AQUACULTURE*. (National Aquaculture Centre)
Hentet 22. Oktober 2021 fra fao.org:
<https://www.fao.org/3/ag171e/AG171E03.htm>
- AquaBiota Water Research. (21. Oktober 2021). *This is how eDNA-sampling works*.
Hentet fra <https://www.aquabiota.se/en/edna-sampling-works/>
- Bio Basic Asia Pacific. (u.d.). *16S/18S/ITS Amplicon Sequencing*. Hentet 21. Oktober 2021
fra <https://www.biobasic-asia.com/16s-18s-its-amplicon-sequencing/>
- Brogaard, M. e. (6. juli 2017). *Dansk akvakultur – vækst, udfordringer og beskæftigelse*.
Hentet 22. Oktober 2021 fra Danmarks Statistik / DSTAnalyse:
<https://www.dst.dk/Site/Dst/Udgivelser/nyt/GetAnalyse.aspx?cid=28946>
- Brundtland-rapporten. (1987). *Bæredygtig udvikling*. Hentet 19. Oktober 2021
- Dansk Akvakultur; Havbrug. (u.d.). Hentet 19. Oktober 2021 fra Dansk Akvakultur:
<https://danskakvakultur.dk/havbrug/>
- Deiner, K. e. (26. November 2017). Environmental DNA metabarcoding: Transforming how we survey animal and plant communities. *Molecular ecology*. Hentet 19. Oktober 2021 fra <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28921802/>
- FAO. (2014). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rom, Italien: FAO. Hentet 24. Oktober 2021
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rom, Italien: FAO. Hentet 24. Oktober 2021
- Jeunen, D. G.-J. (15. august 2019). *Bioinformatics for eDNA metabarcoding*. Hentet 22. oktober 2021 fra otagomohio.github.io:
https://otagomohio.github.io/workshops/eDNA_Metabarcoding.html
- Kobayashi, M. e. (26. August 2015). Fish to 2030: The Role and Opportunity for Aquaculture. *Aquaculture Economics & Management*, s. 282-300. Hentet 24. Oktober 2021
- Kolisko, M. e. (28. August 2020). EukRef-excavates: seven curated SSU ribosomal RNA gene databases. *The Journal of Biological Databases and Curation*. Hentet 24. Oktober 2021
- Kumar, V. e. (26. April 2021). Distribution and diversity of eukaryotic microalgae in Kuwait waters assessed using 18S rRNA gene sequencing. *Plos One*, s. 3-4/25. Hentet 24. Oktober 2021
- Lynch, A. J. (9. Februar 2016). The social, economic, and environmental importance of inland fish and fisheries. *Environmental Reviews*. Hentet 24. Oktober 2021 fra <https://cdnsiencepub.com/doi/full/10.1139/er-2015-0064>

- NaturErhvervstyrelsen, M. f. (u.d.). *Strategi for bæredygtig udvikling af akvakultursektoren i Danmark 2014-2020*. Hentet 22. Oktober 2021 fra Miljøministeriet: <https://mst.dk/erhverv/akvakultur/akvakulturstrategi-2014-2020/>
- Nestlé foundation. (u.d.). The history of aquaculture. Hentet 23. Oktober 2021 fra <https://www.alimentarium.org/en/knowledge/history-aquaculture>
- Qiagen. (u.d.). DNeasy PowerWater Kit. Hentet 23. Oktober 2021 fra www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/microbial-dna/dneasy-powerwater-kit/
- Qian, X., Ba, Y., Zhuang, Q., & Zhong, G. (18. Februar 2014). RNA-Seq Technology and Its Application. *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, s. 98-103. Hentet 24. Oktober 2021 fra <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24380445/>
- Shu, L., Peng, Z., & Ludwig, A. (16. Maj 2021). Environmental DNA metabarcoding primers for freshwater fish detection and quantification: In silico and in tanks. Hentet 19. Oktober 2021 fra <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34188886/>
- Skov, C. e. (28. Juni 2019). Danish Fisheries and Aquaculture: Past, Present, and Future. *Fisheries Magazine*, s. 33-41. Hentet 25. Oktober 2021
- Valentini, A. e. (25. Februar 2016). Next-generation monitoring of aquatic biodiversity using environmental DNA metabarcoding. *Molecular Ecology*. Hentet 21. Oktober 2021 fra <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26479867/>
- Winding, A. (14. April 2021). *eDNA*. Hentet 24. Oktober 2021 fra Aarhus University: <https://projects.au.dk/edna/>
- Yang, L. e. (17. November 2020). FishDB: an integrated functional genomics database for fishes. *BMC Genomics*. Hentet 23. Oktober 2021 fra <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-07159-9>